

## LOOK INSIDE TOXSCI

[From the Editor's Desk, Editor's Highlights](#)

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 313–314,

| Original  | Google translation   |
|---|--|
| This is my last Look Inside <i>ToxSci</i> . I have enjoyed drawing attention to the outstanding research published in <i>Toxicological Sciences</i> . I thank our Associate Editors who have penned the dozens of highlights, the investigators who conducted the research and submitted the manuscripts to <i>ToxSci</i> , and the reviewers who provided the scientific evaluation. It has been an honor serving as a steward for the Journal, the Society of Toxicology, and the field in general. Understanding how our environment impacts our health is critical for our future. The world needs experts in the science of toxicology and <i>Toxicological Sciences</i> is proud to serve as... | これが私の最後の Look Inside ToxSci です。Toxicological Sciences で発表された優れた研究に注目を集めています。多数のハイライトを書いたアソシエイトエディター、研究を実施して原稿を ToxSci に提出した調査員、および科学的評価を提供したレビューアーに感謝します。これは、ジャーナル、毒性学会、および一般的な分野のスチュワードを務める名誉です。私たちの環境が私たちの健康にどのように影響するかを理解することは、私たちの将来にとって重要です。世界には毒物学の専門家が必要であり、毒性科学は次のように機能することを誇りに思っています... |

## EDITORIAL

[Reproducibility Revisited: Reflections of an Editor](#)

Gary W Miller

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 315–316,

| Original   | Google translation  |
|--|---|
| Shortly after I accepted the position of Editor-in-Chief 6 years ago, I wrote an editorial entitled “Improving | 6 年前に編集長の職に就いた直後に、「毒性学における再現性の改善」というタイトルの社説を書いた (Miller, 2014)。再現性の |

# Google translation/AETC trial

|   |   |
|---|---|
| Reproducibility in Toxicology” (Miller, 2014). The topic of reproducibility had been receiving widespread attention in scientific journals and popular press, and I wanted to examine this important topic and encourage our readers to consider it within the context of the field. Our editorial team evaluated our policies and procedures to determine if there were areas where we could enhance reproducibility, and we made several changes aimed at doing just that (Miller, 2015a,b, 2016a, 2017; Waller and Miller, 2016). I... | トピックは科学雑誌や一般のマスコミで広く注目されており、この重要なトピックを調べて、読者にこの分野の文脈の中でそれを検討することを勧めました。編集チームはポリシーと手順を評価して、再現性を高めることができる領域があるかどうかを判断し、それを行うためにいくつかの変更を行いました (Miller、2015a、b、2016a、2017; Waller and Miller、2016)。私... |
|---|---|

## EPA COMPUTATIONAL TOXICOLOGY BLUEPRINT

[The Next Generation Blueprint of Computational Toxicology at the U.S. Environmental Protection Agency](#)

Russell S Thomas; Tina Bahadori; Timothy J Buckley; John Cowden; Chad Deisenroth ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 317–332,

| Original   | Google translation   |
|--|--|
| The U.S. Environmental Protection Agency (EPA) is faced with the challenge of efficiently and credibly evaluating chemical safety often with limited or no available toxicity data. The expanding number of chemicals found in commerce and the environment, coupled with time and resource requirements for traditional toxicity testing and exposure characterization, continue to underscore the need for new approaches. In 2005, EPA charted a new course to address this | 米国環境保護庁（EPA）は、化学物質の安全性を効率的かつ確実に評価するという課題に直面しています。これは多くの場合、毒性データが限られているか、まったくありません。商業および環境で見られる化学物質の数の増加は、従来の毒性試験および暴露特性評価のための時間と資源の要件と相まって、新しいアプローチの必要性を強調し続けています。2005年に、EPAは計算毒性学（CompTox）を採用し、この分野を前進させる技術と能力に投資することにより、この課題に対処するための新しいコ |

# Google translation/AETC trial

challenge by embracing computational toxicology (CompTox) and investing in the technologies and capabilities to push the field forward. The return on this investment has been demonstrated through results and applications across a range of human and environmental health problems, as well as initial application to regulatory decision-making within programs such as the EPA's Endocrine Disruptor Screening Program. The CompTox initiative at EPA is more than a decade old. This manuscript presents a blueprint to guide the strategic and operational direction over the next 5 years. The primary goal is to obtain broader acceptance of the CompTox approaches for application to higher tier regulatory decisions, such as chemical assessments. To achieve this goal, the blueprint expands and refines the use of high-throughput and computational modeling approaches to transform the components in chemical risk assessment, while systematically addressing key challenges that have hindered progress. In addition, the blueprint outlines additional investments in cross-cutting efforts to characterize uncertainty and variability, develop software and information technology tools, provide outreach and training, and establish scientific confidence for application to different public health and environmental regulatory decisions.

ースを作成しました。この投資に対する収益は、人間と環境のさまざまな健康問題にわたる結果とアプリケーション、および EPA の内分泌かく乱物質スクリーニングプログラムなどのプログラムにおける規制上の意思決定への最初の適用を通じて実証されています。EPA の CompTox イニシアチブは 10 年以上前のものです。この原稿は、今後 5 年間の戦略的および運用上の方向性を示す青写真を示しています。主な目標は、化学物質の評価など、より上位の規制上の決定に適用するための CompTox アプローチをより広く受け入れてもらうことです。この目標を達成するために、ブループリントは、ハイスループットおよび計算モデリングアプローチの使用を拡大および改良して、化学的リスク評価のコンポーネントを変換すると同時に、進歩を妨げている主要な課題に体系的に対処します。さらに、青写真では、不確実性と変動性を特徴付け、ソフトウェアと情報技術ツールを開発し、アウトリーチとトレーニングを提供し、さまざまな公衆衛生と環境規制の決定に適用するための科学的信頼を確立するための横断的な取り組みへの追加投資の概要を示します。

## ENDOSULFAN NEUROTOXICITY AND PESTICIDE AOPs

### Mechanistic Interplay Between Autophagy and Apoptotic Signaling in Endosulfan-Induced Dopaminergic Neurotoxicity: Relevance to the Adverse Outcome Pathway in Pesticide Neurotoxicity

Chunjuan Song; Adhithiya Charli; Jie Luo; Zainab Riaz; Huajun Jin ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 333–352,

| Original  | Google translation  |
|---|---|
| <p>Chronic exposure to pesticides is implicated in the etiopathogenesis of Parkinson's disease (PD). Previously, we showed that dieldrin induces dopaminergic neurotoxicity by activating a cascade of apoptotic signaling pathways in experimental models of PD. Here, we systematically investigated endosulfan's effect on the interplay between apoptosis and autophagy in dopaminergic neuronal cell models of PD. Exposing N27 dopaminergic neuronal cells to endosulfan rapidly induced autophagy, indicated by an increased number of autophagosomes and LC3-II accumulation. Prolonged endosulfan exposure (&gt;9 h) triggered apoptotic signaling, including caspase-2 and -3 activation and protein kinase C delta (PKC<math>\delta</math>) proteolytic activation, ultimately leading to cell death, thus demonstrating that autophagy precedes apoptosis during endosulfan neurotoxicity. Furthermore, inhibiting autophagy with wortmannin, a phosphoinositide 3-kinase inhibitor, potentiated endosulfan-induced apoptosis, suggesting that autophagy is</p> | <p>農薬への慢性暴露は、パーキンソン病 (PD) の病因に関係しています。以前、我々は、ディルドリンが PD の実験モデルでアポトーシスシグナル伝達経路のカスケードを活性化することによりドーパミン作動性神経毒性を誘発することを示した。ここでは、PD のドーパミン作動性神経細胞モデルにおけるアポトーシスとオートファジーの相互作用に対するエンドスルファンの影響を体系的に調査しました。N27 ドーパミン作動性神経細胞をエンドスルファンに曝露すると、オートファゴソームの数の増加と LC3-II の蓄積によって示されるオートファジーが急速に誘発されました。長時間のエンドスルファン暴露 (&gt;9 <math>\mu</math> h) は、カスパーゼ-2 および-3 の活性化とプロテインキナーゼ C デルタ (PKC <math>\delta</math>) のタンパク質分解活性化を含むアポトーシスシグナル伝達を引き起こし、最終的に細胞死をもたらした。したがって、オートファジーがエンドスルファン神経毒性中にアポトーシスに先行することを実証しました。さらに、ホスホイノシチド 3 キナーゼ阻害剤であるワートマンインでオートファジーを阻害すると、エンドスルファン誘発アポトーシスが增強され、オートファジーがエンドスルファンに対する初期の保護反応であることが示唆さ</p> |

# Google translation/AETC trial

|   |   |
|---|---|
| <p>an early protective response against endosulfan. Additionally, Beclin-1, a major regulator of autophagy, was cleaved during the initiation of apoptotic cell death, and the cleavage was predominantly mediated by caspase-2. Also, caspase-2 and caspase-3 inhibitors effectively blocked endosulfan-induced apoptotic cell death. CRISPR/Cas9-based stable knockdown of PKC<math>\delta</math> significantly attenuated endosulfan-induced caspase-3 activation, indicating that the kinase serves as a regulatory switch for apoptosis. Additional studies in primary mesencephalic neuronal cultures confirmed endosulfan's effect on autophagy and neuronal degeneration. Collectively, our results demonstrate that a functional interplay between autophagy and apoptosis dictate pesticide-induced neurodegenerative processes in dopaminergic neuronal cells. Our study provides insight into cell death mechanisms in environmentally linked neurodegenerative diseases.</p> | <p>れました。さらに、オートファジーの主要な調節因子であるベクリン-1は、アポトーシス細胞死の開始時に切断され、切断は主にカスパーゼ-2によって媒介されました。また、カスパーゼ-2 およびカスパーゼ-3 阻害剤は、エンドスルファン誘発性アポトーシス細胞死を効果的にブロックしました。CRISPR / Cas9 ベースの PKC <math>\delta</math> の安定したノックダウンは、エンドスルファン誘導性カスパーゼ 3 活性化を大幅に減衰させ、キナーゼがアポトーシスの調節スイッチとして機能することを示しています。初代中脳神経培養の追加の研究により、オートファジーと神経変性に対するエンドスルファンの効果が確認されました。まとめて、我々の結果は、オートファジーとアポトーシスの間の機能的相互作用が、ドーパミン作動性神経細胞における農薬誘発性神経変性プロセスを決定することを示しています。私たちの研究は、環境に関連した神経変性疾患の細胞死メカニズムへの洞察を提供します。</p> |
|---|---|

## IMPROVED ACUTE FISH TOXICITY ASSAY

### Repeatability and Reproducibility of the RTgill-W1 Cell Line Assay for Predicting Fish Acute Toxicity

Melanie Fischer; Scott E Belanger; Pascale Berckmans; Mary J Bernhard; Ludek Bláha ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 353–364,

| Original                                    | Google translation        |
|---|---------------------------|
| Predicting fish acute toxicity of chemicals | in vitro での化学物質の魚の急性毒性の予測 |

# Google translation/AETC trial

*in vitro* is an attractive alternative method to the conventional approach using juvenile and adult fish. The rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cell line assay with RTgill-W1 cells has been designed for this purpose. It quantifies cell viability using fluorescent measurements for metabolic activity, cell- and lysosomal-membrane integrity on the same set of cells. Results from over 70 organic chemicals attest to the high predictive capacity of this test. We here report on the repeatability (intralaboratory variability) and reproducibility (interlaboratory variability) of the RTgill-W1 cell line assay in a round-robin study focusing on 6 test chemicals involving 6 laboratories from the industrial and academic sector. All participating laboratories were able to establish the assay according to preset quality criteria even though, apart from the lead laboratory, none had previously worked with the RTgill-W1 cell line. Concentration-response modeling, based on either nominal or geometric mean-derived measured concentrations, yielded effect concentrations (EC<sub>50</sub>) that spanned approximately 4 orders of magnitude over the chemical range, covering all fish acute toxicity categories. Coefficients of variation for intralaboratory and interlaboratory variability for the average of the 3 fluorescent cell viability measurements were 15.5% and 30.8%, respectively,

は、稚魚および成魚を使用する従来のアプローチの魅力的な代替方法です。

RTgill-W1 細胞を用いたニジマス

(*Oncorhynchus mykiss*) 細胞株アッセイは、この目的のために設計されています。同じ細胞セットでの代謝活性、細胞膜およびリソソーム膜の完全性の蛍光測定を使用して、細胞の生存率を定量化します。70以上の有機化学物質の結果は、このテストの高い予測能力を証明しています。ここでは、産業および学術部門の6つの実験室が関与する6つの試験化学物質に焦点を当てたラウンドロビン研究におけるRTgill-W1細胞株アッセイの再現性（実験室内の変動性）および再現性（実験室間変動性）について報告します。主要な研究室を除いて、RTgill-W1細胞株を以前に使用した研究者はいませんでした。すべての参加研究室は、事前に設定された品質基準に従ってアッセイを確立することができました。公称または幾何平均に由来する測定濃度に基づいた濃度反応モデリングにより、化学範囲で約4桁に及ぶ影響濃度(EC<sub>50</sub>)が得られ、すべての魚の急性毒性カテゴリーがカバーされました。3つの蛍光細胞生存率測定の平均の実験室内および実験室間変動の変動係数は、それぞれ15.5%および30.8%であり、他の魚由来の小規模バイオアッセイに匹敵します。したがって、この研究は、RTgill-W1細胞株アッセイの堅牢性と、異なる実験室設定のオペレーターが実施した場合の正確な性能を強調しています。



# Google translation/ AETC trial

|  |  |
|--|--|
| which is comparable to other fish-derived, small-scale bioassays. This study therefore underlines the robustness of the RTgill-W1 cell line assay and its accurate performance when carried out by operators in different laboratory settings. |  |
|--|--|

## AGE EFFECTS IN PYRETHROID PBPK MODELS

Evaluation of Age-Related Pyrethroid Pharmacokinetic Differences in Rats: Physiologically-Based Pharmacokinetic Model Development Using *In Vitro* Data and *In Vitro* to *In Vivo* Extrapolation

Gina Song; Marjory Moreau; Alina Efremenko; Brian G Lake; Huali Wu ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 365–379,

| Original  | Google translation  |
|---|---|
| An <i>in vitro</i> to <i>in vivo</i> (IVIVE) extrapolation based-physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling approach was demonstrated to understand age-related differences in kinetics and how they potentially affect age-related differences in acute neurotoxic effects of pyrethroids. To describe the age-dependent changes in pyrethroid kinetics, it was critical to incorporate age-dependent changes in metabolism into the model. As such, <i>in vitro</i> metabolism data were collected for 3 selected pyrethroids, deltamethrin (DLM), <i>cis</i> -permethrin, and <i>trans</i> -permethrin, using liver microsomes and cytosol, and plasma prepared from immature and adult rats. Resulting metabolism parameters, maximum rate | <i>in vitro</i> から <i>in vivo</i> (IVIVE) の外挿に基づく生理学に基づく薬物動態 (PBPK) モデリングアプローチは、運動学における年齢関連の違いと、ピレスロイドの急性神経毒性効果における年齢関連の違いにどのように影響するかを理解するために実証されました。ピレスロイド動態の年齢依存性の変化を説明するには、代謝の年齢依存性の変化をモデルに組み込むことが重要でした。そのため、肝臓のミクロソームとサイトゾル、および未成熟および成体ラットから調製した血漿を使用して、選択した 3 つのピレスロイド、デルタメトリン (DLM)、シス-ペルメトリン、およびトランス-ペルメトリンの <i>in vitro</i> 代謝データを収集しました。結果として生じる代謝パラメーター、最大代謝率 (Vmax) およびミカエリス-メンテン定数 (Km) は、年齢固有の PBPK モデルで使用するために、それぞれの生体内パラメー |

of metabolism ( $V_{\max}$ ) and Michaelis-Menten constant ( $K_m$ ), were biologically scaled to respective *in vivo* parameters for use in the age-specific PBPK model. Then, age-dependent changes in target tissue exposure, *i.e.*, brain  $C_{\max}$ , to a given pyrethroid were simulated across ages using the model. The PBPK model recapitulated *in vivo* time-course plasma and brain concentrations of the 3 pyrethroids in immature and adult rats following oral administration of both low and high doses of these compounds. A single model structure developed for DLM was able to describe the kinetics of the other 2 pyrethroids when used with compound- and age-specific metabolism parameters, suggesting that one generic model for pyrethroids as a group can be used for early age-sensitivity evaluation if appropriate metabolic parameters are used. This study demonstrated the validity of applying IVIVE-based PBPK modeling to development of age-specific PBPK models for pyrethroids in support of pyrethroid risk assessment of potentially sensitive early age populations in humans.

ターに生物学的にスケーリングされました。次に、モデルを使用して、年齢に関係なく、特定のピレスロイドに対する標的組織暴露、つまり脳の  $C_{\max}$  の年齢依存性の変化をシミュレートしました。PBPK モデルは、これらの化合物の低用量と高用量の両方の経口投与後の未熟および成体ラットにおける 3 つのピレスロイドの *in vivo* 時間経過血漿および脳濃度を再現しました。DLM 用に開発された単一のモデル構造は、化合物および年齢固有の代謝パラメーターと併用した場合に他の 2 つのピレスロイドの動態を記述することができたため、グループとしてのピレスロイドの 1 つの一般的なモデルは、早期の年齢感受性評価に使用できることが示唆されました適切な代謝パラメーターが使用されます。この研究は、IVIVE ベースの PBPK モデリングをピレスロイドの年齢固有の PBPK モデルの開発に適用して、ヒトの潜在的に敏感な初期年齢集団のピレスロイドリスク評価をサポートする妥当性を実証しました。

## PBDE TOXICITY IN BREAST CANCER CELL MODELS

Molecular Mechanisms of Polybrominated Diphenyl Ethers (BDE-47, BDE-100, and BDE-153) in Human Breast Cancer Cells and Patient-Derived Xenografts

Noriko Kanaya; Lauren Bernal; Gregory Chang; Takuro Yamamoto; Duc Nguyen ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 380–398,



# Google translation/AEC trial

| Original  | Google translation  |
|---|---|
| <p>Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) have been used as flame retardants in household materials. Their environmental persistence has led to continuous human exposure and significant tissue levels. Three PBDE congeners (BDE-47, BDE-100, and BDE-153) have been frequently detected in human serum. Although these compounds appear to possess endocrine disrupting activity, studies are largely missing to determine the biological mechanisms of PBDEs in breast cancer cells. Here, we assessed PBDE bioactivities with three complementary strategies: receptor binding/activity assays; nonbiased RNA-sequencing analysis using an estrogen-dependent breast cancer cell line MCF-7aroERE; and <i>in vivo</i> assessments using patient-derived xenograft (PDX) models of human breast cancer. According to the results from <i>in vitro</i> experiments, the PBDE congeners regulate distinct nuclear receptor signaling pathways. BDE-47 acts as a weak agonist of both estrogen receptor <math>\alpha</math> (ER<math>\alpha</math>) and estrogen-related receptor <math>\alpha</math> (ERR<math>\alpha</math>); it could stimulate proliferation of MCF-7aroERE and induced expression of ER-regulated genes (including cell cycle genes). BDE-153 was found to act as a weak antagonist of ER<math>\alpha</math>. BDE-100 could act as (1) an agonist of aryl hydrocarbon</p> | <p>ポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDE) は、家庭用材料の難燃剤として使用されています。それらの環境の持続性は、人間の継続的な曝露と著しい組織レベルをもたらしました。3つのPBDE同族体 (BDE-47、BDE-100、およびBDE-153) がヒト血清で頻繁に検出されています。これらの化合物は内分泌かく乱活性を持っているように見えますが、乳癌細胞におけるPBDEの生物学的メカニズムを決定する研究はほとんどありません。ここでは、PBDEの生物活性を3つの補完的な戦略で評価しました。受容体結合/活性アッセイ。エストロゲン依存性乳癌細胞株 MCF-7aroERE を使用した非バイアス RNA シーケンス解析。およびヒト乳がんの患者由来異種移植 (PDX) モデルを使用した <i>in vivo</i> 評価。 <i>in vitro</i> 実験の結果によれば、PBDE 同族体は異なる核内受容体シグナル伝達経路を調節します。BDE-47 は、エストロゲン受容体 <math>\alpha</math> (ER<math>\alpha</math>) とエストロゲン関連受容体 <math>\alpha</math> (ERR<math>\alpha</math>) の両方の弱いアゴニストとして作用します。MCF-7aroERE の増殖を刺激し、ER 調節遺伝子 (細胞周期遺伝子を含む) の発現を誘導します。BDE-153 は ER<math>\alpha</math> の弱い拮抗薬として作用することが判明しました。BDE-100 は、(1) CYP1A1 および CYP1B1 の発現を誘導するアリール炭化水素受容体 (AhR) のアゴニストとして、および (2) ER<math>\alpha</math> の非常に弱いアゴニスト/アンタゴニストとして作用します。生体内では、ヒト血清で検出された比率を持つ3つの同族体の混合物が ER + PDX モデルでテストされました。混合物は、アポトーシス/細胞周期</p> |

# Google translation/AETC trial

|   |   |
|---|---|
| receptor (AhR), inducing expression of CYP1A1 and CYP1B1 and (2) as a very weak agonist/antagonist of ER $\alpha$ . <i>In vivo</i> , a mixture of the three congeners with ratios detected in human serum was tested in an ER+ PDX model. The mixture exhibited estrogenic activity through apoptosis/cell cycle regulation and increased the expression of a proliferation marker, Ki-67. These results advance our understanding of the mechanisms of PBDE exposure in breast cancer cells. | 調節を通じてエストロゲン様活性を示し、増殖マーカーである Ki-67 の発現を増加させました。これらの結果は、乳癌細胞における PBDE 暴露のメカニズムの理解を促進します。 |
|---|---|

## SMALL RNA BIOMARKERS OF TESTICULAR TOXICITY

Small RNAs in Rat Sperm Are a Predictive and Sensitive Biomarker of Exposure to the Testicular Toxicant Ethylene Glycol Monomethyl Ether

Angela R Stermer; Gerardo Reyes; Susan J Hall; Kim Boekelheide

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 399–408,

| Original  | Google translation  |
|---|---|
| Testicular histology and semen parameters are considered the gold standards when determining male reproductive toxicity. Ethylene glycol monomethyl ether (EGME) is a testicular toxicant with well-described effects on histopathology and sperm parameters. To compare the predictivity and sensitivity of molecular biomarkers of testicular toxicity to the traditional endpoints, small RNAs in the sperm were analyzed by next generation RNA-sequencing (RNA-seq). Adult rats were exposed to 0, 50, 60, or 75 mg/kg EGME by oral gavage | 精巣の組織学および精液のパラメーターは、男性の生殖毒性を決定する際のゴールドスタンダードと見なされます。エチレングリコールモノメチルエーテル (EGME) は、組織病理学および精子パラメーターによく説明されている効果を持つ精巣毒物です。精巣毒性の分子バイオマーカーの予測性と感度を従来のエンドポイントと比較するために、精子中の small RNA を次世代の RNA シーケンス (RNA-seq) で分析しました。成体ラットを経口強制飼養により 0、50、60、または 75mg / kg EGME に 5 日間連続して暴露した。精巣の組織学、精巣上体の精子の運動性、および microRNA |

# Google translation/ AEC trial

|  |  |
|--|--|
| <p>for 5 consecutive days. Testis histology, epididymal sperm motility, and sperm small RNAs, including microRNAs (miRNAs), mRNA fragments, piwi-interacting RNAs (piRNAs), and tRNA fragments (tRFs), were analyzed 5 weeks after cessation of exposure. Testicular histology showed a significant dose-dependent increase in retained spermatid heads (RSH), while sperm motility declined with increasing dose. RNA-sequencing of sperm small RNAs was used to identify significant dose-dependent changes in percent mRNA fragments (of total reads), percent miRNAs (of total reads), average tRF length, average piRNA length, and piRNA and tRF length-distributions. Discriminant analysis showed relatively low predictivity of exposure based on RSH or motility compared to the average read length of all assigned RNAs. Benchmark dose (BMD) modeling resulted in a BMD of 62 mg/kg using RSH, whereas average read length of all assigned RNAs resulted in a BMD of 47 mg/kg. These results showed that sperm small RNAs are sensitive and predictive biomarkers of EGME-induced male reproductive toxicity.</p> | <p>(miRNA)、mRNA 断片、piwi 相互作用 RNA (piRNA)、tRNA 断片 (tRF) を含む精子の small RNA が、曝露停止の 5 週間後に分析されました。精巣の組織学は、保持された精子頭部 (RSH) の有意な用量依存的増加を示したが、精子の運動性は用量の増加とともに低下した。精子 small RNA の RNA シーケンスを使用して、mRNA フラグメント (総読み取り) の割合、miRNA (総読み取り) の割合、平均 tRF 長、平均 piRNA 長、および piRNA および tRF 長分布の重要な用量依存的変化を特定しました。判別分析では、割り当てられたすべての RNA の平均読み取り長と比較して、RSH または運動性に基づく暴露の予測率が比較的低いことが示されました。ベンチマーク用量 (BMD) モデリングでは、RSH を使用すると 62µmg / kg の BMD が得られましたが、割り当てられたすべての RNA の平均読み取り長は 47µmg / kg の BMD でした。これらの結果は、精子の低分子 RNA が EGME 誘発性の雄の生殖毒性の高感度で予測的なバイオマーカーであることを示しました。</p> |
|--|--|

## INFLUENZA B AND ANTIBODY THERAPIES

### [In Vivo Assessment of Antibody-Dependent Enhancement of Influenza B Infection](#)

Gautham K Rao; Rodney A Prell; Steven T Laing; Stefanie C M Burleson; Allen Nguyen ...

# Google translation/AEIC trial

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 409–421,

| Original   | Google translation  |
|--|---|
| <p>A theoretical safety concern proposed in the influenza literature is that therapeutic antiviral antibodies could have the potential for antibody-dependent enhancement (ADE) of infection and disease. ADE may occur when virus-specific antibodies at subtherapeutic, nonneutralizing concentrations facilitate virus uptake and, in some cases, enhance replication, which can lead to an exacerbation of virus-mediated disease. Alternatively, ADE may occur due to antibody-dependent complement activation exacerbating virus-mediated disease in the absence of increased replication. As a result of this theoretical safety concern, safety assessment of anti-influenza antibodies may include an <i>in vivo</i> evaluation of ADE of infection and/or disease. These studies were conducted to investigate the potential of MHAB5553A, a broadly specific, neutralizing therapeutic anti-influenza B antibody, to elicit ADE of infection and disease in mouse models of influenza B infection. In parallel studies, female DBA/2J mice were infected with either influenza B/Victoria/504/2000 or influenza B/Brisbane/60/2008 representing distinct lineages. Assessment of ADE was based on an integration of results from multiple</p> | <p>インフルエンザの文献で提案されている理論上の安全性の懸念は、治療用抗ウイルス抗体が感染および疾患の抗体依存性増強（ADE）の可能性を秘めている可能性があることです。ADE は、治療量以下の非中和濃度のウイルス特異的抗体がウイルスの取り込みを促進し、場合によっては複製を促進し、ウイルス媒介疾患の悪化につながる場合に発生する可能性があります。あるいは、複製の増加がない場合、ウイルス依存性疾患を悪化させる抗体依存性補体活性化により ADE が発生する可能性があります。この理論上の安全性の懸念の結果として、抗インフルエンザ抗体の安全性評価には、感染および/または疾患の ADE の <i>in vivo</i> 評価が含まれる場合があります。これらの研究は、インフルエンザ B 感染のマウスモデルで感染と疾患の ADE を誘発する、広く特異的な中和治療用抗インフルエンザ B 抗体である MHAB5553A の可能性を調査するために行われました。並行研究では、雌の DBA / 2J マウスに、異なる系統を表すインフルエンザ B / ビクトリア / 504 / 2000 またはインフルエンザ B / ブリスベン / 60 / 2008 のいずれかが感染しました。ADE の評価は、感染性肺ウイルス力価とゲノム、体重、死亡率、肺重量、組織病理学を含む複数のエンドポイントからの結果の統合に基づいていました。これらの研究では、15 mg / kg の高用量の MHAB5553A により、インフルエンザ肺炎が大幅に減弱し、1.5 mg / kg で中程度の効果が得られました。一方、0.15 または 0.015 mg / kg での MHAB5553A 治</p> |

# Google translation/AEC trial

|  |   |
|--|---|
| endpoints, including infectious lung viral titers and genomes, body weight, mortality, lung weight, and histopathology. In these studies, the high dose of 15 mg/kg MHAB5553A resulted in substantial attenuation of influenza pneumonia, with more modest effects at 1.5 mg/kg; whereas MHAB5553A treatment at 0.15 or 0.015 mg/kg was generally comparable to vehicle-treated controls. Our results demonstrate that MHAB5553A across a broad range of doses did not enhance primary influenza B infection or disease in this model, and represent a nonclinical de-risking of the ADE potential with this antibody. | 療は、一般にビヒクル治療対照と同等でした。我々の結果は、広範な用量にわたる MHAB5553A がこのモデルで一次インフルエンザ B 感染または疾患を増強せず、この抗体による ADE ポテンシャルの非臨床的リスク除去を表すことを示しています。 |
|--|---|

## SYNTHETIC CANNABINOIDS AND MECHANISMS OF NEPHROTOXICITY

Synthetic Cannabinoids JWH-122 and THJ-2201 Disrupt Endocannabinoid-Regulated Mitochondrial Function and Activate Apoptotic Pathways as a Primary Mechanism of *In Vitro* Nephrotoxicity at *In Vivo* Relevant Concentrations

João P Silva; Ana Margarida Araújo; Paula Guedes de Pinho; Helena Carmo; Félix Carvalho

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 422–435,

| Original  | Google translation  |
|---|---|
| The widespread recreational use of synthetic cannabinoids (SCBs) represents a major public health issue, as reports of intoxications and deaths following SCB use rapidly mount up. Specifically, a direct link between SCB use and acute kidney injury (AKI) has been established, although the pathophysiologic mechanisms remain | 合成カンナビノイド (SCB) の広範なレクリエーション使用は、SCB 使用後の中毒と死亡の報告が急速に増加しているため、主要な公衆衛生問題を表しています。具体的には、SCB の使用と急性腎障害 (AKI) の直接的な関係が確立されていますが、病態生理学的メカニズムは未定義のままです。ここでは、ヒト近位尿細管細胞 (HK-2) で一般的に検出され、構造的に異なる 3 つの |



# Google translation/AEC trial

undefined. Here we assessed the *in vitro* nephrotoxicity of 3 commonly detected and structurally distinct SCBs—AB-FUBINACA, JWH-122, and THJ-2201—in human proximal tubule cells (HK-2), to ascertain potential similarities and/or differences regarding their nephrotoxicity signatures. We showed that 2 of the 3 SCBs tested, namely JWH-122 and THJ-2201, at *in vivo* relevant concentrations (1 nM–1  $\mu$ M), triggered apoptotic cell death pathways, mainly through a shared mechanism involving the deregulation of mitochondrial function (ie, with mitochondrial membrane hyperpolarization and increased intracellular ATP levels), as the primary molecular signature of nephrotoxicity mechanism. Noteworthy, no SCB affected cell viability (MTT reduction, lactate dehydrogenase release, Neutral Red inclusion). Use of the cannabinoid receptor (CBR) antagonists SR141716A and SR144528, as well as HEK293T cells, which do not express CBRs, confirmed the involvement of these receptors in SCB-mediated mitochondrial membrane hyperpolarization but not on other events, suggesting an off-target action regulating SCB-induced kidney cell death. Our results further strengthen the relevance of the endocannabinoid system in maintaining mitochondrial function in kidney cells, as we demonstrate that HK-2 incubation with CBR antagonists

SCB (AB-FUBINACA, JWH-122, および THJ-2201) の *in vitro* 腎毒性を評価し、それらに関する潜在的な類似性および/または差異を確認しました腎毒性サイン。試験した 3 つの SCB のうち 2 つ、すなわち JWH-122 および THJ-2201 は、*in vivo* 関連濃度 (1nM~1 $\mu$ M) で、主にミトコンドリア機能の調節解除に関与する共有メカニズムを介してアポトーシス細胞死経路を誘発したことを示した (すなわち、ミトコンドリア膜の過分極と細胞内 ATP レベルの増加)、腎毒性メカニズムの主要な分子特性として。注目すべきは、SCB が細胞の生存率に影響を与えなかったことです (MTT の低下、乳酸脱水素酵素の放出、ニュートラルレッドの包含)。カンナビノイド受容体 (CBR) 拮抗薬 SR141716A および SR144528 の使用、および CBR を発現しない HEK293T 細胞は、SCB を介したミトコンドリア膜の過分極にこれらの受容体に関与していることを確認しましたが、標的外作用は示唆していません SCB 誘発腎細胞死の調節。エンドカンナビノイド生合成の CBR 拮抗薬または阻害剤 (すなわち、メチルアラキドニルフルオロホスホネート、テトラヒドロリプスタチン) 単独で HK-2 インキュベーションがそれらに類似した有害な効果をもたらすことを実証するため、腎臓細胞のミトコンドリア機能の維持におけるエンドカンナビノイドシステムの関連性をさらに強化します現在、SCB について報告されています。全体として、SCB 誘発腎毒性は主にミトコンドリアレベルで規制されているようですが、関与する特定のメカニズムにはさらに明確化する必要があります。



# Google translation/AETC trial

|   |  |
|---|--|
| or inhibitors of endocannabinoid biosynthesis (ie, methyl arachidonyl fluorophosphonate, tetrahydrolipstatin) alone produced deleterious effects similar to those now reported for SCBs. Overall, SCB-induced nephrotoxicity seems to be mainly regulated at the mitochondrial level, but the specific mechanisms involved require further clarification. |  |
|---|--|

## USING MICROELECTRODE ARRAYS TO STUDY CHEMICAL EFFECTS IN CORTICAL NEURON NETWORKS

### Evaluation of Chemical Effects on Network Formation in Cortical Neurons Grown on Microelectrode Arrays

Timothy J Shafer; Jasmine P Brown; Brittany Lynch; Sylmarie Davila-Montero; Kathleen Wallace ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 436–455,

| Original   | Google translation  |
|--|---|
| Thousands of chemicals to which humans are potentially exposed have not been evaluated for potential developmental neurotoxicity (DNT), driving efforts to develop a battery of <i>in vitro</i> screening approaches for DNT hazard. Here, 136 unique chemicals were evaluated for potential DNT hazard using a network formation assay (NFA) in cortical cells grown on microelectrode arrays. The effects of chemical exposure from 2 h postplating through 12 days <i>in vitro</i> (DIV) on network formation were evaluated at DIV 5, 7, 9, and 12, with cell viability assessed at DIV 12. Only 82 chemicals altered at least 1 network | ヒトが暴露される可能性のある数千の化学物質は、潜在的な発達神経毒性（DNT）について評価されておらず、DNTの危険性に対する一連の <i>in vitro</i> スクリーニングアプローチを開発する努力を推進しています。ここでは、微小電極アレイで成長した皮質細胞でネットワーク形成アッセイ（NFA）を使用して、潜在的なDNTハザードについて136のユニークな化学物質を評価しました。ネットワーク形成に対する2時間のめっき後から12日間の <i>in vitro</i> （DIV）までの化学物質曝露の影響をDIV 5、7、9、および12で評価し、細胞生存率をDIV 12で評価しました。パラメータ。アッセイ結果は再現性がありました。生物学的複製としてテストされた10の化学物質は、一貫した効 |

# Google translation/AETC trial

|  |  |
|--|--|
| development parameter. Assay results were reproducible; 10 chemicals tested as biological replicates yielded qualitative results that were 100% concordant, with consistent potency values. Toxicological tipping points were determined for 58 chemicals and were similar to or lower than the lowest 50% effect concentrations (EC <sub>50</sub> ) for all parameters. When EC <sub>50</sub> and tipping point values from the NFA were compared to the range of potencies observed in ToxCast assays, the NFA EC <sub>50</sub> values were less than the lower quartile for ToxCast assay potencies for a subset of chemicals, many of which are acutely neurotoxic <i>in vivo</i> . For 13 chemicals with available <i>in vivo</i> DNT data, estimated administered equivalent doses based on NFA results were similar to or lower than administered doses <i>in vivo</i> . Collectively, these results indicate that the NFA is sensitive to chemicals acting on nervous system function and will be a valuable contribution to an <i>in vitro</i> DNT screening battery. | 力値で 100%一致した定性的な結果をもたらしました。毒性の転換点は 58 の化学物質について決定され、すべてのパラメーターの最低 50%の影響濃度 (EC50) と同等かそれよりも低かった。NFA の EC50 および転換点の値を ToxCast アッセイで観察された効力の範囲と比較すると、NFA EC50 値は、化学物質のサブセットの ToxCast アッセイ効力の下位四分位よりも小さく、その多くは <i>in vivo</i> で急性神経毒性です。入手可能な <i>in vivo</i> DNT データを含む 13 の化学物質について、NFA の結果に基づいて推定投与等価用量は、 <i>in vivo</i> での投与用量と同等かそれよりも低かった。まとめると、これらの結果は、NFA が神経系機能に作用する化学物質に敏感であり、 <i>in vitro</i> DNT スクリーニングバッテリーに貴重な貢献をすることを示しています。 |
|--|--|

## CELLULAR PROLIFERATION BY AAOT IN RAT URINARY BLADDER CANCER

Acetoaceto-*o*-Toluidide Enhances Cellular Proliferative Activity in the Urinary Bladder of Rats

Takahiro Okuno; Min Gi; Masaki Fujioka; Nao Yukimatu; Anna Kakehashi ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 456–464,

| Original                                       | Google translation                |
|--|-----------------------------------|
| Acetoaceto- <i>o</i> -toluidide (AAOT) is made | アセトアセト- <i>o</i> -トルイジド (AAOT) は、 |

# Google translation/AETC trial

from *ortho*-toluidine (OTD) and is used for the synthesis of pigments. A report of occupational urinary bladder carcinomas in Japanese workers chronically exposed to OTD and AAOT has recently been published. OTD is a well-known human urinary bladder carcinogen; however, little is known about the toxicity and the carcinogenicity of AAOT. The aim of the present study is to evaluate the toxic effects of AAOT on urinary bladder epithelium. *In vitro*, the cytotoxicities of AAOT and OTD were evaluated in rat (MYP3) and human (1T1) urothelial cells. The LC<sub>50</sub> of AAOT was higher than that of OTD in both MYP cells and 1T1 cells. *In vivo*, 6-week-old male and female F344 rats were fed diets supplemented with 0%, 1.5%, or 3% AAOT for 4 weeks. Incidences of simple hyperplasia, cell proliferative activity, and  $\gamma$ -H2AX expression, which is a novel marker for the prediction of carcinogenicity, were significantly increased in a dose-dependent manner in the bladder urothelium of male and female rats administered AAOT. Furthermore, in male and female rats administered AAOT, the major urine metabolite of AAOT was OTD. These results demonstrate that AAOT has proliferation-enhancing activity and suggest that OTD metabolized from AAOT may play a pivotal role in the deleterious effects of AAOT in rats. The results of the present study also indicate

オルト-トルイジン (OTD) から作られ、顔料の合成に使用されます。 OTD および AAOT に慢性的に暴露した日本人労働者の職業性膀胱癌の報告が最近発表されました。 OTD はよく知られているヒト膀胱発がん物質です。しかし、AAOT の毒性と発がん性についてはほとんど知られていない。本研究の目的は、膀胱上皮に対する AAOT の毒性効果を評価することです。 *In vitro* で、AAOT および OTD の細胞毒性をラット (MYP3) およびヒト (1T1) 尿路上皮細胞で評価しました。 AYP の LC<sub>50</sub> は、MYP 細胞および 1T1 細胞の両方で OTD のそれよりも高かった。生体内では、6 週齢のオスとメスの F344 ラットに、4 週間、0%、1.5%、または 3% AAOT を添加した飼料を与えました。単純過形成、細胞増殖活性、および発がん性の予測の新規マーカーである  $\gamma$ -H2AX 発現の発生率は、AAOT を投与した雄および雌ラットの膀胱尿路上皮において用量依存的に有意に増加した。さらに、AAOT を投与したオスとメスのラットでは、AAOT の主要な尿代謝物は OTD でした。これらの結果は、AAOT が増殖促進活性を有し、AAOT から代謝された OTD がラットにおける AAOT の有害な影響に極めて重要な役割を果たす可能性があることを示唆しています。本研究の結果はまた、AAOT は他の発がん性芳香族アミンと同様、ヒト膀胱発がん物質である可能性が高いことを示しています。

# Google translation/AEIC trial

|   |  |
|---|--|
| that AAOT, like other carcinogenic aromatic amines, is likely to be a human bladder carcinogen. |  |
|---|--|

## ACH'ASE REACTIVATORS AND REDUCED HIPPOCAMPAL OP TOXICITY

Novel Brain-Penetrating Oxime Acetylcholinesterase Reactivators Attenuate Organophosphate-Induced Neuropathology in the Rat Hippocampus

Mary B Dail; Charles A Leach; Edward C Meek; Alicia K Olivier; Ronald B Pringle ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 465–474,

| Original  | Google translation  |
|---|---|
| Organophosphate (OP) anticholinesterases cause excess acetylcholine leading to seizures which, if prolonged, result in neuronal damage in the rodent brain. Novel substituted phenoxyalkyl pyridinium oximes have previously shown evidence of penetrating the rat blood-brain barrier (BBB) in <i>in vivo</i> tests with a sarin surrogate (nitrophenyl isopropyl methylphosphonate, NIMP) or the active metabolite of the insecticide parathion, paraoxon (PXN), by reducing the time to cessation of seizure-like behaviors and accumulation of glial fibrillary acidic protein, whereas 2-PAM did not. The neuroprotective ability of our lead oximes (15, 20, and 55) was tested using NeuN, Nissl, and Fluoro-Jade B staining in the rat hippocampus. Following lethal-level subcutaneous challenge with NIMP or PXN, rats were intramuscularly administered a novel oxime or 2-PAM plus atropine and euthanized at 4 days. | 有機リン（OP）抗コリンエステラーゼは、過剰なアセチルコリンを引き起こし、発作を引き起こします。発作が長引くと、げっ歯類の脳に神経損傷が生じます。新規置換フェノキシアルキルピリジニウムオキシムは、サリン代用物（ニトロフェニルイソプロピルメチルホスホネート、NIMP）または殺虫剤パラチオンの活性代謝物、パラオキソン（PXN）による <i>in vivo</i> テストでラット血液脳関門（BBB）に侵入する証拠を以前に示しました発作様行動の停止とグリア線維性酸性タンパク質の蓄積までの時間を短縮しましたが、2-PAM はそうではありませんでした。ラットオキシム（15、20、および 55）の神経保護能力は、ラット海馬での NeuN、Nissl、および Fluoro-Jade B 染色を使用してテストされました。NIMP または PXN による致死レベルの皮下攻撃に続いて、ラットに新規オキシムまたは 2-PAM とアトロピンを筋肉内投与し、4 日後に安楽死させました。コントロールと比較して、NeuN 染色 NIMP、NIMP / 2-PAM、および NIMP / Oxime 15 グループの損傷スコアの中央値に統計的に有意な増加がありました |

# Google translation/AEC trial

|  |   |
|--|---|
| <p>There were statistically significant increases in the median damage scores of the NeuN-stained NIMP, NIMP/2-PAM, and NIMP/Oxime 15 groups compared with the control whereas the scores of the NIMP/Oxime 20 and NIMP/Oxime 55 were not significantly different from the control. The same pattern of statistical significance was observed with PXN. Nissl staining provided a similar pattern, but without statistical differences. Fluoro-Jade B indicated neuroprotection from PXN with novel oximes but not with 2-PAM. The longer blood residence times of Oximes 20 and 55 compared with Oxime 15 might have contributed to their greater efficacy. These results suggest that novel oximes 20 and 55 were able to penetrate the BBB and attenuate neuronal damage after NIMP and PXN exposure, indicating potential broad-spectrum usefulness.</p> | <p>が、NIMP / Oxime 20 および NIMP / Oxime 55 のスコアは有意ではありませんでした。コントロールとは異なります。PXN でも同じパターンの統計的有意性が観察されました。ニッスル染色は同様のパターンを提供しましたが、統計的な違いはありませんでした。Fluoro-Jade B は、2-PAM ではなく、新規オキシムによる PXN からの神経保護を示しました。Oxime 15 と比較して Oximes 20 および 55 のより長い血液滞留時間は、それらのより大きな有効性に貢献したかもしれません。これらの結果は、新規オキシム 20 および 55 が BBB に浸透し、NIMP および PXN 曝露後に神経損傷を減衰させることができたことを示唆しており、潜在的な広域スペクトルの有用性を示しています。</p> |
|--|---|

## TBBPA, ABC, AND BBB

### [Tetrabromobisphenol A \(TBBPA\) Alters ABC Transport at the Blood-Brain Barrier](#)

Ronald E Cannon; Andrew W Trexler; Gabriel A Knudsen; Rebecca A Evans; Linda S Birnbaum

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 475–484,

| Original  | Google translation  |
|---|---|
| <p>Tetrabromobisphenol A (TBBPA, CAS No. 79-94-7) is a brominated flame retardant used in 90% of epoxy coated circuit boards. Exposures to TBBPA can induce neurotoxicity and disrupt MAPK,</p> | <p>テトラブロモビスフェノール A (TBBPA、CAS No. 79-94-7) は、エポキシ被覆回路基板の 90% で使用される臭素化難燃剤です。TBBPA への曝露は、神経毒性を誘発し、MAPK、エストロゲン、甲状腺、および PPAR</p> |



# Google translation/AETC trial

estrogen, thyroid, and PPAR-associated signaling pathways. Because these pathways also regulate transporters of the central nervous system barriers, we sought to determine the effect of TBBPA on the expression and activity of 3 ATP binding cassette (ABC) transporters of the blood-brain barrier (BBB). Using a confocal based assay, we measured the *ex vivo* and *in vivo* effects of TBBPA on P-glycoprotein (P-gp), breast cancer resistant protein (BCRP), and multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) transport activity in rat brain capillaries. Our rationale for using a rat model was based on tissue availability, ease of handling, and availability of historical TBBPA toxicokinetic data. We found that TBBPA (1–1000 nM) exposure had no significant effect on multidrug resistance-associated protein 2 transport activity in either sex, suggesting TBBPA does not compromise the physical integrity of the BBB. However, low concentrations of TBBPA (1–100 nM) significantly decreased breast cancer resistant protein transport activity in both sexes. Additionally, TBBPA exposures (1–100 nM), elicited a sex-dependent response in P-gp transport: increasing transport activity in males and decreasing transport activity in females. All TBBPA dependent changes in transport activity were dose- and time-dependent. Inhibitors of either transcription or translation abolished the

関連のシグナル伝達経路を混乱させる可能性があります。これらの経路は中枢神経系障壁の輸送体も調節するため、血液脳関門 (BBB) の 3 ATP 結合カセット (ABC) 輸送体の発現と活性に対する TBBPA の効果を調べようと思いました。共焦点ベースのアッセイを使用して、ラット脳の P 糖タンパク質 (P-gp)、乳癌耐性タンパク質 (BCRP)、および多剤耐性関連タンパク質 2 (MRP2) 輸送活性に対する TBBPA の生体外および生体内効果を測定しました毛細血管。ラットモデルを使用する理由は、組織の可用性、取り扱いの容易さ、および歴史的な TBBPA 毒物動態データの可用性に基づいていました。TBBPA (1~1000 nM) 暴露は、両性の多剤耐性関連タンパク質 2 輸送活性に有意な影響を及ぼさず、TBBPA が BBB の物理的完全性を損なわないことを示唆しました。ただし、低濃度の TBBPA (1~100 nM) は、両性の乳癌耐性タンパク質輸送活性を有意に低下させました。さらに、TBBPA 暴露 (1~100 nM) は、P-gp 輸送における性依存反応を誘発しました：男性の輸送活性の増加と女性の輸送活性の減少。輸送活動における TBBPA 依存の変化はすべて、用量および時間に依存していました。転写または翻訳の阻害剤は、男性 P-gp 輸送活性の TBBPA 依存性の増加を廃止しました。ウェスタンブロットおよび免疫蛍光アッセイにより、TBBPA 依存性 P-gp が男性で発現を増加させ、女性で減少することが確認されました。PPAR- $\gamma$  に拮抗すると、男性の TBBPA 依存性の増加はなくなりましたが、女性の減少はなくなりました。しかし、雌の P-gp 輸送の減少は ER- $\alpha$  アンタゴニストによってブロックされました。この研究は、



# Google translation/AETC trial

|  |  |
|--|--|
| <p>TBBPA dependent increases in male P-gp transport activity. Western blot and immunofluorescent assays confirmed the TBBPA dependent P-gp increases expression in males and decreases in females. Antagonizing PPAR-<math>\gamma</math> abolished the TBBPA dependent increases in males but not the decreases in females. However, the decreases in female P-gp transport were blocked by an ER-<math>\alpha</math> antagonist. This work indicates that environmentally relevant concentrations of TBBPA (1–100 nM) alter ABC transporter function at the BBB. Moreover, permeability changes in the BBB can alter brain homeostasis, hinder central nervous system drug delivery, and increase the brain's exposure to harmful xenobiotic toxicants.</p> | <p>環境的に適切な濃度の TBBPA (1~100 nM) が BBB の ABC トランスポーター機能を変化させることを示しています。さらに、BBB の透過性の変化は脳の恒常性を変化させ、中枢神経系の薬物送達を妨げ、有害な生体異物毒性物質への脳の曝露を増加させる可能性があります。</p> |
|--|--|

## Nrf2 REDUCES FIBROSIS AND ENHANCES REGENERATION IN LIVER

### Nrf2 Ameliorates DDC-Induced Sclerosing Cholangitis and Biliary Fibrosis and Improves the Regenerative Capacity of the Liver

Athanassios Fragoulis; Julia Schenkel; Miriam Herzog; Tim Schellenberg; Holger Jahr ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 485–498,

| Original   | Google translation  |
|--|---|
| <p>The Nrf2 pathway protects against oxidative stress and induces regeneration of various tissues. Here, we investigated whether Nrf2 protects from sclerosing cholangitis and biliary fibrosis and simultaneously induces liver regeneration. Diet containing</p> | <p>Nrf2 経路は酸化ストレスから保護し、さまざまな組織の再生を誘導します。ここでは、Nrf2 が硬化性胆管炎および胆道線維症から保護し、同時に肝臓再生を誘導するかどうかを調査しました。 3,5-ジエトキシカルボニル-1,4-ジヒドロコリジン (DDC) を含む食事を、Nrf2-KO マウス (Nrf2<sup>-/-</sup>)、肝臓特</p> |

# Google translation/ AETC trial

|  |   |
|--|---|
| <p>3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine (DDC) was fed to Nrf2-KO mice (Nrf2<sup>-/-</sup>), mice with liver-specific hyperactivated Nrf2 (HKeap1<sup>-/-</sup>) and wild-type (WT) littermates to induce cholangitis, liver fibrosis, and oval cell expansion. HKeap1<sup>-/-</sup> mice were protected from almost all DDC-induced injury compared with WT and Nrf2<sup>-/-</sup>. Liver injury in Nrf2<sup>-/-</sup> and WT mice was mostly similar, albeit Nrf2<sup>-/-</sup> suffered more from DDC diet as seen for several parameters. Nrf2 activity was especially important for the expression of the hepatic efflux transporters Abcg2 and Abcc2-4, which are involved in hepatic toxin elimination. Surprisingly, cell proliferation was more enhanced in Nrf2<sup>-/-</sup> and HKeap1<sup>-/-</sup> mice compared with WT. Interestingly, Nrf2<sup>-/-</sup> mice failed to sufficiently activate oval cell expansion after DDC treatment and showed almost no resident oval cell population under control conditions. The resident oval cell population of untreated HKeap1<sup>-/-</sup> mice was increased and DDC treatment resulted in a stronger oval cell expansion compared with WT. We provide evidence that Nrf2 activation protects from DDC-induced sclerosing cholangitis and biliary fibrosis. Moreover, our data establish a possible role of Nrf2 in oval cell expansion.</p> | <p>異的過剰活性化 Nrf2 (HKeap1<sup>-/-</sup>) および野生型 (WT) のマウスに与えました胆管炎、肝線維症、および卵形細胞の拡大を誘発する同腹子。 HKeap1<sup>-/-</sup> マウスは、WT および Nrf2<sup>-/-</sup> と比較して、ほとんどすべての DDC 誘発損傷から保護されていました。 Nrf2<sup>-/-</sup> および WT マウスの肝臓損傷は、いくつかのパラメーターで見られるように、Nrf2<sup>-/-</sup> が DDC 食により多く苦しんでいたにもかかわらず、ほとんど同じでした。 Nrf2 活性は、肝毒素排出に関与する肝流出トランスポーター Abcg2 および Abcc2-4 の発現に特に重要でした。驚くべきことに、WT と比較して、Nrf2<sup>-/-</sup> および HKeap1<sup>-/-</sup> マウスでは細胞増殖がより促進された。興味深いことに、Nrf2<sup>-/-</sup> マウスは、DDC 治療後の卵形細胞の増殖を十分に活性化することができず、制御条件下で卵形細胞の存在はほとんど見られませんでした。未処理の HKeap1<sup>-/-</sup> マウスの常在性卵形細胞集団は増加し、DDC 治療は WT と比較してより強い卵形細胞の拡大をもたらした。Nrf2 の活性化が DDC 誘発性硬化性胆管炎および胆道線維症から保護するという証拠を提供します。さらに、我々のデータは、卵形細胞の拡大における Nrf2 の可能な役割を確立しています。</p> |
|--|---|

## SEX EFFECTS IN OZONE-MEDIATED AIRWAY DYSFUNCTION

### Sex Modifies Acute Ozone-Mediated Airway Physiologic Responses

Anastasiya Birukova; Jaime Cyphert-Daly; Robert Ian Cumming; Yen-Rei Yu;

# Google translation/AEIC trial

Kymberly M Gowdy ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 499–510,

| Original  | Google translation  |
|---|---|
| Sex differences clearly exist in incidence, susceptibility, and severity of airway disease and in pulmonary responses to air pollutants such as ozone (O <sub>3</sub> ). Prior rodent O <sub>3</sub> exposure studies demonstrate sex-related differences in the expression of lung inflammatory mediators and signaling. However, whether or not sex modifies O <sub>3</sub> -induced airway physiologic responses remains less explored. To address this, we exposed 8- to 10-week-old male and female C57BL/6 mice to either 1 or 2 ppm O <sub>3</sub> or filtered air (FA) for 3 h. At 12, 24, 48, and 72 h following exposure, we assessed airway hyperresponsiveness to methacholine (MCh), bronchoalveolar lavage fluid cellularity, cytokines and total protein/albumin, serum progesterone, and whole lung immune cells by flow cytometry. Male mice generated consistent airway hyperresponsiveness to MCh at all time points following exposure. Alternatively, females had less consistent airway physiologic responses to MCh, which were more variable between individual experiments and did not correlate with serum progesterone levels. Bronchoalveolar lavage fluid total cells peaked at 12 h and were persistently elevated through 72 h. At 48 h, | 性差は、気道疾患の発生率、感受性、重症度、およびオゾン (O <sub>3</sub> ) などの大気汚染物質に対する肺の反応に明らかに存在します。以前のげっ歯類の O <sub>3</sub> 暴露研究は、肺炎炎症性メディエーターとシグナル伝達の発現における性関連の違いを示しています。ただし、性別が O <sub>3</sub> 誘発気道の生理学的反応を変更するかどうかについては、あまり研究されていません。これに対処するため、8~10 週齢のオスとメスの C57BL/6 マウスを 1 または 2ppm O <sub>3</sub> またはろ過空気 (FA) に 3 時間暴露しました。暴露後 12、24、48、72 時間で、メタコリン (MCh)、気管支肺胞洗浄液の細胞性、サイトカインと総タンパク質/アルブミン、血清プロゲステロン、および全肺免疫細胞に対する気道過敏性をフローサイトメトリーで評価しました。雄マウスは、暴露後のすべての時点で、MCh に対して一貫した気道過敏性を示した。あるいは、女性は MCh に対する一貫性のない気道生理学的反応を示したが、これは個々の実験間でよりばらつきがあり、血清プロゲステロンレベルと関連しなかった。気管支肺胞洗浄液の総細胞数は 12 時間でピークに達し、72 時間まで持続的に上昇しました。48 時間で、気管支肺胞洗浄細胞は男性よりも女性の方が大きかった。気管支肺胞洗浄液のサイトカインおよび総タンパク質/アルブミンは、性差のない O <sub>3</sub> 暴露後に増加しました。肺組織全体のフローサイトメトリーにより、性別に依存しない |

# Google translation/AEC trial

|   |  |
|---|--|
| bronchoalveolar lavage cells were greater in females versus males. Bronchoalveolar lavage fluid cytokines and total protein/albumin increased following O <sub>3</sub> exposure without sex differences. Flow cytometry of whole lung tissue identified dynamic O <sub>3</sub> -induced immune cell changes also independent of sex. Our results indicate sex differences in acute O <sub>3</sub> -induced airway physiology responses and airspace influx without significant difference in other injury and inflammation measures. This study highlights the importance of considering sex as a biological variable in acute O <sub>3</sub> -induced airway physiology responses. | 動的な O <sub>3</sub> 誘導免疫細胞の変化が確認されました。私たちの結果は、他の傷害や炎症の測定に有意な差のない急性 O <sub>3</sub> 誘発気道生理反応と空域流入の性差を示しています。この研究は、急性 O <sub>3</sub> 誘発気道生理学的反応における生物学的変数として性別を考慮することの重要性を強調しています。 |
|---|--|

## DELTAMETHRIN AND COGNITIVE FUNCTION IN RATS

### [Deltamethrin Exposure Daily From Postnatal Day 3–20 in Sprague-Dawley Rats Causes Long-term Cognitive and Behavioral Deficits](#)

Emily M Pitzer; Chiho Sugimoto; Gary A Gudelsky; Courtney L Huff Adams; Michael T Williams ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 511–523,

| Original   | Google translation   |
|--|--|
| Pyrethroids are synthetic insecticides that act acutely on voltage gated sodium channels to prolong channel opening and depolarization. Epidemiological studies find that exposure to pyrethroids are associated with neurological and developmental abnormalities in children. The long-term effects of type II pyrethroids, such as deltamethrin (DLM), on development have received | ピレスロイドは合成の殺虫剤であり、電位依存性ナトリウムチャンネルに急激に作用して、チャンネルの開口と脱分極を延長します。疫学研究により、ピレスロイドへの曝露は、小児の神経学的および発達異常と関連していることがわかりました。デルタメトリン（DLM）などの II 型ピレスロイドの開発への長期的な影響はほとんど注目されていません。 <b>Sprague-Dawley</b> ラットを、スプリットリターデザインで、生後 3 日目（P）3 |

# Google translation/ AENC trial

|  |  |
|--|--|
| <p>little attention. We exposed Sprague-Dawley rats to DLM by gavage at doses of 0, 0.25, 0.5, and 1.0 mg/kg/day from postnatal day (P) 3–20 in a split-litter design. Following behavioral testing as adults, monoamine levels, release, and mRNA were assessed via high performance liquid chromatography, microdialysis, and qPCR, respectively. Long-term potentiation (LTP) was assessed at P25–35. Developmental DLM exposure resulted in deficits in allocentric and egocentric learning and memory, increased startle reactivity, reduced conditioned contextual freezing, and attenuated MK-801 induced hyperactivity compared with controls. Startle and egocentric learning were preferentially affected in males. Deltamethrin-treated rats exhibited increased CA1 hippocampal LTP, decreased extracellular dopamine release by microdialysis, reduced dopamine D1 receptor mRNA expression in neostriatum, and decreased norepinephrine levels in the hippocampus. The data indicate that neonatal DLM exposure has adverse long-term effects on learning, memory, startle, glutamatergic function, LTP, and norepinephrine.</p> | <p>～20 から 0、0.25、0.5、1.0 mg / kg / 日の用量で強制経口投与により DLM に暴露しました。成人としての行動試験に続いて、高速液体クロマトグラフィー、微量透析、および qPCR により、モノアミンレベル、放出、および mRNA をそれぞれ評価しました。長期増強 (LTP) は P25-35 で評価されました。発達の DLM 暴露は、同心および自己中心の学習と記憶の欠損、驚 le 反応性の増加、条件付き文脈凍結の減少、およびコントロールと比較した MK-801 誘発多動性の減少をもたらしました。驚 Start とエゴセントリック学習は、男性で優先的に影響を受けました。デルタメトリン投与ラットは、CA1 海馬 LTP の増加、微小透析による細胞外ドーパミン放出の減少、新線条体におけるドーパミン D1 受容体 mRNA 発現の減少、海馬におけるノルエピネフリンレベルの減少を示しました。データは、新生児の DLM 暴露が学習、記憶、驚 le、グルタミン酸作動性機能、LTP、およびノルエピネフリンに有害な長期的な影響を与えることを示しています。</p> |
|--|--|

## NANOMATERIAL INHALATION AND KISSPEPTIN REACTIVITY

Maternal Engineered Nanomaterial Inhalation During Gestation Disrupts Vascular Kisspeptin Reactivity

Elizabeth C Bowdridge; Alaeddin B Abukabda; Kevin J Engles; Carroll R McBride;



# Google translation/AETC trial

Thomas P Batchelor ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 524–533,

| Original   | Google translation  |
|--|---|
| <p>Maternal engineered nanomaterial (ENM) inhalation is associated with uterine vascular impairments and endocrine disruption that may lead to altered gestational outcomes. We have shown that nano-titanium dioxide (nano-TiO<sub>2</sub>) inhalation impairs endothelium-dependent uterine arteriolar dilation in pregnant rats. However, the mechanism underlying this dysfunction is unknown. Due to its role as a potent vasoconstrictor and essential reproductive hormone, we examined how kisspeptin is involved in nano-TiO<sub>2</sub>-induced vascular dysfunction and placental efficiency. Pregnant Sprague Dawley rats were exposed (gestational day [GD] 10) to nano-TiO<sub>2</sub> aerosols (cumulative dose = 525 ± 16 µg; n = 8) or sham exposed (n = 6) and sacrificed on GD 20. Plasma was collected to evaluate estrogen (E<sub>2</sub>), progesterone (P4), prolactin (PRL), corticosterone (CORT), and kisspeptin. Pup and placental weights were measured to calculate placental efficiency (grams fetus/gram placental). Additionally, pressure myography was used to determine uterine artery vascular reactivity. Contractile responses were assessed via cumulative additions of</p> | <p>母体工学的ナノマテリアル (ENM) 吸入は、子宮の血管障害と内分泌かく乱に関連しており、妊娠結果の変化につながる可能性があります。ナノ二酸化チタン (ナノ TiO<sub>2</sub>) 吸入が妊娠ラットの内皮依存性子宮細動脈拡張を損なうことを示しています。ただし、この機能不全の根底にあるメカニズムは不明です。強力な血管収縮剤および必須の生殖ホルモンとしての役割のため、キスペプチンがナノ TiO<sub>2</sub> 誘発血管機能障害および胎盤効率にどのように関与しているかを調べました。妊娠中の Sprague Dawley ラットをナノ TiO<sub>2</sub> エアロゾル (累積用量 = 525 ± 16 µg; n = 8) に暴露 (妊娠日 [GD] 10) または偽暴露 (n = 6) し、GD 20 で屠殺した。エストロゲン (E<sub>2</sub>)、プロゲステロン (P4)、プロラクチン (PRL)、コルチコステロン (CORT)、およびキスペプチンを評価します。胎盤効率 (胎仔グラム/胎盤グラム) を計算するために、子犬と胎盤の重量を測定しました。さらに、子宮筋血管反応性を決定するために圧力ミオグラフィが使用されました。収縮反応は、キスペプチンの累積添加 (1 × 10<sup>-9</sup> から 1 × 10<sup>-4</sup> M) によって評価されました。P4、PRL、CORT、またはキスペプチンに差はなかったのに対し、エストロゲンは暴露群 (11.08 ± ± 3 pg / ml) と偽対照ラット (66.97 ± ± 3 pg / ml) の GD 20 で減少しました。胎盤重量は暴露群 (0.99 ± ± 0.03 g) と偽対照ラット (0.70 ± ± 0.04 g) で増加したのに対し、子犬の</p> |



# Google translation/AETC trial

|  |   |
|--|---|
| <p>kisspeptin (<math>1 \times 10^{-9}</math> to <math>1 \times 10^{-4}</math> M). Estrogen was decreased at GD 20 in exposed (<math>11.08 \pm 3</math> pg/ml) versus sham-control rats (<math>66.97 \pm 3</math> pg/ml), whereas there were no differences in P4, PRL, CORT, or kisspeptin. Placental weights were increased in exposed (<math>0.99 \pm 0.03</math> g) versus sham-control rats (<math>0.70 \pm 0.04</math> g), whereas pup weights (<math>4.01 \pm 0.47</math> g vs <math>4.15 \pm 0.15</math> g) and placental efficiency (<math>4.5 \pm 0.2</math> vs <math>6.4 \pm 0.5</math>) were decreased in exposed rats. Maternal ENM inhalation exposure augmented uterine artery vasoconstrictor responses to kisspeptin (<math>91.2\% \pm 2.0</math> vs <math>98.6\% \pm 0.10</math>). These studies represent initial evidence that pulmonary maternal ENM exposure perturbs the normal gestational endocrine vascular axis via a kisspeptin-dependent mechanism, and decreased placental, which may adversely affect health outcomes.</p> | <p>体重 (<math>4.01 \pm 0.47</math> g 対 <math>4.15 \pm 0.15</math> g) および胎盤効率 (<math>4.5 \pm 0.2</math> 対 <math>6.4 \pm 0.5</math>) 暴露ラットで減少した。母体の ENM 吸入暴露は、キスペプチンに対する子宮動脈血管収縮反応を増強した (<math>91.2\% \pm 2.0</math> 対 <math>98.6\% \pm 0.10</math>)。これらの研究は、肺の母体 ENM 暴露がキスペプチン依存性メカニズムを介して正常な妊娠内分泌血管軸を混乱させ、胎盤を減少させ、健康転帰に悪影響を与える可能性があるという最初の証拠を表しています。</p> |
|--|---|

## DIACETYL AND AIRWAY EPITHELIAL CELL FUNCTION

### EGFR-Dependent IL8 Production by Airway Epithelial Cells After Exposure to the Food Flavoring Chemical 2,3-Butanedione

Francine L Kelly; Kaitlyn E Weinberg; Andrew E Nagler; Andrew B Nixon; Mark D Star ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 534–542,

| Original   | Google translation  |
|--|---|
| 2,3-Butanedione (DA), a component of artificial butter flavoring, is associated with the development of occupational bronchiolitis obliterans (BO), a disease of | 人工バター香料の成分である 2,3-ブタンジオン (DA) は、肺機能低下を引き起こす進行性気道線維症の疾患である職業性細気管支炎 (BO) の発症に関連しています。好中 |

# Google translation/AEC trial

progressive airway fibrosis resulting in lung function decline. Neutrophilic airway inflammation is a consistent feature of BO across a range of clinical contexts and may contribute to disease pathogenesis. Therefore, we sought to determine the importance of the neutrophil chemotactic cytokine interleukin-8 (IL-8) in DA-induced lung disease using *in vivo* and *in vitro* model systems. First, we demonstrated that levels of Cinc-1, the rat homolog of IL-8, are increased in the lung fluid and tissue compartment in a rat model of DA-induced BO. Next, we demonstrated that DA increased IL-8 production by the pulmonary epithelial cell line NCI-H292 and by primary human airway epithelial cells grown under physiologically relevant conditions at an air-liquid interface. We then tested the hypothesis that DA-induced epithelial IL-8 protein occurs in an epidermal growth factor receptor (EGFR)-dependent manner. In these *in vitro* experiments we demonstrated that epithelial IL-8 protein is blocked by the EGFR tyrosine kinase inhibitor AG1478 and by inhibition of tumor necrosis factor- $\alpha$  converting enzyme using the small molecule inhibitor, TAPI-1. Finally, we demonstrated that DA-induced IL-8 is dependent upon ERK1/2 and Mitogen activated protein kinase kinase activation downstream of EGFR signaling using the small molecule

球性気道炎症は、さまざまな臨床的状況にわたって BO の一貫した特徴であり、疾患の病因に寄与する可能性があります。したがって、我々は *in vivo* および *in vitro* モデルシステムを使用して DA 誘発肺疾患における好中球走化性サイトカインインターロイキン 8 (IL-8) の重要性を決定しようとしてしました。最初に、IL-8 のラットホモログである Cinc-1 のレベルが、DA 誘発 BO のラットモデルの肺液および組織コンパートメントで増加することを実証しました。次に、肺上皮細胞株 NCI-H292 および気液界面で生理学的に関連する条件下で成長した初代ヒト気道上皮細胞により、DA が IL-8 産生を増加させることを実証しました。次に、DA 誘導上皮 IL-8 タンパク質が上皮成長因子受容体 (EGFR) 依存的に発生するという仮説を検証しました。これらの *in vitro* 実験で、上皮 IL-8 タンパク質が EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 AG1478 と、小分子阻害剤 TAPI-1 を使用した腫瘍壊死因子  $\alpha$  変換酵素の阻害によりブロックされることを実証しました。最後に、DA によって誘導される IL-8 は ERK1 / 2 とマイトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼ活性化に依存することを小分子阻害剤 AG1478 および PD98059 を使用して EGFR シグナル伝達の下流で実証しました。一緒にこれらの新しい *in vivo* および *in vitro* 観察は、EGFR 依存 IL-8 生産が DA 誘発 BO で発生することをサポートします。BO の病因における IL-8 の重要性を判断するには、さらなる研究が必要です。

# Google translation/AETC trial

|   |  |
|---|--|
| inhibitors AG1478 and PD98059.<br>Together these novel <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> observations support that EGFR-dependent IL-8 production occurs in DA-induced BO. Further studies are warranted to determine the importance of IL-8 in BO pathogenesis. |  |
|---|--|

## SIMVASTATIN, CALCIUM CHANNELS, AND MITOCHONDRIA

### Simvastatin Inhibits L-Type $\text{Ca}^{2+}$ -Channel Activity Through Impairment of Mitochondrial Function

Liam Curry; Hani Almukhtar; Jala Alahmed; Richard Roberts; Paul A Smith

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 543–552,

| Original   | Google translation  |
|--|---|
| Plasma membrane ion channels and mitochondrial electron transport complexes (mETC) are recognized “off targets” for certain drugs. Simvastatin is one such drug, a lipophilic statin used to treat hypercholesterolemia, but which is also associated with adverse effects like myopathy and increased risk of glucose intolerance. Such myopathy is thought to arise through adverse actions of simvastatin on skeletal muscle mETC and mitochondrial respiration. In this study, we investigated whether the glucose intolerance associated with simvastatin is also mediated via adverse effects on mETC in pancreatic beta-cells because mitochondrial respiration underlies insulin secretion from these cells, an effect in part mediated by promotion of $\text{Ca}^{2+}$ influx via opening of | 原形質膜イオンチャネルとミトコンドリア電子伝達複合体（mETC）は、特定の薬物の「標的外」と認識されています。シンバスタチンはそのような薬物の1つであり、高コレステロール血症の治療に使用される親油性スタチンですが、ミオパシーや耐糖能異常のリスクの増加などの悪影響も伴います。このようなミオパシーは、骨格筋 mETC およびミトコンドリア呼吸に対するシンバスタチンの有害作用によって生じると考えられています。本研究では、ミトコンドリア呼吸がこれらの細胞からのインスリン分泌の基礎となるため、シンバスタチンに関連する耐糖能異常が膵臓ベータ細胞の mETC への悪影響を介して媒介されるかどうかを調査しました。これは、電圧の開放を介した $\text{Ca}^{2+}$ 流入の促進によって媒介される効果です-gated $\text{Ca}^{2+}$ +チャネル (VGCC)。これらのアイデアを調査するために、マウス膵臓ベータ細胞を使用しまし |

# Google translation/ AETC trial

|  |  |
|--|--|
| <p>voltage-gated <math>\text{Ca}^{2+}</math> channels (VGCCs). We used murine pancreatic beta-cells to investigate these ideas. Mitochondrial membrane potential, oxygen consumption, and ATP-sensitive-<math>\text{K}^{+}</math>-channel activity were monitored as markers of mETC activity, respiration, and cellular ATP/ADP ratio respectively; <math>\text{Ca}^{2+}</math> channel activity and <math>\text{Ca}^{2+}</math> influx were also measured. In intact beta-cells, simvastatin inhibited oxidative respiration (<math>\text{IC}_{50}</math> approximately <math>3 \mu\text{M}</math>) and mETC (<math>1 &lt; \text{IC}_{50} &lt; 10 \mu\text{M}</math>), effects expected to impair VGCC opening. Consistent with this idea simvastatin <math>&gt; 0.1 \mu\text{M}</math> reversed activation of VGCCs by glucose but had no significant effect in the sugar's absence. The VGCC effects were mimicked by rotenone which also decreased respiration and ATP/ADP. This study demonstrates modulation of beta-cell VGCC activity by mitochondrial respiration and their sensitivity to mETC inhibitors. This reveals a novel outcome for the action of drugs like simvastatin for which mETC is an "off target".</p> | <p>た。ミトコンドリア膜電位、酸素消費、および ATP 感受性 <math>\text{K}^{+}</math>チャネル活性は、それぞれ mETC 活性、呼吸、および細胞 ATP / ADP 比のマーカーとして監視されました。 <math>\text{Ca}^{2+}</math>チャネル活性と <math>\text{Ca}^{2+}</math>流入も測定されました。無傷のベータ細胞では、シンバスタチンは酸化的呼吸 (<math>\text{IC}_{50}</math> 約 <math>3 \mu\text{M}</math>) および mETC (<math>1 &lt; \text{IC}_{50} &lt; 10 \mu\text{M}</math>) を阻害し、VGCC の開口を損なうと予想されました。この考えと一致して、シンバスタチン <math>&gt; 0.1 \mu\text{M}</math> は、グルコースによる VGCC の活性化を逆転させましたが、糖の不在下では有意な効果はありませんでした。VGCC 効果は、呼吸と ATP / ADP を減少させるロテノンによって模倣されました。この研究は、ミトコンドリア呼吸によるベータ細胞 VGCC 活性の変調と、mETC 阻害剤に対する感受性を示しています。これは、mETC が「オフターゲット」であるシンバスタチンのような薬物の作用の新しい結果を明らかにしています。</p> |
|--|--|

## HIGH-THROUGHPUT TRANSCRIPTOMICS AND CHEMICAL-INDUCED LIVER INJURY

[The Power of Resolution: Contextualized Understanding of Biological Responses to Liver Injury Chemicals Using High-throughput Transcriptomics and Benchmark Concentration Modeling](#)

Sreenivasa C Ramaiahgari; Scott S Auerbach; Trey O Saddler; Julie R Rice; Paul E Dunlap ...

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 553–566,

# Google translation/AETC trial

| Original   | Google translation  |
|--|---|
| <p>Prediction of human response to chemical exposures is a major challenge in both pharmaceutical and toxicological research. Transcriptomics has been a powerful tool to explore chemical-biological interactions, however, limited throughput, high-costs, and complexity of transcriptomic interpretations have yielded numerous studies lacking sufficient experimental context for predictive application. To address these challenges, we have utilized a novel high-throughput transcriptomics (HTT) platform, TempO-Seq, to apply the interpretive power of concentration-response modeling with exposures to 24 reference compounds in both differentiated and non-differentiated human HepaRG cell cultures. Our goals were to (1) explore transcriptomic characteristics distinguishing liver injury compounds, (2) assess impacts of differentiation state of HepaRG cells on baseline and compound-induced responses (eg, metabolically-activated), and (3) identify and resolve reference biological-response pathways through benchmark concentration (BMC) modeling. Study data revealed the predictive utility of this approach to identify human liver injury compounds by their respective BMCs in relation to human internal exposure plasma concentrations, and effectively</p> | <p>化学物質への暴露に対する人間の反応の予測は、製薬研究と毒物学研究の両方で大きな課題です。トランスクリプトミクスは、化学生物学的相互作用を探索するための強力なツールですが、限られたスループット、高コスト、トランスクリプトーム解釈の複雑さにより、予測アプリケーションに十分な実験的コンテキストを欠く多くの研究が生み出されています。これらの課題に対処するために、私たちは新規のハイスループットトランスクリプトミクス (HTT) プラットフォーム、TempO-Seq を利用して、分化および非分化ヒト HepaRG 細胞培養の 24 種類の参照化合物への暴露による濃度応答モデリングの解釈力を適用しました。私たちの目標は、(1) 肝障害化合物を区別するトランスクリプトーム特性を探索すること、(2) ベースラインおよび化合物誘発応答 (例: 代謝活性化) に対する HepaRG 細胞の分化状態の影響を評価すること、および (3) 参照生物を特定および解決することでした-ベンチマーク濃度 (BMC) モデリングによる応答経路。研究データは、ヒトの内部被ばく血漿濃度に関連するそれぞれの BMC によりヒト肝障害化合物を同定するこのアプローチの予測的有用性を明らかにし、ヒト肝障害のさまざまな関連性を持つ効果的に区別された薬物類似体 (例: 治療薬トロバフロキサシンとトログリタゾンの中止)。細胞分化状態 (増殖 vs 分化) の影響は、ベースラインの薬物代謝酵素発現、肝受容体シグナル伝達、および代謝活性化毒性物質 (シクロホスファミド、ベンゾ (a) ピレン、およびアフラトキシン B1) に対す</p> |

# Google translation/ AETC trial

|   |  |
|---|--|
| distinguished drug analogs with varied associations of human liver injury (eg, withdrawn therapeutics trovafloxacin and troglitazone). Impacts of cellular differentiation state (proliferated vs differentiated) were revealed on baseline drug metabolizing enzyme expression, hepatic receptor signaling, and responsiveness to metabolically-activated toxicants (eg, cyclophosphamide, benzo(a)pyrene, and aflatoxin B1). Finally, concentration-response modeling enabled efficient identification and resolution of plausibly-relevant biological-response pathways through their respective pathway-level BMCs. Taken together, these findings revealed HTT paired with differentiated <i>in vitro</i> liver models as an effective tool to model, explore, and interpret toxicological and pharmacological interactions. | る反応性で明らかになりました。最後に、濃度反応モデリングにより、それぞれの経路レベル <b>BMC</b> を介してもっともらしい関連性のある生体反応経路の効率的な識別と解決が可能になりました。総合すると、これらの発見は、毒性および薬理的相互作用をモデル化、探索、および解釈するための効果的なツールとして、分化した <i>in vitro</i> 肝臓モデルと組み合わせた <b>HTT</b> を明らかにした。 |
|---|--|

## CALCIUM STORAGE AND DFP-BASED TOXICITY

### Targeting Intracellular Calcium Stores Alleviates Neurological Morbidities in a DFP-Based Rat Model of Gulf War Illness

Kristin F Phillips; Edna Santos; Robert E Blair; Laxmikant S Deshpande

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 567–578,

| Original  | Google translation   |
|---|--|
| Gulf War Illness (GWI) is a chronic multi-symptom disorder afflicting the veterans of the First Gulf War, and includes neurological symptoms characterized by depression and memory deficits. Chronic exposure to | 湾岸戦争の病気（GWI）は、第一次湾岸戦争の退役軍人を苦しめている慢性の多症候性障害であり、うつ病と記憶障害を特徴とする神経症状を含んでいます。有機リン（OP）への慢性暴露は <b>GWI</b> の主な原因と考えられていますが、その病理生物学は完 |



# Google translation/AEIC trial

organophosphates (OPs) is considered a leading cause for GWI, yet its pathobiology is not fully understood. We recently observed chronic elevations in neuronal  $\text{Ca}^{2+}$  levels ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) in an OP-diisopropyl fluorophosphate (DFP)-based rat model for GWI. This study was aimed at identifying mechanisms underlying elevated  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in this DFP model and investigating whether their therapeutic targeting could improve GWI-like neurological morbidities. Male Sprague-Dawley rats (9 weeks) were exposed to DFP (0.5 mg/kg, s.c., 1 $\times$ -daily for 5 days) and at 3 months postDFP exposure, behavior was assessed and rats were euthanized for protein estimations and ratiometric Fura-2  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  estimations in acutely dissociated hippocampal neurons. In DFP rats, a sustained elevation in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  levels occurred, and pharmacological blockade of  $\text{Ca}^{2+}$ -induced  $\text{Ca}^{2+}$ -release mechanisms significantly lowered elevated  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in DFP neurons. Significant reductions in the protein levels of the ryanodine receptor (RyR) stabilizing protein Calstabin2 were also noted. Such a posttranslational modification would render RyR "leaky" resulting in sustained DFP  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  elevations. Antagonism of RyR with levetiracetam significantly lower elevated  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in DFP neurons and improved GWI-like behavioral symptoms. Since  $\text{Ca}^{2+}$  is a major second messenger

全には理解されていません。最近、GWI の OP-ジイソプロピルフルオロホスフェート (DFP) ベースのラットモデルで、ニューロンの  $\text{Ca}^{2+}$  レベル ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) の慢性的な上昇が観察されました。この研究は、この DFP モデルにおける  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の上昇の根底にあるメカニズムを特定し、それらの治療的ターゲティングが GWI のような神経疾患を改善できるかどうかを調査することを目的としました。雄の Sprague-Dawley ラット (9 週間) を DFP (0.5 mg / kg、皮下注射、1 日に 1 回、5 日間) に曝露し、DFP 曝露後 3 ヶ月で行動を評価し、タンパク質推定およびレシオメトリックフラのためにラットを安楽死させました。2  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は、急性解離した海馬ニューロンで推定されます。 DFP ラットでは、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  レベルの持続的な上昇が発生し、 $\text{Ca}^{2+}$  誘発  $\text{Ca}^{2+}$  放出メカニズムの薬理的遮断により、DFP ニューロンの上昇  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  が大幅に低下しました。タンパク質 Calstabin2 を安定化するリアノジン受容体 (RyR) のタンパク質レベルの大幅な低下も認められました。このような翻訳後修飾により、RyR が「漏れやすく」なり、DFP  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の上昇が持続します。RyR とレベチラセタムの拮抗作用は、DFP ニューロンの上昇した  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  を有意に低下させ、GWI のような行動症状を改善しました。  $\text{Ca}^{2+}$  は主要なセカンドメッセンジャー分子であるため、そのようなレベルの慢性的な増加は、GWI の罹患率として現れる病理学的シナプス可塑性の根底にある可能性があります。私たちの研究は、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  放出の遮断を標的とした薬物による治療が、GWI の神経学的病的状態の効果的な治療法となりうるこ

# Google translation/AETC trial

|  |           |
|--|-----------|
| molecule, such chronic increases in its levels could underlie pathological synaptic plasticity that expresses itself as GWI morbidities. Our studies show that treatment with drugs targeted at blocking intracellular $\text{Ca}^{2+}$ release could be effective therapies for GWI neurological morbidities. | とを示しています。 |
|--|-----------|

## ORGANIC DUST AND NEUROINFLAMMATION

### HMGB1-RAGE Signaling Plays a Role in Organic Dust-Induced Microglial Activation and Neuroinflammation

Nyzil Massey; Sreekanth Puttachary; Sanjana Mahadev Bhat; Anumantha G Kanthasamy; Chandrashekhara Charavaryamath

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 579–592,

| Original   | Google translation   |
|--|--|
| Occupational exposure to contaminants in agriculture and other industries is known to cause significant respiratory ailments. The effect of organic dust on lung inflammation and tissue remodeling has been actively investigated over many years but the adverse effect of organic dust-exposure on the central vital organ brain is beginning to emerge. Brain microglial cells are a major driver of neuroinflammation upon exposure to danger signals. Therefore, we tested a hypothesis that organic dust-exposure of microglial cells induces microglial cell activation and inflammation through HMGB1-RAGE signaling. Mouse microglial cells were exposed to organic dust extract showed a time-dependent | 農業およびその他の産業における汚染物質への職業的曝露は、重大な呼吸器疾患を引き起こすことが知られています。肺の炎症と組織のリモデリングに対する有機ダストの影響は長年にわたって活発に研究されてきましたが、有機性ダスト曝露が中枢の重要な臓器の脳に及ぼす悪影響が現れ始めています。脳ミクログリア細胞は、危険信号にさらされると神経炎症を引き起こす主要因です。したがって、我々はミクログリア細胞の有機ダスト曝露が HMGB1-RAGE シグナル伝達を介してミクログリア細胞の活性化と炎症を誘発するという仮説をテストしました。マウスのミクログリア細胞を有機ダスト抽出物に曝露すると、核からの高移動度グルーボックス 1 (HMGB1) の細胞質転座の時間依存的な増加、最終糖化最終産物 (RAGE) の受容体の発現の増加、 |

# Google translation/AEC trial

increase in cytoplasmic translocation of high-mobility group box 1 (HMGB1) from the nucleus, increased expression of receptor for advanced glycation end products (RAGE) and activation of Iba1 as compared to control cells. Organic dust also induced reactive oxygen species generation, NF- $\kappa$ B activation, and proinflammatory cytokine release. To establish a functional relevance of HMGB1-RAGE activation in microglia-mediated neuroinflammation, we used both pharmacological and genetic approaches involving HMGB1 translocation inhibitor ethyl pyruvate (EP), anti-HMGB1 siRNA, and NOX-inhibitor mitoapocynin. Interestingly, EP effectively reduced HMGB1 nucleocytoplasmic translocation and RAGE expression along with reactive oxygen species (ROS) generation and TNF- $\alpha$  and IL-6 production but not NF- $\kappa$ B activation. HMGB1 knockdown by siRNA also reduced both ROS and reactive nitrogen species (RNS) and IL-6 levels but not TNF- $\alpha$ . NOX2 inhibitor mitoapocynin significantly reduced RNS levels. Collectively, our results demonstrate that organic dust activates HMGB1-RAGE signaling axis to induce a neuroinflammatory response in microglia and that attenuation of HMGB1-RAGE activation by EP and mitoapocynin treatments or genetic knockdown can dampen the neuroinflammation.

および Iba1 の活性化が示されましたセルを制御します。有機ダストは、活性酸素種の生成、NF- $\kappa$ B の活性化、炎症性サイトカインの放出も誘発しました。ミクログリアを介した神経炎症における HMGB1-RAGE 活性化の機能的関連性を確立するために、HMGB1 転座阻害剤ピルビン酸エチル (EP)、抗 HMGB1 siRNA、および NOX 阻害剤ミトアポシニンを含む薬理学的および遺伝的アプローチの両方を使用しました。興味深いことに、EP は HMGB1 核細胞質転座と RAGE 発現を活性酸素種 (ROS) の生成と TNF- $\alpha$  および IL-6 の産生とともに効果的に減少させましたが、NF- $\kappa$ B の活性化は減少しませんでした。siRNA による HMGB1 ノックダウンも ROS と反応性窒素種 (RNS) と IL-6 レベルの両方を減少させたが、TNF- $\alpha$  は減少しなかった。NOX2 阻害剤ミトアポシニンは、RNS レベルを大幅に低下させました。総称して、我々の結果は、有機ダストが HMGB1-RAGE シグナル伝達軸を活性化してミクログリアの神経炎症反応を誘発し、EP およびミトアポシニン治療または遺伝子ノックダウンによる HMGB1-RAGE 活性化の減衰が神経炎症を弱めることができることを示しています。

# Google translation/AETC trial

## DIELDRIN EXPOSURE AND DOPAMINE GENE DNA METHYLATION

Developmental Dieldrin Exposure Alters DNA Methylation at Genes Related to Dopaminergic Neuron Development and Parkinson's Disease in Mouse Midbrain

Joseph Kochmanski; Sarah E VanOeveren; Joseph R Patterson; Alison I Bernstein

Toxicol. Sci. (Jun. 2019) 169 (2) : 593–607,

| Original   | Google translation  |
|--|---|
| Human and animal studies have shown that exposure to the organochlorine pesticide dieldrin is associated with increased risk of Parkinson's disease (PD). Despite previous work showing a link between developmental dieldrin exposure and increased neuronal susceptibility to MPTP toxicity in male C57BL/6 mice, the mechanism mediating this effect has not been identified. Here, we tested the hypothesis that developmental exposure to dieldrin increases neuronal susceptibility via genome-wide changes in DNA methylation. Starting at 8 weeks of age and prior to mating, female C57BL/6 mice were exposed to 0.3 mg/kg dieldrin by feeding (every 3 days) throughout breeding, gestation, and lactation. At 12 weeks of age, pups were sacrificed and ventral mesencephalon, containing primarily substantia nigra, was microdissected. DNA was isolated and dieldrin-related changes in DNA methylation were assessed via reduced representation bisulfite sequencing. We identified significant, sex-specific differentially methylated CpGs (DMCs) | 人間と動物の研究によると、有機塩素系農薬ディルドリンへの曝露は、パーキンソン病（PD）のリスク増加と関連していることが示されています。発達中のディルドリン曝露と、雄の C57BL/6 マウスにおける MPTP 毒性に対するニューロン感受性の増加との関連性を示す以前の研究にもかかわらず、この効果を媒介するメカニズムは特定されていません。ここでは、ディルドリンへの発達の曝露が DNA メチル化のゲノム全体の変化を介して神経細胞の感受性を高めるという仮説をテストしました。8 週齢から交配前に、雌の C57BL/6 マウスを、繁殖、妊娠、および授乳期全体（3 日ごと）に摂食することにより、0.3 $\mu$ mg/ kg ディルドリンに曝露しました。12 週齢で、仔を犠牲にし、主に黒質を含む腹側中脳を顕微解剖した。DNA を分離し、ディルドリンに関連する DNA メチル化の変化を、バイサルファイトシーケンスの縮小表示により評価しました。ドーパミン作動性ニューロンの発達と維持に関与する Nr4a2 および Lmx1b 遺伝子の DMC を含む、発達中のディルドリン曝露（偽発見率<0.05）により、重要な性特異的な特異的メチル化 CpG（DMC）および領域（DMR）を特定しました。ディルドリンの発達の曝露は、男性および女性のエピゲノムに明確な影響を及ぼ |

# Google translation/AETC trial

and regions (DMRs) by developmental dieldrin exposure (false discovery rate  $< 0.05$ ), including DMCs at the *Nr4a2* and *Lmx1b* genes, which are involved in dopaminergic neuron development and maintenance. Developmental dieldrin exposure had distinct effects on the male and female epigenome. Together, our data suggest that developmental dieldrin exposure establishes sex-specific poised epigenetic states early in life. These poised epigenomes may mediate sensitivity to subsequent toxic stimuli and contribute to the development of late-life neurodegenerative disease, including PD.

しました。一緒に、我々のデータは、発達中のディルドリンへの暴露が人生の早い段階で性特異的な安定したエピジェネティックな状態を確立することを示唆しています。これらの安定したエピゲノムは、その後の毒性刺激に対する感受性を媒介し、PDを含む後期神経変性疾患の発症に寄与する可能性があります。