

II. 基礎研究

亜鉛とスズ関与の免疫系ならびに
脳神経系のアポトーシス機構富山 健一¹ 荒川 泰昭^{2,3}Zinc- and tin-induced apoptotic mechanisms
in immune system and cranial nerve system¹Kenichi Tomiyama, ^{2,3}Yasuaki Arakawa¹National Institute of Radiological Sciences, Japan²Japan Organization of Occupational Health and Safety³Ex-President, Japan Society for Biomedical Research on Trace Elements

Abstract

This review explains the mechanisms of apoptosis related to the impacts of zinc deficiency and organotin exposure on the immune and central nervous systems.

In the immune systems, both zinc deficiency and trialkyltin exposure lead to severe thymic atrophy and affect T-lymphocyte development through apoptosis of double positive stage pre-T-cells(CD⁴⁺/CD⁸⁺) in the cortex region. Their apoptosis are caused mainly through decrease in Bcl-2 expression, activation of ROS production/release, oxidative stress, mitochondrial cytochrome *c* release and activation of caspase cascade, with increases in glucocorticoids in zinc deficiency, without the involvement of glucocorticoid in organotin exposure.

In the central nervous system, both zinc deficiency and trialkyltin exposure reduce learning, memory and sensory functions through neuronal apoptosis caused by activation of ROS production/release, release of pro-apoptotic factors such as cytochrome *c* or apoptosis-inducing factor(AIF), with Fe excessive accumulation leading to ROS production and with depletion of hippocampus Zn(mossy fiber Zn) causing various Ca²⁺ channel disorder of synapse in the hippocampus, and with excessive accumulation of Ca through cAMP-dependent Ca²⁺-channel disorder by excessive PTH and cAMP excessive production in the olfactory systems such as olfactory epithelium and olfactory bulb.

Key words: zinc deficiency, organotin exposure, apoptosis, immune system, central nervous system

¹独立行政法人放射線医学総合研究所 ²独立行政法人労働者健康安全機構 労働安全衛生総合研究所 ³日本微量元素学会前理事長

はじめに

亜鉛欠乏および有機スズ曝露による症状発現は常に類似している。そこで、微量元素において、欠乏の代表例として内在的因子である「亜鉛欠乏」と過剰の代表例として外来的因子である「有機スズ曝露」という2つの相反する環境因子を用いて、生理的老化においても病的老化においても共通にみられる現象、すなわち「細胞死」を発症させるその機序を、本稿では特にアポトーシスの観点から比較・考察する。

1. 亜鉛とアポトーシス

1) 免疫系のアポトーシス

a. 亜鉛欠乏による胸腺リンパ球のアポトーシス

著者らは、亜鉛無添加飼料(Zn含量:0.05 mg%)を用いてWistar系SPF幼若ラットを4週間飼育したところ、胸腺ならびに胸腺依存性リンパ組織の著しい萎縮が起こることを報告している^{1,2)}。この萎縮は胸腺細胞の消失によるものであるが、亜鉛の補給によって可逆的に回復する。また、亜鉛欠乏によって胸腺中の微量元素バランスは著しく攪乱され、亜鉛の著減とは逆に、カルシウム、銅そして塩素の著増など細胞内濃度の著しい変化がみられる^{1,3)}。

亜鉛欠乏時の胸腺内では、皮質領域局在の未熟細胞でダブルポジティブのCD4⁺/CD8⁺細胞(アポトーシスに関与する細胞)の消失が著しい。このとき、血中のグルココルチコイド濃度が増大しており、これが胸腺皮質局在のCD4⁺/CD8⁺未熟リンパ球に対して選択的にアポトーシスを誘導する。グルココルチコイドはその受容体と結合することにより核内へ移行し、Bcl-2のような細胞の生存に関与する遺伝子発現の抑制やPUMA, Bax, Bimなどのアポトーシス誘導遺伝子の転写活性を誘導する。さらに、亜鉛濃度の低下は胸腺リンパ球内の活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)の分解酵素であるCu/Zn superoxide dismutase(SOD)活性を低下させ、その結果ROSの急激な産生を誘導する。ROSの生成能が抗酸化能よりも勝ることで、ROSが

過剰に存在する酸化ストレス状態となる。酸化ストレス状態になるとBaxやBimはミトコンドリアへ移行し、ミトコンドリアの膜電位の低下とチトクロームcの放出によってカスパーゼカスケード(caspase cascade)の活性化を誘導する。

さらに、胸腺リンパ球のグルココルチコイド誘導系アポトーシスは、Ca²⁺非存在下やZn²⁺の添加によって抑制される⁴⁾ことから、細胞内でのCa²⁺濃度の過剰は逆にアポトーシスの発生過程でcaspase活性化やDNAを切断するエンドヌクレアーゼの活性化を相乗的に促進していることになる。

以上の結果から、亜鉛欠乏状態の胸腺では、ストレスを介してCD4⁺/CD8⁺細胞にグルココルチコイドが選択的に作用し、細胞死を抑制するBcl-2などの発現を低下させていることがわかる。そして同時に、細胞内Zn²⁺濃度の減少によりROS産生抑制が低下し、酸化ストレスによるDNAやミトコンドリアの障害を誘発し、さらにCa²⁺濃度の過剰によりアポトーシス関連タンパク質の活性化が促進され、アポトーシスを増幅させていることがわかる(図1)。

2) 脳神経系のアポトーシス

a. 亜鉛による中枢神経細胞のアポトーシス

免疫系器官の場合と同様に、亜鉛欠乏によって脳中の微量元素バランスは著しく攪乱され、海馬や線条体においては鉄>>銅の過剰蓄積、嗅球においてはカルシウム>>銅、鉄の過剰蓄積、嗅上皮においてはカルシウムの過剰蓄積がみられる²⁾。

a) 亜鉛欠乏による海馬神経細胞のアポトーシス

亜鉛は、脳組織の中でも海馬や大脳皮質に高濃度で存在し、神経伝達調節因子として記憶・学習における神経活動の調節や神経新生に関与している。特に海馬では、脳形成が終了した成体においても神経新生が活発に行われ、これが記憶の形成に重要な働きをしている⁵⁾。

著者らの亜鉛欠乏飼料で4週間育てたラットの実験では、海馬において鉄や銅の過剰蓄積がみられ、これら遷移元素の過剰蓄積がSOD活

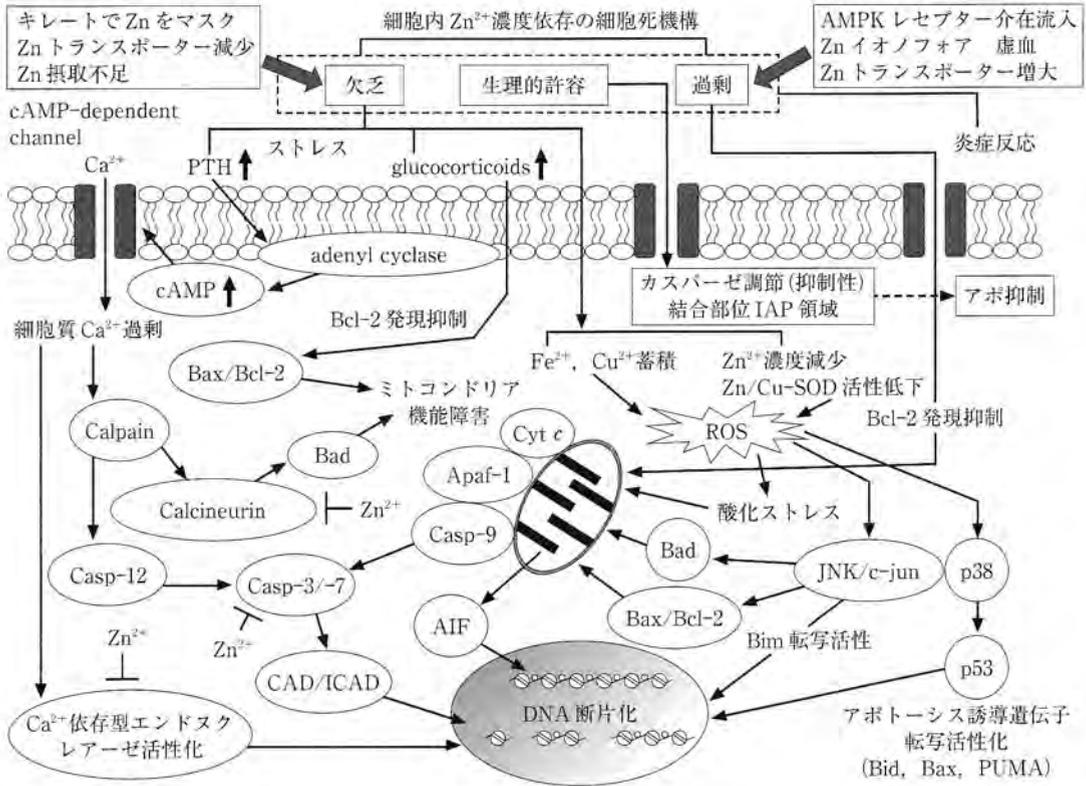


図1 亜鉛とアポトーシス

性の低下やROS生成に寄与し、酸化ストレスの系を介してアポトーシスを誘導することが示された。すなわち、神経幹細胞や神経細胞の減少は、鉄や銅など遷移元素の過剰蓄積によるSOD活性の低下やROS産生促進による酸化ストレスと細胞内Ca²⁺濃度の過剰増加によるCa²⁺濃度依存性のアポトーシス誘導シグナルによるものである。亜鉛欠乏によってグルココルチコイドは増加し、グルタミン酸作動性ニューロンの異常興奮を引き起こすが、グルココルチコイドが直接神経細胞のアポトーシスを誘導するか否かは定かでない。ちなみに、後述の嗅球では、カルシウムの過剰蓄積がCa²⁺依存型エンドスクレアーゼなどを活性化してアポトーシスを誘導する^{6,7)}。

また、亜鉛欠乏によって、成体海馬歯状回の顆粒細胞層で起こる神経新生の阻害やTUNEL陽性のアポトーシスの増加が認められる。さら

に、亜鉛のキレート剤であるTPENを神経新生モデル細胞Ntera-2細胞に処理すると、p53リン酸化による細胞周期の停止、ROSの増加、ミトコンドリア機能障害、caspase-3/-7の活性化に伴うアポトーシスの誘導が起こる。

b) 亜鉛欠乏による嗅覚系神経細胞のアポトーシス

亜鉛欠乏は記憶・学習障害の他に味覚や嗅覚の感覚系機能障害を誘発する。著者らの実験では、組織病理学的所見でも、嗅球ならびに嗅上皮において神経細胞、特に顆粒ニューロンの破壊が観察される^{6,7)}。また、亜鉛欠乏時には、嗅覚系組織の微量元素バランスが著しく崩れ、特に嗅球や嗅上皮にカルシウムの過剰な蓄積が起こる^{6,7)}。このとき、嗅球ではカルシウムの過剰蓄積に伴って、マグネシウム微増大、PTH低下、cAMP微低下、IP₃微低下がみられる。また、嗅上皮ではカルシウムの過剰蓄積、マグネシウム

不変, PTH 低下, cAMP 微低下, IP_3 微低下がみられ, 脳脊髄液ではカルシウム低下, マグネシウム低下, PTH 増大などがみられる。

このカルシウムの過剰集積は, IP_3 非依存性の小胞体からの細胞内カルシウム動員化(Ca^{2+} -mobilization)のみでは量的にも説明しえず, 細胞外からの Ca^{2+} 流入によるものであるとされた。最終的には細胞外からの Ca^{2+} 流入経路としては, IP_3 作動性チャネル介在ではなく, PTH 著増が引き金となる cAMP 依存性チャネルが介在していることが判明した^{6,7)}。すなわち, この嗅覚系へのカルシウムの過剰蓄積(局在化)は, 脳内特定部位での PTH の著増によるアデニルサイクラーゼの活性化>cAMP 過剰産生>cAMP 依存性カルシウムチャネルの調節異常>細胞外カルシウムの過剰流入といった cAMP 依存性チャネルを介した一連のプロセスによるものである。

亜鉛欠乏による嗅覚障害や嗅覚神経細胞の脱落を詳細に解析した結果, 海馬と同様, ROS 産生促進による酸化ストレスの増加と Ca^{2+} 依存型エンドヌクレアーゼの活性化など, Ca^{2+} 過剰増加による Ca^{2+} 濃度依存性のアポトーシス誘導が確認された^{6,7)}。

c) 亜鉛過剰曝露による中枢神経系の細胞死

中枢神経系においては, 亜鉛も曝露量によっては神経細胞を障害する。亜鉛過剰は種々の経路でミトコンドリア機能を障害する。ミトコンドリア ATP 生成の阻害, ROS 生成および遊離促進, チトクローム *c* の遊離, アポトーシス誘導因子(AIF)の遊離などを経てアポトーシスが誘導される。

近年, 風邪薬として鼻腔内へ直接添加するグルコン酸亜鉛の使用がもたらす嗅覚の損傷例が報告されている⁸⁾。また, 殺菌や消臭効果など様々な用途に用いられている酸化亜鉛ナノ粒子は, SH-SY5Y 細胞において濃度依存的に DNA 損傷や ROS の生成, そしてアポトーシスを誘導する⁹⁾。

慢性的な亜鉛蓄積は, 脳内の酸化ストレスを引き起こし, NF- κ B の活性化による炎症反応の促進, Bax 発現増加によるミトコンドリア機

能障害, そして caspase 活性化によるドーパミン神経細胞のアポトーシスを誘導することから, パーキンソン様病態を示すモデルとしての報告もある¹⁰⁾。これらの知見から, 中枢神経系においては亜鉛欠乏のみならず, 過剰な亜鉛曝露においても, 神経細胞に対して障害を誘発することが明らかになりつつある。

2. スズとアポトーシス

1) 免疫系のアポトーシス

有機スズによる免疫不全の特徴は選択的な胸腺ならびに胸腺依存性部位の著しい萎縮とそれに伴う細胞性免疫の不全である¹¹⁻¹⁷⁾。各種有機スズの中で, 胸腺萎縮作用の最も強いのはジブチルスズ(DBT)やジオクチルスズ(DOT)であり, ついでトリブチルスズ(TBT)である。ジブチルスズやジオクチルスズのようなジアルキルスズによる選択的な萎縮は可逆性である。病理組織学的には, 亜鉛欠乏の場合と同様に, 細胞分裂の激しい皮質領域の未熟なリンパ球の消失が著しい^{2,11-17)}。

しかし, 亜鉛欠乏の場合と違う点は, この萎縮はグルココルチコイドの遊出増大によるストレス, いわゆる 'starry sky' 現象に由来する間接的な萎縮ではないことである。すなわち, 胸腺萎縮時における副腎, 副腎皮質の組織学的変化もなく, また胸腺での有機スズ濃度と萎縮の程度とが逆相関を示すことや胸腺細胞の生存率の低下と DNA 合成の阻害とがともに量依存性であり, かつ互いに平行することなどから, この萎縮は有機スズの直接作用であり, DNA 合成の阻害さらには細胞増殖の阻害に起因した二次的な細胞死によるものであることがわかる。

また, この萎縮は, ジブチルスズの場合は長期間(5-8週間)連続曝露をすると逆に回復してくる。すなわち, 耐性が発現してくる。しかし, トリブチルスズの場合はこのような回復はみられない。ここに, ジブチルスズとトリブチルスズの胸腺萎縮誘発におけるメカニズムの違いが明確化される^{2,11-17)}。

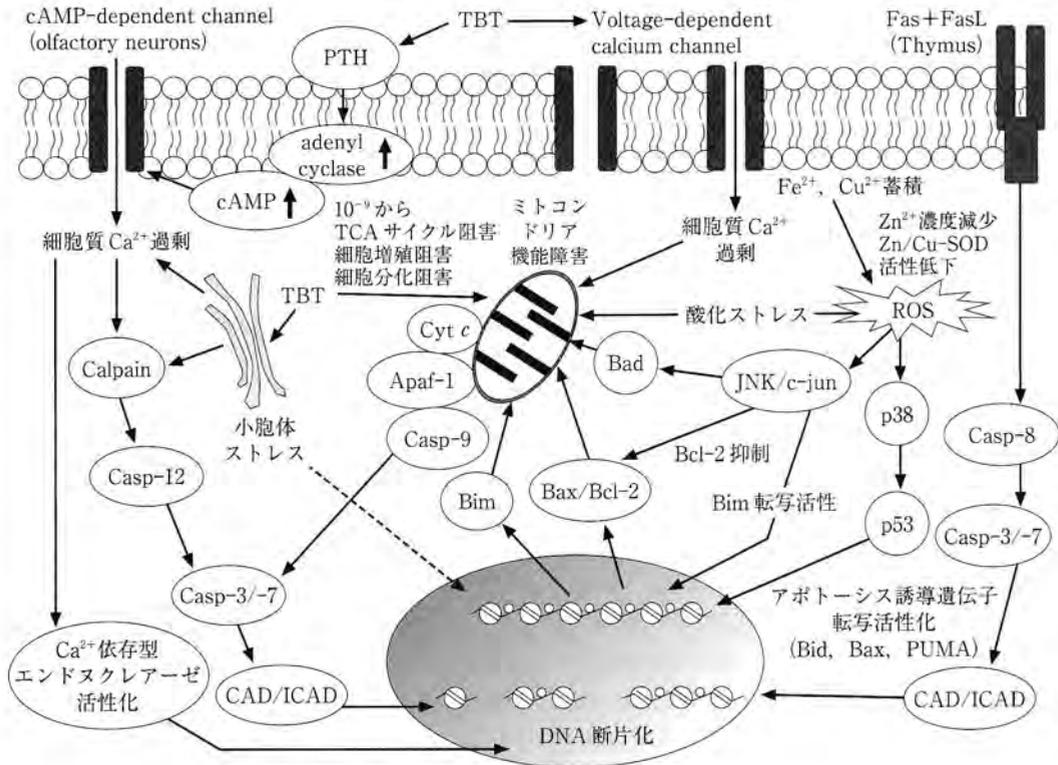


図2 有機スズとアポトーシス

a. 有機スズ曝露による胸腺リンパ球のアポトーシス

ジブチルスズやトリブチルスズのような有機スズはそれらの疎水性(hydrophobicity)に依存して核やプラズマメンブレンではなく、核周辺のゴルジ体-小胞体(ER)領域に選択的に集積し、ゴルジ体の特異的層状構造や小胞体(ER)の特異的細網構造を選択的に破壊し、それぞれの機能を阻害する^{2,11-17)}。

ジブチルスズ(DBT)はオルガネラ間のリン脂質輸送を阻害し、PI代謝回転など細胞内リン脂質代謝を阻害し、膜介在の増殖情報伝達系を阻害する。そしてRNA合成さらにはDNA合成を阻害し、細胞増殖を阻害する。ジブチルスズによる細胞死は、細胞増殖の阻害に起因したものであり、その死の形態は主としてネクロシスである。

一方、トリブチルスズ(TBT)の死の形態はアポトーシスである。TBT曝露胸腺リンパ球では、

酸化ストレス、小胞体ストレス、NF κ B、TNF- α 経路そしてDNAダメージに関与するp53経路に関連する遺伝子の発現が増加する。特に、アポトーシスの誘導経路は、ミトコンドリアの機能障害からのチトクロームcの遊離、caspaseカスケード活性化、そして最終的にDNAの断片化である。TBTによるアポトーシスには一部に小胞体ストレスや酸化ストレスの関与も考えられ、これらストレス応答に関連するアポトーシス誘導遺伝子の転写活性も認められている。すなわち、トリブチルスズは、小胞体ストレスやミトコンドリア機能障害を引き起こし、これが引き金となって胸腺リンパ球のアポトーシスを誘導する(図2)¹⁸⁾。

2) 脳神経系のアポトーシス

a. 有機スズ曝露による中枢神経細胞のアポトーシス

トリメチルスズ(TMT)、トリエチルスズ(TET)、トリブチルスズ(TBT)のようなトリア

ルキルスズは、強力な中枢神経毒性を有し、重篤な行動障害や記憶・学習障害、さらには嗅覚障害を誘発する。これらのトリアルキルスズは容易に血液脳関門を通過し、大脳皮質、嗅球、海馬、線条体、視床下部に蓄積するため、各組織における神経細胞を傷害し、種々の障害を誘発する¹¹⁻¹³⁾。

a) 血液脳関門の破壊とアポトーシス

TBTは脳を保護する血液脳関門の機能を破壊する。血液脳関門は、血中を循環する有害物質が脳内神経細胞に取り込まれないよう保護しており、血液脳関門として働く血管内皮細胞とその細胞表面を覆うアストロサイトによって構成されている。

TBTを7日間連続で経口投与(10-30mg/kg)したラットでは、大脳皮質領域、小脳、海馬、視床下部および線条体の血液脳関門の選択的透過性が崩壊し、炎症性サイトカインの増加、カルシウムの過剰蓄積、グルタチオン濃度の減少、酸化を促進する鉄や銅の濃度の著増や抗酸化作用に働くZn濃度の著減、そしてROSの生成促進、Baxレベルの増加とBcl-2の低下、そしてアポトーシスの誘導が組織レベルで確認された。これらの脳部位において、TBTによるROSの生成や微量元素濃度の変化を比較すると、線条体が最も酸化的障害を受けやすいことがわかる。この結果は、トリアルキルスズによる行動異常の発症要因を裏づけるものでもある。また、大脳皮質からの神経細胞とアストロサイトの混合培養モデルでは、p38のリン酸化による活性とcaspase-3の活性誘導が認められる¹⁰⁾。

b) 記憶・学習障害とアポトーシス

トリメチルスズ(TMT)、トリエチルスズ(TET)、トリブチルスズ(TBT)のようなトリアルキルスズは、重篤な記憶・学習障害を誘発する。最も神経毒性の強いTBTの投与実験では、有機スズの脳内曝露に伴って、脳内各組織における微量元素バランスは著しく変動する。その中でも、海馬の門領域(CA4)およびCA3セクター内に局在する苔状線維(mossy fiber)のシナプス終末に多含される亜鉛の消失(海馬亜鉛の消失という)が顕著である。

亜鉛は、記憶・学習の基礎過程においてカルシウムチャンネルを制御する神経調節因子(neuromodulator)であり、この海馬亜鉛の苔状線維からの消失はカルシウムチャンネルを攪乱し、その後の亜鉛は記憶・学習の基礎過程を障害する¹⁴⁻¹⁷⁾。また、このとき海馬のカルシウムや鉄が著しく高濃度になっている。海馬において鉄の過剰蓄積によるフェントン反応介在の活性酸素ROSの生成が確認された。

*in vitro*の海馬スライスを用いた培養実験でも、クロマチンの凝集、細胞内Ca²⁺増加、ROSの生成など、アポトーシスで起こる現象が確認された。特にミトコンドリアの電子伝達系を阻害することでROSを産生し、細胞質へ流出して酸化ストレス状態が誘導されている。

TMTやTETにおいても、胸腺リンパ球の場合と同様に、DNAの断片化が認められ、かつROS産生、炎症性サイトカイン、グルタミン酸の増加やミトコンドリア機能障害が複合的に絡み合ってアポトーシスを誘導する。

c) 嗅覚障害とアポトーシス

トリアルキルスズは、視覚系、聴覚系、嗅覚系、身体感覚系などの感覚系機能障害を誘発するが、特に嗅覚系障害は過去にブチルスズ合成工における労働災害として発生している。

著者らのTBTを用いた実験では、有機スズの脳内曝露に伴って、脳内各組織における微量元素バランスは著しく変動し、特に嗅覚系ではカルシウムの嗅球や嗅上皮への選択的な過剰集積がみられた⁶⁵⁾。このとき、カルシウムの過剰増大に伴って、PTH著増、cAMP著増、IP₃著減、CaMキナーゼII活性低下などがみられた。

このカルシウムの過剰集積は、IP₃非依存性の小胞体からの細胞内カルシウム動員化のみでは量的にも説明しえず、細胞外からのCa²⁺流入によるものであるとされた。最終的には、実験結果から細胞外からのCa²⁺流入経路としては、PTH著増が引き金となるcAMP依存性チャンネルが介在していることが判明した⁶⁷⁾。すなわち、嗅覚系へのカルシウムの過剰蓄積(局在化)は、脳内特定部位でのPTHの著増によるアデニルサイクラーゼの活性化>cAMP過剰産生>cAMP

依存性カルシウムチャネルの調節異常>細胞外カルシウムの過剰流入といったcAMP依存性チャネルを介した一連のプロセスによるものである^{6,7)}。

さらに、このカルシウムの過剰集積による嗅覚情報伝達系や嗅覚ニューロンの細胞死を詳細に解析した結果、TBTによるラット嗅覚障害モデルでは、TBTは腹腔内投与後速やかに嗅球に移行し、72時間後に嗅覚試験のスコアの低下、嗅球組織の顆粒細胞層において神経細胞数の減少、TUNEL陽性細胞の増加を認めた²⁰⁾。

また、嗅球神経細胞の初代培養では、TBTは速やかに核周辺に集積し、同時に細胞内Ca²⁺濃度も著しく上昇した²¹⁾。TBT曝露24時間で、嗅球神経細胞の著しい減少とCa²⁺依存型エンドヌクレアーゼの活性化やDNAの断片化が確認された²²⁾。さらに、Zn添加でCa²⁺依存型エンドヌクレアーゼの活性が抑制されることから、培養細胞レベルでTBTとZnの拮抗性を明らかにすることができた²³⁾。他のトリアルキルスズにおいては、TMTによるマウス嗅覚障害の誘導モデルで、ストレス応答シグナル伝達系であるJNK/c-Jun経路の活性化やcaspase-3の活性化が認められている²⁴⁾。

d) *in vitro*系におけるアポトーシス誘導メカニズムの解析

著者らは、血液脳関門で重要な役割を果たすと考えられるアストロサイト細胞株RCR-1を用いて、TBT曝露によるアポトーシス誘導メカニズムを検討した結果、細胞外からの著しいCa²⁺流入による細胞内Ca²⁺の増加、カルシウム依存性のアポトーシス誘導因子カルパインの活性化、ミトコンドリア膜電位低下によるチトクロームcの放出、caspaseの活性化、DNAの断片化を引き起こすことなどを確認している(図2)¹⁹⁾。

また、ヒト神経芽細胞腫SH-SY5Y細胞を用いた実験からは、小胞体ストレスも一部関与していることが示唆されている。

モノメチルスズ(MMT)、ジメチルスズ(DMT)、モノブチルスズ(MBT)、DBTの神経毒性を比較する小脳の顆粒神経細胞を用いた初

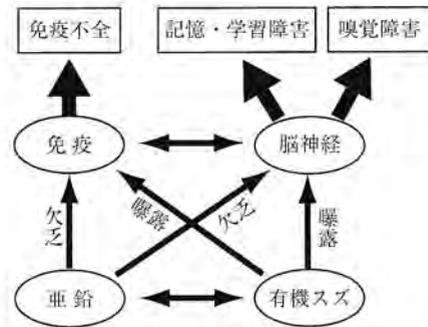


図3 亜鉛と有機スズによる免疫系と脳神経系の症状発現にみる病的老化の共通接点

代培養実験では、TMTは濃度3 μ Mで50%の神経細胞を死滅させるが、MMT、DMT、MBTは濃度10 μ Mの曝露でも有意の細胞毒性は示さない。一方で、DBTは濃度0.3 μ MからTUNEL陽性のアポトーシスを誘導する。

TMTはJNK/c-Junやp38経路を活性化させ、これら経路の阻害はTMTによるアポトーシスを減少させるが、DBTはJNK/c-Junやp38経路の活性化を誘導せず、かつJNK/c-Junやp38経路の活性阻害剤を併用してもアポトーシスの誘導は減少しない。これは、メチルスズ化合物とブチルスズ化合物によるアポトーシスの誘導は異なるメカニズムによって制御されていることを示している。

おわりに

免疫系ならびに脳神経系(今回は割愛した内分泌系)において、発現症状が類似の亜鉛欠乏あるいは有機スズ曝露という2つの異なる環境悪化に起因する病的老化の誘導プロセスで、「細胞死」は主要な領域である。本稿では、特にアポトーシスに注目し、その誘導プロセスにおける共通な接点を考察した(図3)。

両者における細胞死は、①細胞内カルシウム、鉄、銅の過剰蓄積によるオルガネラ・ストレス、②ROS生成の促進、③アポトーシス誘導シグナルの活性化、という共通のプロセスを経る。そして、これら共通のプロセスを裏づけしている共通の接点の一つが亜鉛結合部位での亜鉛とスズの置き換わり、あるいは作用点での亜鉛機

能障害による「組織的な亜鉛欠乏状態」なる現象の誘発であろうと思われる。

病的老化として両者にみられる免疫系機能の低下や中枢神経系機能の低下は、それぞれの機能や形態における生理的老化と同じ現象(生理的老化の修飾)であり、この現象を発現する要因こそが老化プロセスとの接点である。そして、

両者において共通にみられる要因の中で、生体に不利益な反応または物質の蓄積、例えば「カルシウム、鉄、銅などの過剰蓄積」、「情報伝達の誤り」なども老化を誘発する‘不利効果の蓄積’の一つとみなすことができるのではないだろうか。

■ 文 献

- 1) 荒川泰昭ほか：胸腺における微量元素とT細胞の膜表面抗原の変化。Biomed Res Trace Elements 3 (3): 319-329, 1992.
- 2) 荒川泰昭：トビックス「免疫機能における微量元素の栄養と毒」—金属による胸腺免疫の病的老化—(総説)。Biomed Res Trace Elements 14(4): 249-258, 2003.
- 3) 荒川泰昭ほか：微量元素と免疫機能(総説)。臨床検査 53(2): 191-196, 2009.
- 4) Gaido ML, Cidowski JA: Identification, purification, and characterization of calcium-dependent endonuclease(NUC18) from apoptotic rat thymocytes. NUC18 is not histone H2B. J Biol Chem 266: 18580-185805, 1991.
- 5) 荒川泰昭：「脳の機能と微量元素」—記憶・学習と亜鉛—(講義)。ぶんせき(日本分析化学会雑誌) 258 (6): 428-435, 1996.
- 6) 荒川泰昭：亜鉛欠乏ならびに有機錫中毒誘発の脳障害における脳内微量元素の動態と副甲状腺ホルモン(PTH)との関連性。Trace Nutrients Research 12: 107-112, 1995.
- 7) Arakawa Y: Olfactory disorders and calcium localization. Trace Nutrients Research 14: 19-28, 1997.
- 8) Hsieh H, et al: Evaluation of the toxicity of zinc in the rat olfactory neuronal cell line. Odora. Hum Exp Toxicol 34: 308-314, 2015.
- 9) Valdiglesias V, et al: Neuronal cytotoxicity and genotoxicity induced by zinc oxide nanoparticles. Environ Int 55: 92-100, 2013.
- 10) Chauhan AK, et al: Inflammation and B-cell Lymphoma-2 Associated X Protein Regulate Zinc-Induced Apoptotic Degeneration of Rat Nigrostriatal Dopaminergic Neurons. Mol Neurobiol. 2015 Oct 26. [Epub ahead of print]
- 11) 荒川泰昭：「有機スズの生体機能への侵襲」—免疫系・脳神経系・内分泌系—(総説)。Biomed Res Trace Elements 11(3): 259-286, 2000.
- 12) Arakawa Y: Chapter 10: Recent studies on the mode of biological action of the di- and tri-alkyltin compounds. In: Chemistry of Tin, p388-428. Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall, Glasgow, 1998.
- 13) Arakawa Y: Chapter 4: Biological properties of alkyltin compounds. In: Metal Ions in Biological Systems, Volume 29, Biological Properties of Metal Alkyl Derivatives, p101-136. Marcel Dekker, New York, 1993.
- 14) Arakawa Y: Review: Tin and Immunity. Biomed Res Trace Elements 6(2): 1-34, 1995.
- 15) 荒川泰昭：錫の生物活性と免疫(総説)。産業衛生学雑誌 39: 1-20, 1997.
- 16) Arakawa Y, Wada O: Chapter 9: Suppression of cell proliferation by certain organotin compounds. In: Tin and Malignant Cell Growth(ed by Zuckerman JJ), p83-106. CRC Press, Boca Raton, 1988.
- 17) Arakawa Y: Chapter 23: Antitumor activity of organotin compounds and inhibition of membrane signal transduction. In: Chemistry and Technology of Silicon and Tin(ed by Kumar Das VG, Gielen M), p 319-333. Oxford University Press, Oxford, 1992.
- 18) Tomiyama K, et al: Analysis of mechanisms of cell death of T-lymphocytes induced by organotin agents. J Immunotoxicol 6: 184-193, 2009.
- 19) Tomiyama K, et al: Relation of excess calcium accumulation to calcium-dependent apoptotic cell death in RCR-1 cells exposed to tributyltin. Biomed Res Trace Elements 20: 296-306, 2009.

- 20) Tomiyama K. et al: Mechanism underlying the olfactory disturbance induced by an intraperitoneal injection of tributyltin chloride in rats. *Toxicology* **276**: 110-114, 2010.
- 21) Tomiyama K. et al: Relation of Excessive Accumulation of Calcium and Calcium-dependent Apoptotic Cell Death in the Organotin-exposed Olfactory System. *Trace Nutrients Research* **25**: 158-163, 2008.
- 22) Tomiyama K. et al: Relation of Excessive Accumulation of Calcium and Endonuclease Activation in the Organotin-Exposed Olfactory System. *Trace Nutrients Research* **23**: 35-41, 2006.
- 23) Kawada K. et al: In vivo acute treatment with trimethyltin chloride causes neuronal degeneration in the murine olfactory bulb and anterior olfactory nucleus by different cascades in each region. *J Neurosci Res* **86**: 1635-1646, 2008.