

Editorial Board

Article 105549

[View PDF](#)

Research article

New supporting data to guide the use of evident toxicity in acute oral toxicity studies (OECD TG 420)

Fiona Sewell, Ian Ragan, Graham Horgan, David Andrew, ... Marco Corvaro

Article 105517

[View PDF](#)

現在、経済協力開発機構(OECD)による物質または混合物の急性経口毒性試験に関する3つの試験ガイドライン(TG)がある。TG423とTG425は致死率をエンドポイントとしているが、TG420は死亡を「明白な毒性」に置き換えている。しかし、「明らかな毒性」が主観的であると認識されていることが、TG 420の普及を妨げている可能性がある。この問題に対処するため、英国国立研究動物代替・精製・削減センター(NC3Rs)と欧州動物実験代替法パートナーシップ(EPAA)は、「明白な毒性」の認識に関する勧告を提供するために協力した。急性経口毒性試験の過去のデータを分析し、高用量での死亡を予測しうる低用量での臨床徴候について検討した。運動失調、呼吸困難、眼球の部分的閉鎖など、いくつかの徴候は、単独でも組み合わせでも、死亡を非常に予測しやすい。嗜眠、呼吸低下、緩い糞便などの他の徴候は、陽性反応的中率(PPV)は低い、まだ十分に予測可能である。このデータは、TG 420の使用を促進し、急性経口毒性試験における動物の苦痛と数を減らすための勧告を作成するために使用された。

Currently there are three test guidelines (TG) for acute oral toxicity studies of substances or mixtures from the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). TG 423 and TG 425 use lethality as an endpoint, while TG 420 replaces death with 'evident toxicity', defined as clear signs that exposure to a higher dose would result in death. However, the perceived subjectivity of 'evident toxicity' may be preventing wider use of TG 420. To address this, the UK National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs) and the European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing (EPAA) collaborated to provide recommendations on the recognition of 'evident toxicity'. Historical data from acute oral toxicity studies were analysed for clinical signs at the lower dose that could have predicted death at the higher dose. Several signs including ataxia, laboured respiration, and eyes partially closed, alone or in combination, are highly predictive. Others such as

lethargy, decreased respiration, and loose faeces have lower but still appreciable positive predictive value (PPV). The data has been used to develop recommendations to promote use of TG 420 and thus reduce the suffering and numbers of animals used in acute oral toxicity studies.

Research article

Evaluating the efficiency of the 2020 ban of BPA and BPS in thermal papers in Switzerland

Anne-Laure Demierre, Hans Reinhard, Silvia Zeltner, Sabine Frey

Article 105526

サーマルプリント技術では、熱の作用で染料を活性化させるために顯色剤を必要とする。ビスフェノール A (BPA) は伝統的にこの目的に使用されてきたが、近年はビスフェノール S (BPS) に取って代わられることが増えている。その毒性に関する懸念から、スイス当局は 2020 年以降、感熱紙から BPA と BPS の両方を禁止した。この規制決定の影響は、2013~2014 年、2019 年、2021 年の 3 回のモニタリングキャンペーンで評価された。それぞれ、開始時点、移行段階、禁止発効後の状況を説明するために使用された。顯色剤としての BPA の使用率が 2013/14 年の 82.2% から 2021 年には 10.8% に低下したのに対し、BPS ベースの感熱紙の割合は、禁止されたにもかかわらず、同期間に 3.1% から 19.1% に上昇した。しかし、Pergafast® 201 (PF201) は現在、スイスの感熱紙における主な顯色剤であり、その出現率は 60.3% である。D-8、TGSA、PPSMU、NKK-1304、BPS-MAE、D-90、Blue4est® などの他の代替物質は、わずかに検出されただけで過ぎない。この研究は、規制措置の効率性と、感熱紙中の BPA を毒性の低い代替品で代替することの実現可能性を示している。

Thermal printing technology requires a color developer to activate the dye under the action of heat. Bisphenol A (BPA) has traditionally been used for this purpose, although it has increasingly been replaced by bisphenol S (BPS) in recent years. Due to concerns regarding their toxicity, the Swiss authorities have banned both BPA and BPS from thermal papers since 2020. The impact of this regulatory decision was evaluated during 3 monitoring campaigns: in 2013–2014, 2019 and 2021. They were used to describe the starting point, the transition phase, and the status after entry into force of the ban, respectively. Whereas the use of BPA as color developer dropped from 82.2% in 2013/14 to 10.8% in 2021, the fraction of BPS-based thermal paper rose from 3.1% to 19.1% during the same period, despite being banned. However, Pergafast® 201 (PF201) is now the main color developer in thermal paper in Switzerland, with an occurrence of 60.3%. Other alternatives such as D-8, TGSA, PPSMU, NKK-1304, BPS-MAE, D-90 and Blue4est® have only been marginally detected. This study demonstrates the efficiency

of the regulatory measure and the feasibility to substitute BPA in thermal papers with less-toxic alternatives.

Research article

Protein extracted from *Moringa oleifera* Lam. Leaves: Bio-evaluation and characterization as suitable plant-based meat-protein alternative

Muhammad Sameem Javed, Smara Qaiser Alvi, Adnan Amjad, Hasan Sardar, ...

Hamada AbdElgawad

Article 105536

[View PDF](#)

本研究は、HPLC を用いてモリンガ葉タンパク質 (MLP) を分離し、その特性を明らかにするとともに、ラットモデルを用いてその摂取効果を評価することを目的とした。アルビノ・ウィスターラット 4 群 (n=25 ずつ) と対照群 (n=25) を馴化させた。単離された MLP は、21 日間の実験期間中、様々な割合 (25、50、75、100%) で基礎飼料 (カゼイン; コントロール) に添加された。日間 (1 日目、11 日目、21 日目) に血液を採取し、血液学的および生化学的検査 (腎機能検査 (RFT)、肝機能検査 (LFT)) を行った。MLP には様々な必須および非必須アミノ酸が相当量含まれていた。タンパク効率比 (PER) は、MLP 50% 投与群が MLP 投与群の中で最も高かった (1.72)。飼料摂取量と体重の増加が、コントロールと比較して処理ラットで観察された。ラットの血液学的プロフィールでは、1 日目からヘモグロビン (Hb) (7.9-14.0%)、白血球 (WBC) (35.9-51.5%)、赤血球 (RBC) (17.1-22.2%)、ヘマトクリット (HCT) (13.1-22.9%)、血小板レベル (36.5-40.6%) の増加が認められた。分離蛋白質は肝臓のパラメーターを低下させたが、ラットの肝臓と腎臓の機能には有意な変化をもたらさなかった。MLP の安全な一日摂取量を決定するためには、さらなる調査が必要である。

This study aimed to isolate and characterize moringa leaf protein (MLP) via HPLC and evaluate its consumption's effects through rat model. Four groups of Albino Wistar rats (n = 25 each) along with a control group (n = 25) were acclimatized. The isolated MLP was added to the basal diet (casein; control) in various percentages (25, 50, 75, 100%) for a 21-day experimental period. On three intervals (1st, 11th, 21st days), blood samples were collected and subjected for hematological and biochemical examination (Renal Function Test (RFT), Liver Function Test (LFT)). MLP contained a variety of essential and non-essential amino acids in substantial amounts. The Protein Efficiency Ratio (PER) of 50% MLP-treated group was the highest (1.72) among MLP treatments. Increases in feed intake and weight were observed in treated rats compared to the control. The hematological profile of the rats revealed increases in Hemoglobin (Hb) (7.9–14.0%), White Blood Cell (WBC) (35.9–51.5%), Red Blood Cell (RBC) (17.1–22.2%), Hematocrit (HCT) (13.1–22.9%), and platelets levels (36.5–40.6%) from day 1. Protein isolates

decreased liver parameters but resulted in non-significant changes in liver and kidney functions in rats. Further investigation is needed to determine the safe daily intake of MLP.

Research article

Uncertainty in the results from oral repeated dose toxicity tests: Impact on regulatory classifications

Atanas Chapkanov, Terry W. Schultz, Ovanes G. Mekenyan

Article 105541

最小観察(有害)影響レベル(LO(A)EL)値は、反復投与毒性(RDT)を定量化する PoD(point-of-departure) 値である。ここでは、これらの PoD の規制上の分類における不確実性について検討する。適用段階では、ホルミシス領域が存在する可能性を考慮し、大規模な系列について用量反応を近似した。最小影響線量(MED) または線量が計算され、比 MED/LO(A)EL が実験的不確実性の 2 つの要素を表すために用いられた。不確かさの推定は、性別と報告された検査項目の任意の組み合わせについて計算した。その後、この不確かさが分類にどのような影響を与えるかを分析し、曖昧な分類を受けた化学物質の割合を求めた。その結果、調査対象となった化学物質の 40%以上が、世界調和システム(GHS)の分類スキームでは明確に分類できず、単一の LO(A)EL 値に基づいて規制当局の判断が下された場合、誤分類の可能性があることが示された。異なるリスクレベルのグレーゾーンを含む表と、様々な LO(A)EL 値に対する GHS 分類分布を含む表は、実務における RDT 不確かさの使用を容易にするために作成された。

The Lowest Observed (Adverse) Effect Level (LO(A)EL) values are point-of-departure (PoD) values that quantify repeat dose toxicity (RDT). Here, the uncertainty in the regulatory classification of these PoDs is investigated. In the application stage, the dose-response was approximated for a large set of series, giving an account of the possible presence of a hormesis zone. The minimal effect dose (MED) or dose was computed, and the ratio MED/LO(A)EL was used to represent the two components of the experimental uncertainty. The uncertainty estimations were calculated for any combination of gender and reported examination item. Subsequently, how this uncertainty affects the possible classifications was analyzed, and the percentage of the chemicals receiving ambiguous classification was determined. It was shown that more than 40% of the investigated chemicals cannot be classified unambiguously in the Globally Harmonized System (GHS) classification scheme and bear a potential for misclassification when a regulatory decision is based on a single LO(A)EL value. A table containing grey zones for different risk levels and a table with GHS classification distributions for various LO(A)EL values were prepared to facilitate the use of the RDT uncertainty in the practice.

Research article

Risk assessment of nutrients: There must be a threshold for their effects

Michiel RH. Löwik, Arne Astrup, Alan R. Boobis, Philip C. Calder, ... Hans Verhagen

Article 105539

[View PDF](#)

栄養素は用量依存的に生理的機能を果たすため、リスクアセスメントではそれを認識する必要がある。このことを適切に考慮しなかった結果の一例が、欧州食品安全機関(EFSA)による最近の評価に見られる。EFSAは2022年、加糖および遊離糖の摂取量は「栄養的に適切な食事という観点から可能な限り低く」あるべきであると結論づけた。EFSAのこの結論は、高水準の糖類摂取を行ったランダム化比較試験で認められた有害影響の2つの代替エンドポイント(空腹時グルコースと空腹時トリグリセリド)への影響に基づいている。これらの試験で最も低い摂取レベルは10エネルギー%前後であり、この摂取レベルでは2つの結果に対する悪影響は見られなかった。このことは、糖の有害作用がこれら2つのエンドポイントに対して観察可能な閾値を持っていることを示している。膨大なデータから最も適切な解釈は、現在のところ、食事性糖質の耐容上限摂取量について明確な結論は出せないということである。したがって、EFSA独自のガイダンスでは、入手可能なデータでは、添加糖の上限値を設定することはできず、したがって、糖類摂取のしきい値を特定するためには、より確実なデータが必要であるという結論に至るだろう。

Nutrients serve physiological functions in a dose-dependent manner and that needs to be recognized in risk assessment. An example of the consequences of not properly considering this can be seen in a recent assessment by the European Food Safety Authority (EFSA). EFSA concluded in 2022 that the intake of added and free sugars should be “as low as possible in the context of a nutritionally adequate diet”. That conclusion of EFSA is based on the effects on two surrogate endpoints for an adverse effect found in randomized controlled trials with high sugars intake levels: fasting glucose and fasting triglycerides. The lowest intake levels in these trials were around 10 energy% and at this intake level there were no adverse effects on the two outcomes. This indicates that the adverse effects of sugars have an observable threshold value for these two endpoints. The most appropriate interpretation from the vast amount of data is that currently no definitive conclusion can be drawn on the tolerable upper intake level for dietary sugars. Therefore, EFSA's own guidance would lead to the conclusion that the available data do not allow the setting of an upper limit for added sugars and hence, that more robust data are required to identify the threshold value for intake of sugars.

Research article

Acute and chronic toxicity in Sprague–Dawley rats of orally-administered total lignans from *Arctii Fructus*, a potential therapeutic drug for diabetes

Jinwang Mei, Xiaobo Li, Zhiyong Xu, Haiyang Zhao, ... Zhaohui Xu

Article 105542

Arctii Fructus は *Arctium lappa* L. (キク科) の熟した果実を乾燥させたもので、中国の薬局方に収載されている。これまでの研究で、*Arctii Fructus* 由来の総リグナン (TLAF) が糖尿病に関する薬理活性を有することが示されている。本研究では、Sprague–Dawley (SD) ラットに TLAF を毎日経口投与した場合の急性および慢性 (26 週間) 毒性を評価した。急性毒性試験では、TLAF は $3,000 \text{ mg/kg} \times 2$ (6 時間間隔) で 10% の死亡率を示し、呼吸困難や強直性痙攣などの毒性症状は神経毒性の可能性を示した。慢性毒性試験では、投与後の死亡率は認められなかった。SD 系ラットに TLAF を 26 週間経口投与した結果、副作用が認められなかったのは $1,800 \text{ mg/kg}$ (ヒト臨床用量の約 54 倍) であり、毒性徴候として口腔および鼻腔分泌物過多、湿潤性周毛が認められたが、TLAF 投与中止後に回復した。トキシコキネティック試験では、TLAF の 2 つの主成分であるアルクチゲニンの血漿中濃度は投与量と正の相関を示し、反復投与により蓄積する傾向が認められた。 $1,800 \text{ mg/kg}$ では、アルクチニン血漿中濃度が上昇し、複数回投与後に蓄積する傾向がみられた。これらの結果から、TLFA は比較的毒性が低く、糖尿病の臨床治療への可能性が示唆された。

Arctii Fructus is the dried ripe fruit of *Arctium lappa* L. (family Asteraceae) and is in the Chinese pharmacopoeia. Previous research showed that the total lignans from *Arctii Fructus* (TLAF) have pharmacological activities related to diabetes. This study evaluated the acute and chronic (26 weeks) toxicities associated with oral daily administration of TLAF in Sprague–Dawley (SD) rats. An acute-toxicity test showed that TLAF caused 10% mortality at $3,000 \text{ mg/kg} \times 2$ (6-h interval), with toxic symptoms, such as dyspnea and tonic convulsions, indicating potential neurotoxicity. A chronic-toxicity study showed no mortality after administration. The no observed adverse-effect level was $1,800 \text{ mg/kg}$ (approximately 54 times higher than the human clinical dose) for 26 weeks of TLAF oral administration in SD rats, with toxicity signs of excessive oral and nasal secretions and moist circumferential hair that recovered after TLAF discontinuation. In the toxicokinetic study, the two main components of TLAF, arctigenin plasma level was positively correlated with dose and tended to accumulate after multiple doses. At $1,800 \text{ mg/kg}$, arctiin plasma level increased and tended to accumulate after multiple doses. These results indicated that TLFA has relatively low toxicity and the potential for clinical treatment of diabetes.

Research article

Retrospective evaluation of the eye irritation potential of agrochemical formulations

Neepa Choksi, Andreia Latorre, Shadia Catalano, Arthur Grivel, ... David Allen

Article 105543

[View PDF](#)

複数の *in vitro* 眼刺激性試験法が開発され、OECD 健康影響試験ガイドラインとして採用されている。しかし、農薬製剤の眼刺激性／損傷性を予測するためには、ほとんどの試験法において適用可能な領域に関する知識のギャップがある。このギャップを克服するため、*in vivo* (OECD TG 405) および *in vitro* (OECD TG 437, 438, および/または 492) のデータを有する 192 の農薬製剤をレトロスペクティブに評価し、*in vitro* の方法が国連化学品の分類および表示に関する世界調和システム (GHS) の眼刺激性危険有害性分類を正確に割り当てることができるかどうかを判定した。さらに、各製剤について、GHS 濃度閾値 (CT) アプローチを用いて、含有有害成分の分類と製品中の各濃度から眼刺激性分類を導き出した。本結果から、3 つの *in vitro* 法と GHS CT 法は、眼刺激性に関して GHS 分類を必要としない製剤を高度に予測できることが示唆された。ほとんどの農薬製剤がこのカテゴリーに分類されることから、分類されない農薬製剤を正確に同定する方法は、このエンドポイントに対する動物の使用を大幅に削減できる可能性がある。

Multiple *in vitro* eye irritation methods have been developed and adopted as OECD health effects test guidelines. However, for predicting the ocular irritation/damage potential of agrochemical formulations there is an applicability domain knowledge gap for most of the methods. To overcome this gap, a retrospective evaluation of 192 agrochemical formulations with *in vivo* (OECD TG 405) and *in vitro* (OECD TG 437, 438, and/or 492) data was conducted to determine if the *in vitro* methods could accurately assign United Nations Globally Harmonized System for Classification and Labelling of Chemicals (GHS) eye irritation hazard classifications. In addition, for each formulation the eye irritation classification was derived from the classification of the contained hazardous ingredients and their respective concentration in the product using the GHS concentration threshold (CT) approach. The results herein suggest that the three *in vitro* methods and the GHS CT approach were highly predictive of formulations that would not require GHS classification for eye irritation. Given most agrochemical formulations fall into this category, methods that accurately identify non-classified agrochemical formulations could significantly reduce the use of animals for this endpoint.

Review article

Opinion of the Scientific Committee on health, environmental and emerging risks

on the safety of titanium dioxide in toys

Laurent Bodin, Maria Dusinska, Maciej Stepnik, Susan W.P. Wijnhoven, ... Wim H. de Jong

Article 105527

健康・環境・新興リスクに関する科学委員会の意見は、玩具と玩具材料における二酸化チタンの使用が、特定された暴露と、吸入後の二酸化チタンの発癌性カテゴリー2 分類に照らして安全と考えられるかどうかについて、欧州委員会に助言するものである。着色剤として様々な量の二酸化チタンを含む鋳造キット、チョーク、粉体塗料、白色色鉛筆を含む4つの玩具製品が吸入リスクについて評価された。経口経路については、子供用リップグロス/口紅、フィンガーペイント、白色色鉛筆を評価した。

玩具及び玩具材料に使用される顔料系酸化チタン製剤に超微粒子画分が存在しないことが高い確度で証明された場合、本意見書の曝露量推定に基づき、検討されたすべての製品について、リスクがないか無視できる安全な使用が示される。しかし、超微粒子が存在すると仮定した場合、白色色鉛筆を除き、安全な使用は示されない。

The Opinion of the Scientific Committee on Health, Environmental and Emerging Risks advises the European Commission on whether the uses of titanium dioxide in toys and toy materials can be considered to be safe in light of the identified exposure, and the classification of titanium dioxide as carcinogenic category 2 after inhalation. Four toy products including casting kits, chalk, powder paints and white colour pencils containing various amounts of TiO_2 as colouring agent were evaluated for inhalation risks. For the oral route, childrens' lip gloss/lipstick, finger paint and white colour pencils were evaluated.

When it can be demonstrated with high certainty that no ultrafine fraction is present in pigmentary TiO_2 preparations used in toys and toy materials, safe use with no or negligible risk for all products considered is indicated based on the exposure estimations of this Opinion. However, if an ultrafine fraction is assumed to be present, safe use is not indicated, except for white colour pencils.

Correspondence

[Letter to the Editor: Modeling the changing face of Phosphatidylethanol's window of detection](#)

Van Long Nguyen, Ted W. Simon

Article 105537

Short communication

The 2022 world health organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for polychlorinated dioxins, dibenzofurans and biphenyls

Michael DeVito, Bas Bokkers, Majorie B.M. van Duursen, Karin van Ede, ... Martin van den Berg

Article 105525

[View PDF](#)

2022 年 10 月、世界保健機関 (WHO) はポルトガルのリスボンで専門家パネルを開催し、2005 年の塩素化ダイオキシン類化合物の WHO TEF を再評価した。専門家の判断とコンセンサスに基づく TEF 値の割り当てを採用した以前のパネルとは対照的に、今回の取り組みでは、2006 年の REP データベースの更新、コンセンサスに基づく重み付けスキーム、ベイズ法による用量反応モデリング、メタアナリシスを採用し、「最良推定値」の TEF を導き出した。更新されたデータベースには、旧版の約 2 倍のデータセットが含まれ、重み付けスキームに情報を提供するメタデータも含まれている。このデータセットのベイズ分析により、コンジェネラー特異的な効力の不偏の定量的評価と不確かさの推定値が得られた。モデルから導き出された「最良推定値」TEF は、ほとんどすべてのコンジェネラーについて 2022 年の WHO-TEF を割り当てるために使用され、これらの値は以前のように半対数に丸められなかった。例外はモノオルト PCB で、これらの化合物については利用可能なデータが限られており、かつ不均一であるため、パネルは 2005 年の WHO-TEF を維持することに同意した。ヒトの乳や魚介類で測定されたダイオキシン様化学物質の限られた濃度にこれらの新しい TEF を適用すると、総毒性等量は 2005 年の TEF を使用した場合よりも低くなる傾向があることが示された。

In October 2022, the World Health Organization (WHO) convened an expert panel in Lisbon, Portugal in which the 2005 WHO TEFs for chlorinated dioxin-like compounds were reevaluated. In contrast to earlier panels that employed expert judgement and consensus-based assignment of TEF values, the present effort employed an update to the 2006 REP database, a consensus-based weighting scheme, a Bayesian dose response modeling and meta-analysis to derive “Best-Estimate” TEFs. The updated database contains almost double the number of datasets from the earlier version and includes metadata that informs the weighting scheme. The Bayesian analysis of this dataset results in an unbiased quantitative assessment of the congener-specific potencies with uncertainty estimates. The “Best-Estimate” TEF derived from the model was used to assign 2022 WHO-TEFs for almost all congeners and these values were not rounded to half-logs as was done previously. The exception was for the mono-ortho PCBs, for which the panel agreed to retain their 2005 WHO-TEFs due to limited and heterogenous data available for these compounds. Applying these new TEFs to a limited set of dioxin-like chemical concentrations measured in human milk and seafood indicates that the total

toxic equivalents will tend to be lower than when using the 2005 TEFs.

DeepL translation / AEIC trial