

ToxPoint

## [WeBrain Barrier Systems Play No Small Roles in Toxicant-induced Brain Disorders](#)

i Zheng, Jean-Francois Gherzi-Egea

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 147–148,

Original	Google translation
Cerebral chemical stability, which underlies normal human thinking, learning, and behavior, is strictly regulated by brain barrier systems that separate the blood circulation from brain extracellular fluids. The blood-brain barrier (BBB), whose structural basis is capillary endothelial cells sealed by tight junctions, disconnects the blood from cerebral interstitial fluid. The BBB is central to the neurovascular unit which includes pericytes and astrocyte end-feet and allows regional coupling of blood supply with neuronal activity. The epithelial cells of choroid plexuses are also sealed by tight junctions, but separate blood from the ventricular cerebrospinal fluid (CSF), constituting the blood-CSF barrier. Much more than physical barriers, these cellular...	人間の通常の思考、学習、行動の根底にある脳の化学的安定性は、血液循環を脳の細胞外液から分離する脳関門システムによって厳密に制御されています。血液脳関門（BBB）は、その構造的基礎が密着結合によって密封された毛細血管内皮細胞であり、血液を脳間質液から切り離します。BBB は、周皮細胞と星状細胞エンドフットを含む神経血管ユニットの中心であり、血液供給とニューロン活動の局所的な結合を可能にします。脈絡叢の上皮細胞もタイトジャンクションによって密封されていますが、血液は脳室脳脊髄液（CSF）から分離されており、血液-CSF バリアを構成しています。物理的な障壁よりもはるかに、これらの細胞...

Contemporary Review

## [Obesity as a Source of Endogenous Compounds Associated With Chronic Disease: A Review](#)

Carr J Smith, Thomas A Perfetti, A Wallace Hayes, Sir Colin Berry

# Google Translation / AETC Trial

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 149–155,

Original	Google translation
<p>In 2014, it was estimated that more than 1.9 billion adults were overweight with over 600 million classifiable as obese. Approximately two-thirds of U.S. adults over 20 years of age are currently overweight with about 35% classified as obese, a figure thought likely to reach 42% by 2030 in those over 18 years of age. Adipose cells from stored body fat secrete estrogen and a very large number (&gt; 500) of biologically active substances termed adipokines, in addition to inducing, by other cell-driven effects, pathological alterations in insulin pathways. The U.S. National Cancer Institute reports that exposure to the hormone disrupting and proinflammatory effects of excess adipose tissue are associated with an increased risk for 11 different cancers. Obesity is also associated with a number of serious non-neoplastic conditions including metabolic syndrome and type 2 diabetes; menstrual cycle irregularities and lowered fertility (men and women); and abnormal bone morphology in a subset of female patients. In men hypogonadism, low testosterone levels, benign prostatic hyperplasia, and lowered sperm counts have been reported. In developed countries, the endogenous adverse health burden associated with obesity is only matched, quantitatively and</p>	<p>2014 年には、19 億人以上の成人が太りすぎで、6 億人以上が肥満と分類されたと推定されました。20 歳以上の米国成人の約 3 分の 2 は現在太りすぎであり、約 35% が肥満として分類されており、18 歳以上の人では 2030 年までに 42% に達する可能性が高いと考えられています。貯蔵された体脂肪からの脂肪細胞は、エストロゲンとアディポカインと呼ばれる非常に多くの生物活性物質 (&gt; 500) を分泌し、他の細胞主導の効果により、インスリン経路の病的変化を誘発します。米国国立癌研究所は、過剰な脂肪組織のホルモン破壊および炎症誘発性作用への曝露が 11 の異なる癌のリスク増加と関連していると報告しています。肥満は、メタボリックシンドロームや 2 型糖尿病など、いくつかの深刻な非腫瘍性状態にも関連しています。月経周期の不規則性と生殖能力の低下 (男性と女性) ;そして、女性患者のサブセットにおける異常な骨形態。男性の性腺機能低下症では、テストステロン値の低下、前立腺肥大症、精子数の低下が報告されています。先進国では、肥満に関連する内因性の健康への悪影響は、量的および質的に、喫煙の外因性毒性によってのみ一致します。化学物質のホルモンおよび/または炎症誘発性の影響の可能性の調査には、肥満に関連した内分泌の重大な変化の評価が含まれるべきです。</p>

# Google Translation / AERC Trial

qualitatively, by the exogenous toxicity of cigarette smoking. The investigation of possible hormonal and/or proinflammatory effects of chemicals should include an assessment of the profound endocrine alterations associated with obesity.	
---	--

## [Accounting for Multiple Comparisons in Statistical Analysis of the Extensive Bioassay Data on Glyphosate](#)

Kenny Crump, Edmund Crouch, Daniel Zelterman, Casey Crump, Joseph Haseman

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 156–167,

Original	Google translation
Glyphosate is a widely used herbicide worldwide. In 2015, the International Agency for Research on Cancer (IARC) reviewed glyphosate cancer bioassays and human studies and declared that the evidence for carcinogenicity of glyphosate is sufficient in experimental animals. We analyzed 10 glyphosate rodent bioassays, including those in which IARC found evidence of carcinogenicity, using a multiresponse permutation procedure that adjusts for the large number of tumors eligible for statistical testing and provides valid false-positive probabilities. The test statistics for these permutation tests are functions of $p$ values from a standard test for dose-response trend applied to each specific type of tumor. We evaluated 3 permutation tests, using as test statistics the smallest $p$ value from a	グリホサートは世界中で広く使用されている除草剤です。2015年、国際がん研究機関（IARC）は、グリホサートががんのバイオアッセイと人間の研究をレビューし、グリホサートの発がん性の証拠は実験動物で十分であると宣言しました。IARCが発がん性の証拠を発見したものを含む、10個のグリホサートげっ歯類バイオアッセイを、統計的試験に適格な多数の腫瘍を調整し、有効な偽陽性確率を提供する多応答順列手順を使用して分析しました。これらの順列検定の検定統計量は、各特定のタイプの腫瘍に適用される用量反応傾向の標準検定の $p$ 値の関数です。テスト統計として、用量反応傾向の標準統計検定からの最小の $p$ 値と、 $p$ 値が.05 または.01 以下のそのような検定の数を使用して、3つの順列検定を評価しました。これらの3つの順列テストの2つの実装から得られる偽陽性の確率は次のとおりです。最小の $p$ 値：.26、.17。 $p$

# Google Translation / AERC Trial

<p>standard statistical test for dose-response trend and the number of such tests for which the <math>p</math> value is less than or equal to .05 or .01. The false-positive probabilities obtained from 2 implementations of these 3 permutation tests are: smallest <math>p</math> value: .26, .17; <math>p</math> values <math>\leq .05</math>: .08, .12; and <math>p</math> values <math>\leq .01</math>: .06, .08. In addition, we found more evidence for negative dose-response trends than positive. Thus, we found no strong evidence that glyphosate is an animal carcinogen. The main cause for the discrepancy between IARC's finding and ours appears to be that IARC did not account for the large number of tumor responses analyzed and the increased likelihood that several of these would show statistical significance simply by chance. This work provides a more comprehensive analysis of the animal carcinogenicity data for this important herbicide than previously available.</p>	<p>値<math>\leq .05</math>: .08、.12;および <math>p</math> 値<math>\leq .01</math>: .06、.08。さらに、我々は陽性よりも陰性の用量反応傾向のより多くの証拠を見出した。したがって、グリホサートが動物の発がん性物質であるという強力な証拠は見つかりませんでした。IARC の調査結果と私たちの調査結果の不一致の主な原因は、IARC が分析された多数の腫瘍反応を考慮していないことと、これらのいくつかが偶然に統計的有意性を示す可能性が高まったことです。この研究は、この重要な除草剤の動物発がん性データの、以前に利用可能であったよりも包括的な分析を提供します。</p>
--	---

## Clinical and Translational Toxicology

### [Late Protective Effect of Netrin-1 in the Murine Acetaminophen Hepatotoxicity Model](#)

Luqi Duan, Benjamin L Woolbright, Hartmut Jaeschke, Anup Ramachandran

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 168–181,

Original	Google translation
Acetaminophen (APAP) overdose-induced acute liver failure is an important clinical problem in the United States and the	アセトアミノフェン (APAP) 過剰摂取によって誘発された急性肝不全は、米国における重要な臨床問題であり、現在の解毒剤 N-

# Google Translation / AETC Trial

current antidote *N*-acetylcysteine, has a short early therapeutic window. Since most patients present late to the clinic, there is need for novel late-acting therapeutic options. Though the neuronal guidance cue netrin-1, has been shown to promote hepatic repair and regeneration during liver ischemia/reperfusion injury, its effect in APAP-induced hepatotoxicity is unknown. In the quest for a late-acting therapeutic intervention in APAP-induced liver injury, we examined the role of netrin-1 in a mouse model of APAP overdose. Male C57BL/6J mice were cotreated with exogenous netrin-1 or vehicle control, along with 300 mg/kg APAP and euthanized at 6, 12, and 24 h. Significant elevations in alanine aminotransferase indicative of liver injury were seen in control mice at 6 h and this was not affected by netrin-1 administration. Also, netrin-1 treatment did not influence mitochondrial translocation of phospho-JNK, or peroxynitrite formation indicating that there was no interference with APAP-induced injury processes. Interestingly however, netrin-1 administration attenuated liver injury at 24 h, as seen by alanine aminotransferase levels and histology, at which time significant elevations in the netrin-1 receptor, adenosine A2B receptor (A2BAR) as well as macrophage infiltration was evident. Removal of resident macrophages with clodronate

アセチルシステインは、初期の治療期間が短いです。ほとんどの患者は診療所に遅く到着するので、新しい遅効性治療オプションが必要です。ニューロンのガイダンスの手がかりであるネトリン-1は、肝臓の虚血/再灌流障害時に肝の修復と再生を促進することが示されていますが、APAP誘発肝毒性におけるその効果は不明です。APAP誘発肝障害における後期治療的介入の探求で、APAP過剰摂取のマウスモデルにおけるネトリン1の役割を検討しました。雄のC57BL/6Jマウスは、300 netmg / kg APAPとともに外因性ネトリン1またはビヒクルコントロールで同時処理され、6、12、および24時間で安楽死されました。肝障害を示すアラニンアミノトランスフェラーゼの有意な上昇が6時間後にコントロールマウスで見られ、これはネトリン1投与の影響を受けませんでした。また、ネトリン1処理は、ホスホJNKのミトコンドリア移行、またはAPAP誘発損傷プロセスへの干渉がなかったことを示すペルオキシ亜硝酸形成に影響を与えませんでした。興味深いことに、しかし、ネトリン1の投与は、アラニンアミノトランスフェラーゼのレベルと組織学で見られるように、24時間後に肝障害を軽減しました。クロドロネートリポソームによる常在マクロファージの除去またはA2BAR拮抗薬PSB1115による治療は、ネトリン1の保護効果をブロックしました。したがって、我々のデータは、A2BARを介して存在し、常駐肝マクロファージが関与する回復と再生を強化することにより、APAP肝毒性の減衰におけるネトリン1のこれまで認識されていなかった役割を示しています。

# Google Translation / AETC Trial

liposomes or treatment with the A2BAR antagonist PSB1115 blocked the protective effects of netrin-1. Thus, our data indicate a previously unrecognized role for netrin-1 in attenuation of APAP hepatotoxicity by enhancing recovery and regeneration, which is mediated through the A2BAR and involves resident liver macrophages.

## Developmental and Reproductive Toxicology

### [Combined Maternal Exposure to Cypermethrin and Stress Affect Embryonic Brain and Placental Outcomes in Mice](#)

Benjamin A Elser, Khaled Kayali, Ram Dhakal, Bailey O'Hare, Kai Wang ...

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 182–196,

Original	Google translation
Prenatal exposure to cypermethrin is a risk factor for adverse neurodevelopmental outcomes in children. In addition, maternal psychological stress during pregnancy has significant effects on fetal neurodevelopment and may influence end-stage toxicity to offspring by altering maternal xenobiotic metabolism. As such, this study examined effects of maternal exposure to alpha-cypermethrin and stress, alone and in combination, on offspring development, with a focus on fetal neurotoxicity. CD1 mouse dams were administered 10 mg/kg alpha-cypermethrin or corn oil vehicle via oral gavage from embryonic day 11 (E11) to E14. In addition, dams from each	出生前のシペルメトリンへの曝露は、子供の神経発達上の有害な転帰の危険因子です。さらに、妊娠中の母親の心理的ストレスは、胎児の神経発達に大きな影響を与え、母親の異物代謝を変化させることにより、子への末期毒性に影響を与える可能性があります。このように、この研究は、胎児の神経毒性に焦点を当てて、子の発育に及ぼす $\alpha$ -シペルメトリンとストレスへの母親の曝露の影響を、単独でおよび組み合わせて調べた。CD1 マウスの母動物には、胎生 11 日目 (E11) から E14 まで、経口強制飼養を介して 10 mg / kg のアルファ-シペルメトリンまたはトウモロコシ油ビヒクルを投与しました。さらに、各処理からのダムは、E12 から E14 までの拘束応力の標準モデルにさらされました。シペルメトリン治療は、胎児の成長を損ない、胎児の前脳の



# Google Translation / AETC Trial

<p>treatment were subjected to a standard model of restraint stress from E12 to E14. Cypermethrin treatment impaired fetal growth, reduced fetal forebrain volume, and increased ventral forebrain proliferative zone volume, the latter effects driven by combined exposure with stress. Cypermethrin also impaired migration of GABAergic progenitors, with different transcriptional changes alone and in combination with stress. Stress and cypermethrin also interacted in effects on embryonic microglia morphology. In addition, levels of cypermethrin were elevated in the serum of stressed dams, which was accompanied by interacting effects of cypermethrin and stress on hepatic expression of cytochrome P450 enzymes. Levels of cypermethrin in amniotic fluid were below the limit of quantification, suggesting minimal transfer to fetal circulation. Despite this, cypermethrin increased placental malondialdehyde levels and increased placental expression of genes responsive to oxidative stress, effects significantly modified by stress exposure. These findings suggest a role for interaction between maternal exposures to cypermethrin and stress on offspring neurodevelopment, involving indirect mechanisms in the placenta and maternal liver.</p>	<p>容積を減らし、腹側の前脳の増殖帯の容積を増やしました。後者の効果は、ストレスとの複合曝露によって引き起こされました。シペルメトリンはまた、GABA 作動性前駆細胞の遊走を障害し、さまざまな転写変化を単独で、またストレスと組み合わせて変化させました。ストレスとシペルメトリンも胚のミクログリアの形態に影響を与える相互作用しました。さらに、シペルメトリンのレベルは、シトクロム P450 酵素の肝臓での発現に対するシペルメトリンとストレスの相互作用効果を伴う、ストレスを受けたダムの血清で上昇しました。羊水中のシペルメトリンのレベルは定量化の限界を下回り、胎児循環への移行が最小限であることを示唆しています。これにもかかわらず、シペルメトリンは胎盤のマロンジアルデヒドレベルを増加させ、酸化ストレスに応答する遺伝子の胎盤発現を増加させ、効果はストレス曝露によって大幅に変化しました。これらの調査結果は、シペルメトリンへの母親の曝露と、胎盤と母親の肝臓の間接的なメカニズムを含む、子孫の神経発達に対するストレスとの間の相互作用の役割を示唆しています。</p>
---	---

# Google Translation / AETC Trial

## [Follicular Development and Advances Puberty](#)

Adélaïde Allais, Océane Albert, Pavine L C Lefèvre, Michael G Wade, Barbara F Hales ...

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 197–209,

Original	Google translation
<p>Brominated flame retardants (BFRs), including polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane, leach out from consumer products into the environment. Exposure to BFRs has been associated with effects on endocrine homeostasis. To test the hypothesis that <i>in utero</i> and lactational exposure to BFRs may affect the reproductive system of female offspring, adult female Sprague Dawley rats were fed diets formulated to deliver nominal doses (0, 0.06, 20, or 60 mg/kg/day) of a BFR dietary mixture mimicking the relative congener levels in house dust from prior to mating until weaning. Vaginal opening and the day of first estrus occurred at a significantly earlier age among offspring from the 20 mg/kg/day BFR group, indicating that the onset of puberty was advanced. Histological analysis of ovaries from postnatal day 46 offspring revealed an increase in the incidence of abnormal follicles. A toxicogenomic analysis of ovarian gene expression identified upstream regulators, including HIF1A, CREB1, EGF, the <math>\beta</math>-estradiol, and PPARG pathways, predicted to be downregulated in the 20 or 60 mg/kg/day group and to</p>	<p>ポリ臭化ジフェニルエーテルやヘキサブROMシクロドデカンなどの臭素化難燃剤 (BFR) は、消費者製品から環境に浸出します。BFR への暴露は、内分泌ホメオスタシスへの影響と関連しています。子宮内および授乳期の BFR への曝露が雌の子孫の生殖系に影響を与える可能性があるという仮説を検証するために、成体の雌 Sprague Dawley ラットに、公称用量 (0、0.06、20、または 60 mg / kg / 日) 交配前から離乳までのハウスダストの相対同族体レベルを模倣した BFR 食餌混合物。膣の開口部と最初の発情の日は、20 mg / kg / 日の BFR グループの子孫のかなり早い年齢で発生し、思春期の発症が進んでいたことを示しています。生後 46 日目の子孫の卵巣の組織学的分析により、異常な卵胞の発生率の増加が明らかになりました。卵巣遺伝子発現のトキシコゲノミクス分析により、HIF1A、CREB1、EGF、<math>\beta</math>-エストラジオール、PPAR 経路を含む上流のレギュレーターが同定され、20 または 60mg / kg / 日グループでダウンレギュレートされ、遺伝子発現パターンに寄与すると予測されました観察した。したがって、BFR への周産期の暴露は、成人の卵巣機能の基本である卵巣の卵胞形成およびシグナル伝達経路を調節不全にした。</p>



# Google Translation / AETC Trial

contribute to the gene expression patterns observed. Thus, perinatal exposure to BFRs dysregulated ovarian folliculogenesis and signaling pathways that are fundamental for ovarian function in the adult.	
--	--

## [Per- and Polyfluoroalkyl Substances Differentially Inhibit Placental Trophoblast Migration and Invasion \*In Vitro\*](#)

John T Szilagyi, Anastasia N Freedman, Stewart L Kepner, Arjun M Keshava, Jackie T Bangma ...

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 210–219,

Original	Google translation
Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) are used as industrial surfactants and chemical coatings for household goods such as Teflon. Despite regulatory efforts to phase out legacy PFAS, they remain detectable in drinking water throughout the United States. This is due to the stability of legacy PFAS and the continued use of replacement compounds. In humans, PFAS have been detected in placenta and cord blood and are associated with low birth weight and preeclampsia risk. Preeclampsia is a leading cause of maternal mortality and is driven by insufficient endometrial trophoblast invasion, resulting in poor placental blood flow. PFAS alter invasion of other cell types, but their impact on trophoblasts is not understood. We therefore assessed the effects of PFAS on	パーフルオロおよびポリフルオロアルキル物質（PFAS）は、テフロンなどの家庭用品の工業用界面活性剤および化学コーティングとして使用されます。レガシーPFASを段階的に廃止する規制上の取り組みにもかかわらず、それらは米国中の飲料水中で検出されたままです。これは、従来のPFASの安定性と代替化合物の継続的な使用によるものです。人間では、PFASは胎盤と臍帯血で検出されており、低出生体重と子癰前症のリスクに関連付けられています。子癰前症は妊産婦死亡の主な原因であり、不十分な子宮内膜栄養膜浸潤によって引き起こされ、その結果、胎盤血流が低下します。PFASは他の細胞型の浸潤を変更しますが、栄養膜への影響は理解されていません。したがって、PFASが栄養膜の遊走、浸潤、遺伝子発現に及ぼす影響をin vitroで評価しました。栄養膜の遊走と浸潤は、それぞれマトリゲルの非存在下または存在下で、修

# Google Translation / AETC Trial

<p>trophoblast migration, invasion, and gene expression <i>in vitro</i>. Trophoblast migration and invasion were assessed using a modified scratch assay in the absence or presence of Matrigel, respectively. Treatment with perfluorooctanoic sulfate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA), and GenX (1000 ng/ml) each decreased trophoblast migration over 24 h. However, only GenX (1000 ng/ml) significantly inhibited trophoblast invasion. Treatment with PFOS, PFOA, and GenX also decreased trophoblast expression of chemokines (eg, <i>CCL2</i>), chemokine receptors (eg, <i>CCR4</i>), and inflammatory enzymes (eg, <i>ALOX15</i>) involved in migration. Inhibition of chemokine receptors with pertussis toxin (10 ng/ml), a G-protein inhibitor, inhibited trophoblast migration similar to the PFAS. Taken together, PFAS decrease trophoblast migration, invasion, and inflammatory signaling. By understanding the mechanisms involved, it may be possible to identify the biological and exposure factors that contribute to preeclampsia.</p>	<p>正されたスクラッチアッセイを使用して評価されました。ペルフルオロオクタン酸硫酸 (PFOS)、ペルフルオロオクタン酸 (PFOA)、および GenX (1000µng / ml) による処理は、いずれも栄養膜の遊走を 24 時間以上減少させました。ただし、GenX (1000 µ g/ ml) のみが、栄養膜の侵入を有意に抑制しました。PFOS、PFOA、および GenX による治療では、遊走に関与するケモカイン (CCL2 など)、ケモカイン受容体 (CCR4 など)、および炎症酵素 (ALOX15 など) の栄養膜の発現も減少しました。Gタンパク質阻害剤である百日咳毒素 (10 ng / ml) によるケモカイン受容体の阻害は、PFAS と同様に栄養膜の遊走を阻害しました。まとめると、PFAS は、栄養膜の遊走、浸潤、および炎症性シグナル伝達を減少させます。関与するメカニズムを理解することにより、子癇前症の一因となる生物学的および暴露因子を特定することが可能になるかもしれません。</p>
--	---

## Emerging Technologies, Methods, and Models

### [Nitrosative Stress and Lipid Homeostasis as a Mechanism for Zileuton Hepatotoxicity and Resistance in Genetically Sensitive Mice](#)

Dahea You, Lascelles E Lyn-Cook, Jr, Daniel M Gatti, Natalie Bell, Philip R Mayeux ...

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 220–235,

Original	Google translation
----------	--------------------

# Google Translation / AETC Trial

<p>Zileuton is an orally active inhibitor of leukotriene synthesis for maintenance treatment of asthma, for which clinical usage has been associated with idiosyncratic liver injury. Mechanistic understanding of zileuton toxicity is hampered by the rarity of the cases and lack of an animal model. A promising model for mechanistic study of rare liver injury is the Diversity Outbred (J:DO) mouse population, with genetic variation similar to that found in humans. In this study, female DO mice were administered zileuton or vehicle daily for 7 days (<i>i.g.</i>). Serum liver enzymes were elevated in the zileuton group, with marked interindividual variability in response. Zileuton exposure-induced findings in susceptible DO mice included microvesicular fatty change, hepatocellular mitosis, and hepatocellular necrosis. Inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine abundance were increased in livers of animals with necrosis and those with fatty change, implicating nitrosative stress as a possible injury mechanism. Conversely, DO mice lacking adverse liver pathology following zileuton exposure experienced decreased hepatic concentrations of resistin and increased concentrations of insulin and leptin, providing potential clues into mechanisms of toxicity resistance. Transcriptome pathway analysis highlighted mitochondrial dysfunction</p>	<p>ジロイトンは、喘息の維持治療のためのロイコトリエン合成の経口活性阻害剤であり、その臨床使用は特異体質性肝障害に関連している。ジロイトン毒性の機制的理解は、症例の希少性と動物モデルの欠如によって妨げられています。まれな肝障害のメカニズム研究の有望なモデルは、ヒトで見られるのと同様の遺伝的変異を伴う多様性異系交配 (J : DO) マウス集団です。この研究では、メスの DO マウスにジロイトンまたはビヒクルを毎日 7 日間投与しました (<i>i.g.</i>)。血清肝酵素はジロイトン群で上昇し、応答には顕著な個体間変動があった。感受性 DO マウスにおけるジロイトン曝露誘発の所見には、微小胞脂肪変化、肝細胞有糸分裂、および肝細胞壊死が含まれます。誘導性一酸化窒素シンターゼとニトロチロシンの存在量は、壊死のある動物と脂肪変化のある動物の肝臓で増加しており、ニトロソ化ストレスが考えられる損傷メカニズムに関係しているとされています。逆に、ジロイトンへの曝露後に肝臓に有害な病変がない DO マウスでは、肝臓のレジスチン濃度が低下し、インスリンとレプチンの濃度が上昇し、毒性抵抗のメカニズムへの潜在的な手がかりが得られました。トランスクリプトーム経路分析は、ミトコンドリア機能障害と脂肪酸酸化の変化をジロイトン曝露に関連する主要な分子摂動として強調し、チトクローム P450 代謝、グルタチオン媒介解毒、およびファルネソイド X 受容体シグナル伝達の個人差がジロイトン誘発肝障害 (ZILI)。まとめると、DO マウスは、ZILI のコンテキストで毒性と耐性のメカニズムを調査するためのプラットフォームを提供しました。</p>
--	---

# Google Translation / AETC Trial

and altered fatty acid oxidation as key molecular perturbations associated with zileuton exposure, and suggested that interindividual differences in cytochrome P450 metabolism, glutathione-mediated detoxification, and farnesoid X receptor signaling may contribute to zileuton-induced liver injury (ZILI). Taken together, DO mice provided a platform for investigating mechanisms of toxicity and resistance in context of ZILI which may lead to targeted therapeutic interventions.	
---	--

## Endocrine Toxicology

### [Targeted Pathway-based \*In Vivo\* Testing Using Thyroperoxidase Inhibition to Evaluate Plasma Thyroxine as a Surrogate Metric of Metamorphic Success in Model Amphibian \*Xenopus laevis\*](#)

Jonathan T Haselman, Jennifer H Olker, Patricia A Kosian, Joseph J Korte, Joseph A Swintek ...

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 236–250,

Original	Google translation
Chemical safety evaluation is in the midst of a transition from traditional whole-animal toxicity testing to molecular pathway-based <i>in vitro</i> assays and <i>in silico</i> modeling. However, to facilitate the shift in reliance on apical effects for risk assessment to predictive surrogate metrics having characterized linkages to chemical mechanisms of action, targeted <i>in vivo</i> testing is necessary to establish these predictive relationships. In this study, we	化学的安全性評価は、従来の全動物毒性試験から分子経路ベースの <i>in vitro</i> アッセイおよび <i>in silico</i> モデリングへの移行の真っ最中です。ただし、リスク評価の頂端効果への依存の変化を促進するために、作用の化学的メカニズムとの関連を特徴付けた予測代理指標への予測代理メトリックには、これらの予測関係を確立するための対象生体内試験が必要です。この研究では、初期の前変態中に関連する生化学的測定を使用してモデル両生類アフリカツメガエルの甲状腺関連変成の成功を予測する手段を示しま

# Google Translation / AETC Trial

<p>demonstrate a means to predict thyroid-related metamorphic success in the model amphibian <i>Xenopus laevis</i> using relevant biochemical measurements during early prometamorphosis. The adverse outcome pathway for thyroperoxidase inhibition leading to altered amphibian metamorphosis was used to inform a pathway-based <i>in vivo</i> study design that generated response-response relationships. These causal relationships were used to develop Bayesian probabilistic network models that mathematically determine conditional dependencies between biochemical nodes and support the predictive capability of the biochemical profiles. Plasma thyroxine concentrations were the most predictive of metamorphic success with improved predictivity when thyroid gland sodium-iodide symporter gene expression levels (a compensatory response) were used in conjunction with plasma thyroxine as an additional regressor. Although thyroid-mediated amphibian metamorphosis has been studied for decades, this is the first time a predictive relationship has been characterized between plasma thyroxine and metamorphic success. Linking these types of biochemical surrogate metrics to apical outcomes is vital to facilitate the transition to the new paradigm of chemical safety assessments.</p>	<p>す。変化した両生類の変態につながるサイロペルオキシダーゼ阻害の有害転帰経路を使用して、応答-反応関係を生成する経路ベースの <i>in vivo</i> 研究デザインを通知しました。これらの因果関係は、生化学ノード間の条件依存性を数学的に決定し、生化学プロファイルの予測機能をサポートするベイズ確率ネットワークモデルを開発するために使用されました。血漿チロキシン濃度は、甲状腺ヨウ化ナトリウムシンポーター遺伝子発現レベル（代償応答）が血漿チロキシンと一緒に追加のリグレッサーとして使用された場合、改善された予測性で最も変態的成功を予測しました。甲状腺を介した両生類の変態が数十年にわたって研究されてきたが、これは、血漿チロキシンと変態の成功との間の予測関係が特徴付けられたのは初めてです。これらのタイプの生化学代理メトリクスを頂端の結果にリンクすることは、化学的安全性評価の新しいパラダイムへの移行を促進するために不可欠です。</p>
--	--

# Google Translation / AETC Trial

Genetic and Epigenetic Toxicology

## [Development and Application of TK6-derived Cells Expressing Human Cytochrome P450s for Genotoxicity Testing](#)

Xilin Li, Si Chen, Xiaoqing Guo, Qiangen Wu, Ji-Eun Seo ...

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 251–265,

Original	Google translation
<p>Metabolism plays a key role in chemical genotoxicity; however, most mammalian cells used for <i>in vitro</i> genotoxicity testing lack effective metabolizing enzymes. We recently developed a battery of TK6-derived cell lines that individually overexpress 1 of 8 cytochrome P450s (CYP1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, and 3A4) using a lentiviral expression system. The increased expression and metabolic function of each individual CYP in each established cell line were confirmed using real-time PCR, Western blotting, and mass spectrometry analysis; the parental TK6 cells and empty vector (EV) transduced cells had negligible CYP levels. Subsequently, we evaluated these cell lines using 2 prototypical polycyclic aromatic hydrocarbon mutagens, 7,12-dimethylbenz[<i>a</i>]anthracene (DMBA) and benzo[<i>a</i>]pyrene (B[<i>a</i>]P), that require metabolic activation to exert their genotoxicity. DMBA-induced cytotoxicity, phosphorylation of histone H2A.X, and micronucleus formation were significantly increased in TK6 cells with CYP1A1, 1B1, 2B6, and 2C19 expression</p>	<p>代謝は、化学的遺伝毒性において重要な役割を果たします。ただし、<i>in vitro</i> 遺伝毒性試験に使用されるほとんどの哺乳動物細胞には、効果的な代謝酵素が不足しています。最近、レンチウイルス発現システムを使用して、8個のチトクローム P450 (CYP1A1、1A2、1B1、2A6、2B6、2C9、2C19、および 3A4) の1つを個別に過剰発現する一連の TK6 由来細胞株を開発しました。確立された各細胞株における個々の CYP の発現および代謝機能の増加は、リアルタイム PCR、ウェスタンブロッティング、および質量分析を使用して確認されました。親の TK6 細胞と空のベクター (EV) 形質導入細胞の CYP レベルはごくわずかでした。その後、2つのプロトタイプが多環芳香族炭化水素変異原物質、7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン (DMBA) とベンゾ[a]ピレン (B[a]P) を使用してこれらの細胞株を評価しました。DMBA 誘発細胞毒性、ヒストン H2A.X のリン酸化、および小核形成は、EV コントロールと比較して、CYP1A1、1B1、2B6、および 2C19 の発現を伴う TK6 細胞で有意に増加しました。B[a]P は、EV コントロールと比較して、CYP1A1 および 1B1 を過剰発現する TK6 細胞における細胞毒性、DNA 損傷、および染色体損傷を有意に増加させました。B[a]P はまた、</p>



# Google Translation / AETC Trial

as compared with EV controls. B[a]P significantly increased cytotoxicity, DNA damage, and chromosomal damage in TK6 cells overexpressing CYP1A1 and 1B1 when compared with EV controls. B[a]P also induced micronucleus formation in TK6 cells expressing CYP1A2. These results suggest that our CYP-expressing TK6 cell system can be used to detect the genotoxicity of compounds requiring metabolic transformation.	CYP1A2 を発現する TK6 細胞で小核形成を誘導しました。これらの結果は、CYP を発現する TK6 細胞システムを使用して、代謝変換を必要とする化合物の遺伝毒性を検出できることを示唆しています。
---	---

## Immunotoxicology

### [Development of an Improved T-cell Assay to Assess the Intrinsic Immunogenicity of Haptenic Compounds](#)

Monday O Ogese, Joel Watkinson, Adam Lister, Lee Faulkner, Andrew Gibson ...

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 266–278,

Original	Google translation
The prediction of drug hypersensitivity is difficult due to the lack of appropriate models and known risk factors. <i>In vitro</i> naïve T-cell priming assays that assess immunogenicity have been developed. However, their application is limited due requirements for 2 batches of autologous dendritic cells (DC) and inconsistent results; a consequence of single well readouts when exploring reactions where compound-specific T-cell frequency is undefined. Hence, we aimed to develop an improved, but simplified assay, termed the T-cell multiple well assay (T-MWA), that permits assessment of	適切なモデルと既知の危険因子がないため、薬物過敏症の予測は困難です。免疫原性を評価する <i>in vitro</i> ナイーブ T 細胞プライミングアッセイが開発されました。ただし、それらのアプリケーションは、自己樹状細胞 (DC) の 2 つのバッチの要件と一貫性のない結果のために制限されています。化合物固有の T 細胞の頻度が定義されていない反応を探索するときの単一ウェルの読み出しの結果。したがって、私たちは、T 細胞マルチウェルアッセイ (T-MWA) と呼ばれる改善された、しかし単純化されたアッセイを開発することを目的としました。応答する文化の数 DC ナイーブ T 細胞共培養、調節性 T 細胞 (Tregs) の枯渇、モデルハブ

# Google Translation / AETC Trial

drug-specific activation of naïve T cells, alongside analysis of the strength of the induced response and the number of cultures that respond. DC naïve T-cell coculture, depleted of regulatory T cells (Tregs), was conducted in up to 48 wells for 2 weeks with model haptens (nitroso sulfamethoxazole [SMX-NO], Bandrowski's base [BB], or piperacillin [PIP]). Cultures were rechallenged with hapten and T-cell proliferation was measured using [<sup>3</sup>H]-thymidine incorporation. Priming of naïve T cells was observed with SMX-NO, with no requirement for DC during restimulation. Greater than 65% of cultures were activated with SMX-NO; with 8.0%, 30.8%, and 27.2% characterized as weak (stimulation index [SI] = 1.5–1.9), moderate (SI = 2–3.9), and strong responses (SI > 4), respectively. The number of responding cultures and strength of the response was reproducible when separate blood donations were compared. Coinhibitory checkpoint blockade increased the strength of the proliferative response, but not the number of responding cultures. Moderate to strong priming responses were detected with BB, whereas PIP stimulated only a small number of cultures to proliferate weakly. In drug-responsive cultures inducible CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup> Tregs were also identified. To conclude, the T-MWA offers improvements over existing assays

テン（ニトロソスルファメトキサゾール [SMX-NO]、バンドロウスキーベース[BB]、またはピペラシリン[PIP]）を使用して、最大 48 ウェルで 2 週間実施。培養物をハプテンで再チャレンジし、T 細胞の増殖を[<sup>3</sup>H]-チミジンの取り込みを使用して測定しました。ナイーブ T 細胞のプライミングは SMX-NO で観察され、再刺激中に DC を必要としませんでした。65%を超える培養が SMX-NO で活性化されました。8.0%、30.8%、および 27.2%は、それぞれ弱い（刺激指数[SI] = 1.5-1.9）、中程度（SI = 2-3.9）、および強い応答（SI > 4）として特徴付けられます。個別の献血を比較したところ、反応した文化の数と反応の強さは再現可能でした。共抑制チェックポイント封鎖は、増殖性応答の強さを増加させましたが、応答する文化の数を増加させませんでした。中程度から強いプライミング応答が BB で検出されましたが、PIP は少数の培養物のみを刺激して弱く増殖しました。薬物応答性培養では、誘導性の CD4 + CD25 + FoxP3 + CD127<sup>low</sup> Treg も同定されました。結論として、T-MWA は既存のアッセイよりも優れており、開発により、単一のプレート形式で複数の HLA タイプのドナーを研究するために使用できます。

# Google Translation / AETC Trial

and with development it could be used to study multiple HLA-typed donors in a single plate format.

Molecular, Biochemical, and Systems Toxicology

## [Potent Inhibitors of Organic Anion Transporters 1 and 3 From Natural Compounds and Their Protective Effect on Aristolochic Acid Nephropathy](#)

Caiyu Li, Xue Wang, Yajuan Bi, Heshui Yu, Jing Wei ...

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 279–291,

Original	Google translation
Organic anion transporters 1 and 3 (OAT1 and OAT3) play a critical role in renal drug-drug interactions and are involved in the nephrotoxicity of many anionic xenobiotics. To date, relatively little is known about the interaction of natural compounds with OAT1 and OAT3. Of the 270 natural compounds screened in the present study, 21 compounds inhibited OAT1 and 45 compounds inhibited OAT3. Further concentration-dependent studies identified 7 OAT1 inhibitors and 10 OAT3 inhibitors with IC <sub>50</sub> values of <10 $\mu$ M, and most of them were flavonoids, the most commonly ingested polyphenolic compounds in the diet and herbal products. Computational modeling of OAT1 and OAT3 revealed the important residues for the recognition of inhibitors. The two strong OAT inhibitors, namely wedelolactone and wogonin, were evaluated for their <i>in vivo</i> interactions with the OAT substrate aristolochic acid I	有機アニオントランスポーター1 および 3 (OAT1 と OAT3) は、腎臓の薬物間相互作用に重要な役割を果たし、多くのアニオン性生体異物の腎毒性に関与しています。今日まで、天然化合物と OAT1 および OAT3 との相互作用については、ほとんどわかっていません。本研究でスクリーニングされた 270 の天然化合物のうち、21 の化合物が OAT1 を阻害し、45 の化合物が OAT3 を阻害した。さらなる濃度依存性研究により、IC <sub>50</sub> 値が 10 $\mu$ M 未満の 7 つの OAT1 阻害剤と 10 つの OAT3 阻害剤が特定され、それらのほとんどはフラボノイドであり、ダイエット製品やハーブ製品で最も一般的に摂取されるポリフェノール化合物でした。OAT1 および OAT3 の計算モデリングにより、阻害剤の認識に重要な残基が明らかになりました。2 つの強力な OAT 阻害剤、すなわちウェデロラクトンとウォゴニン は、OAT 基質であるアリストロキシン酸 I (AAI) との生体内相互作用について評価されました。AAI の細胞毒性は、2 つの OAT 過剰発現細胞株で増加し、OAT1 過剰発現細胞ではより細胞毒性が高いことから、

# Google Translation / AETC Trial

<p>(AAI), a natural compound causing aristolochic acid-induced nephropathy (AAN) in many species. The cytotoxicity of AAI increased in two OAT-overexpressing cell lines, with more cytotoxicity in OAT1-overexpressing cells, suggesting a more important role of OAT1 than OAT3 in AAN. Both wedelolactone and wogonin markedly increased serum AAI concentrations in AAI-treated rats and ameliorated kidney injuries in AAI-treated mice. To conclude, the present findings are of significant value in understanding natural compound-drug interactions and provide a natural source for developing treatments for AAN.</p>	<p>AAN では OAT3 よりも OAT1 の重要な役割が示唆されています。ウェデロラクトンとウオゴニンの両方が、AAI 処理ラットの血清 AAI 濃度を著しく増加させ、AAI 処理マウスの腎損傷を改善しました。結論として、現在の調査結果は、天然の化合物と薬物の相互作用を理解する上で重要な価値があり、AAN の治療法を開発するための自然な源を提供します。</p>
--	--

## Organ Specific Toxicology

### [Assessing Effects of BHV-0223 40 mg Zydis Sublingual Formulation and Riluzole 50 mg Oral Tablet on Liver Function Test Parameters Utilizing DILIsym](#)

Diane M Longo, Lisl K M Shoda, Brett A Howell, Vladimir Coric, Robert M Berman ...

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 292–300,

Original	Google translation
<p>For patients with amyotrophic lateral sclerosis who take oral riluzole tablets, approximately 50% experience alanine transaminase (ALT) levels above upper limit of normal (ULN), 8% above 3× ULN, and 2% above 5× ULN. BHV-0223 is a novel 40 mg rapidly sublingually disintegrating (Zydis) formulation of riluzole, bioequivalent to conventional riluzole 50 mg oral tablets, that averts</p>	<p>経口リルゾール錠を服用している筋萎縮性側索硬化症の患者では、約 50% がアラニントランスアミナーゼ (ALT) レベルを正常上限 (ULN) を超え、8% が 3×ULN を超え、2% が 5×ULN を超えます。BHV-0223 は、従来のリルゾール 50mg 経口錠剤と生物学的に同等のリルゾールの新規 40 mg 舌下崩壊 (Zydis) 製剤であり、嚥下錠剤の必要性を回避し、初回通過肝代謝を軽減し、それにより潜在的に肝毒性のリスクを軽減しま</p>

# Google Translation / AETC Trial

the need for swallowing tablets and mitigates first-pass hepatic metabolism, thereby potentially reducing risk of liver toxicity. DILIsym is a validated multiscale computational model that supports evaluation of liver toxicity risks. DILIsym was used to compare the hepatotoxicity potential of oral riluzole tablets (50 mg BID) versus BHV-0223 (40 mg BID) by integrating clinical data and *in vitro* toxicity data. In a simulated population (SimPops), ALT levels  $> 3 \times$  ULN were predicted in 3.9% (11/285) versus 1.4% (4/285) of individuals with oral riluzole tablets and sublingual BHV-0223, respectively. This represents a relative risk reduction of 64% associated with BHV-0223 versus conventional riluzole tablets. Mechanistic investigations revealed that oxidative stress was responsible for the predicted ALT elevations. The validity of the DILIsym representation of riluzole and assumptions is supported by its ability to predict rates of ALT elevations for riluzole oral tablets comparable with that observed in clinical data. Combining a mechanistic, quantitative representation of hepatotoxicity with interindividual variability in both susceptibility and liver exposure suggests that sublingual BHV-0223 confers diminished rates of liver toxicity compared with oral tablets of riluzole, consistent with having a lower overall dose of riluzole and bypassing first-pass liver metabolism.

す。DILIsym は、肝毒性リスクの評価をサポートする検証済みのマルチスケール計算モデルです。DILIsym は、臨床データと *in vitro* 毒性データを統合することにより、経口リルゾールタブレット (50 mg mg BID) と BHV-0223 (40 mg mg BID) の肝毒性の可能性を比較するために使用されました。シミュレートされた母集団 (SimPops) では、ALT レベル  $> 3 \times$  ULN は、経口リルゾール錠と舌下 BHV-0223 をそれぞれ持つ個人の 3.9% (11/285) 対 1.4% (4/285) で予測されました。これは、従来のリルゾール錠と比較して、BHV-0223 に関連する 64% の相対的なリスクの減少を表しています。機構的調査により、酸化ストレスが予測された ALT 上昇の原因であることが明らかになりました。リルゾールと仮定の DILIsym 表現の有効性は、臨床データで観察されたものと匹敵するリルゾール経口錠剤の ALT 上昇率を予測するその能力によってサポートされています。感受性と肝臓への曝露の両方における肝毒性の個体間変動と機構的かつ定量的な表現を組み合わせると、舌下 BHV-0223 は、リルゾールの経口錠剤と比較して肝臓毒性の低下した率をもたらし、リルゾールの総投与量が低く、初回通過を回避することと一致している肝臓の代謝。



# Google Translation / AETC Trial

## [Lack of Multidrug Resistance-associated Protein 4 Prolongs Partial Hepatectomy-induced Hepatic Steatosis](#)

Ajay C Donepudi, Gregory J Smith, Oladimeji Aladelokun, Yoojin Lee, Steven J Toro ...

Toxicol. Sci. (2020) 175 (2): 301–311,

Original	Google translation
<p>Multidrug resistance-associated protein 4 (Mrp4) is an efflux transporter involved in the active transport of several endogenous and exogenous chemicals. Previously, we have shown that hepatic Mrp4 expression increases following acetaminophen overdose. In mice, these increases in Mrp4 expression are observed specifically in hepatocytes undergoing active proliferation. From this, we hypothesized that Mrp4 plays a key role in hepatocyte proliferation and that lack of Mrp4 impedes liver regeneration following liver injury and/or tissue loss. To evaluate the role of Mrp4 in these processes, we employed two-third partial hepatectomy (PH) as an experimental liver regeneration model. In this study, we performed PH-surgery on male wildtype (C57BL/6J) and Mrp4 knockout mice. Plasma and liver tissues were collected at 24, 48, and 72 h postsurgery and evaluated for liver injury and liver regeneration endpoints, and for PH-induced hepatic lipid accumulation. Our results show that lack of Mrp4 did not alter hepatocyte proliferation and</p>	<p>多剤耐性関連タンパク質 4 (Mrp4) は、いくつかの内因性および外因性化学物質の能動輸送に関与する排出トランスポーターです。以前、我々は肝臓の Mrp4 発現がアセトアミノフェンの過剰摂取後に増加することを示しました。マウスでは、Mrp4 発現のこれらの増加は、活発に増殖している肝細胞で特異的に観察されます。このことから、Mrp4 が肝細胞増殖において重要な役割を果たすこと、および Mrp4 の欠如が肝障害および/または組織損失に続く肝再生を妨げると仮定しました。これらのプロセスにおける Mrp4 の役割を評価するために、実験的な肝再生モデルとして 2/3 の部分肝切除術 (PH) を採用しました。この研究では、男性の野生型 (C57BL / 6J) と Mrp4 ノックアウトマウスに対して PH 手術を行いました。血漿および肝臓組織は、術後 24、48、および 72 時間で収集され、肝障害および肝再生エンドポイント、ならびに PH 誘発性肝脂質の蓄積について評価されました。私たちの結果は、Mrp4 の欠如が、Ki-67 抗原染色および血漿アラニンアミノトランスフェラーゼレベルで評価された PH 後の肝細胞増殖および肝障害を変化させなかったことを示しています。驚いたことに、Mrp4 ノックアウトマウスは、肝臓の脂質含</p>



# Google Translation / AETC Trial

liver injury following PH as evaluated by Ki-67 antigen staining and plasma alanine aminotransferase levels. To our surprise, Mrp4 knockout mice exhibited increased hepatic lipid content, in particular, di- and triglyceride levels. Gene expression analysis showed that lack of Mrp4 upregulated hepatic lipin1 and diacylglycerol O-acyltransferase 1 and 2 gene expression, which are involved in the synthesis of di- and triglycerides. Our observations indicate that lack of Mrp4 prolonged PH-induced hepatic steatosis in mice and suggest that Mrp4 may be a novel genetic factor in the development of hepatic steatosis.

有量、特にジグリセリドとトリグリセリドのレベルの増加を示しました。遺伝子発現分析は、Mrp4 の欠如が、肝臓の lipin1 とジアシルグリセロール O-アシルトランスフェラーゼ 1 および 2 の遺伝子発現を上方制御し、それらがジグリセリドおよびトリグリセリドの合成に関与していることを示しました。私たちの観察は、Mrp4 の欠如がマウスの PH 誘発性脂肪肝を延長したことを示しており、Mrp4 が脂肪肝の発生における新しい遺伝因子である可能性があることを示唆しています。