

三丁基锡引起的集成式细胞内信号应答反应

刘慧刚¹ 徐立红^{2*}

(1三峡大学医学院, 宜昌 443002; 2浙江大学医学院生物化学系, 杭州 310058)

摘要 海洋环境污染物质三丁基锡(tributyltin, TBT)引起的细胞内信号通路应答十分复杂, 是一种集成式网络反应(integrated network-like intracellular response)。各种细胞因子及它们之间的作用关系构成类似集成电路样网络式分子反应, 组成了细胞内一个个相对独立、又互相关联的反应模块。该文综述了TBT引起的细胞内信号通路转导的集成式网络反应现象, 旨在为综合评价污染物危害性提供参考。

关键词 集成式; 细胞内应答; 三丁基锡

Integrated Intracellular Signal Pathways Response Induced by Tributyltin

Liu Huigang¹, Xu Lihong^{2*}

(1School of Medicine, Three Gorges University, Yichang 443002, China; 2Department of Biochemistry, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract The intracellular response induced by tributyltin (TBT), a kind of marine pollutant, is a very complex integrated network-like intracellular response. All the cytokines that participate the intracellular response assembled an “integrated circuit”, in which several both relatively independent and mutually related react modules were formed. The present review focuses on the integrated network-like intracellular response induced by TBT. The purpose of this review is to provide reference for comprehensive evaluation of the harm of environmental pollutants.

Key words integrated; intracellular response; tributyltin(TBT)

1 引言

三丁基锡(tributyltin, TBT)是船舶防污漆的重要成份, 主要用于防止海洋生物在船体附着生长, 但同时TBT也对海洋中的非目标水生生物产生了广泛、持久的危害。我国沿海水域中TBT及其降解产物二丁基锡(dibutyltin, DBT)和一丁基锡(monobutyltin, MBT)的浓度平均值分别高达几十乃至上百ngSn/L, 超过美国残留标准(0.6 ngSn/L)数倍, 而水生生物对有机锡的生物富集能力高达上百倍^[1-2]。因此TBT必然会通过食物链的生物放大作用逐级传递给高等动物, 最终危害到人类健康。不仅如此, 随着近

年来内陆航运的快速发展, TBT的淡水污染及其危害也开始显现, 因此, TBT的生态危害一直受到广泛关注。

环境化学污染物引起的细胞学变化(细胞存活、细胞凋亡、细胞增殖、细胞周期、细胞形态等)是一个极其复杂的过程, 细胞的这些过程是通过细胞信号转导来实现的。污染物引起的细胞内信号通路转导异常往往不是单独的, 而是一种复杂的集成式网络反应(integrated networklike intracellular response)。细胞信号转导的失控将导致生物稳态的破坏, 而许多污染物也是由于细胞通路异常激活或

收稿日期: 2012-07-11 接受日期: 2012-09-12

国家自然科学基金(批准号: 81141109)资助的课题

*通讯作者。Tel/Fax: 0571-88208265, E-mail: xulihong@zju.edu.cn

Received: July 11, 2012 Accepted: September 12, 2012

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81141109)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-571-88208265, E-mail: xulihong@zju.edu.cn

失活而产生危害。TBT的生物危害是多方面的^[3], 包括神经毒性、生殖毒性和致癌性等, 在这些毒性作用中, TBT诱导的细胞凋亡起到关键作用, 国内外相关文献综述并不少见, 本综述重点从细胞水平, 以TBT引起的与凋亡相关的细胞内分子主要应答反应及本研究小组近期相关研究进展进行总结。

2 细胞信号通路的平衡决定了TBT作用的存活或者凋亡

国内外学者对TBT毒性作用的研究中, 涉及较多的细胞信号通路是丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)。MAPK信号转导途径通过Ras/Raf MAPK激酶(MAPKK)三级酶促级联反应, 激活转录因子, 调节特定基因的表达, 参与细胞的增殖、分化及凋亡等过程, 与细胞生长、分裂和凋亡密切相关^[4]。MAPKs信号通路各家族成员各有特点, 能够介导许多不同的生物学效应, 但它们所具有的生物学作用又不是一成不变的。如细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinases, ERK)活化后促进细胞周期进展导致细胞增殖或分化阻止细胞凋亡的发生; 激活的Jun氨基末端蛋白激酶(c-Jun N-terminal protein kinases, JNK)能通过激活内源性通路, 从而导致caspase的激活和细胞凋亡; p38也在细胞凋亡中起重要作用, 抑制p38通路的同时可加强ERK的激活, 导致凋亡延迟^[5]。

研究表明, 不同浓度的TBT作用于不同细胞或作用时间不同, MAPK信号通路激活情况不同, 会导致不同的细胞结局。如Aluoch等^[6]发现低浓度(25 nmol/L) TBT对自然杀伤细胞(natural killer cells, NK)的ERK(p44/42)的激活远明显于JNK, 结果提示NK细胞暴露于低浓度TBT后抗凋亡信号途径较凋亡信号途径活跃; Aluoch等^[7]还发现, NK细胞暴露于浓度为300 nmol/L TBT 1 h后, 使p44/42、p38部分激活, 而暴露24 h却反而使p44/42、p38激活水平降低; 本研究小组Zhu等^[8]研究也发现, 低浓度(1 μ mol/L)TBT可以促进细胞增殖, 而高浓度(4 μ mol/L)可以诱导细胞凋亡。有学者认为, 污染物或细胞种类不同引起的MAPK信号通路家族激活方式不同, 而不同的MAPK激活方式导致出现不同的细胞反应^[9], 许多环境污染物的致癌性可能与此有关, 如蛋白磷酸酶2A(protein phosphatase 2A, PP2A)的活性被微囊藻毒素(microcystins, MCs)特异性抑制以后, 多种蛋白质

过磷酸化并失去对MAPK旁路的负调控作用, 从而使细胞接受持续的分裂信号导致细胞无限增殖而致癌^[10]。由此可见, 在不同的刺激因素(如环境化学污染物)或细胞种类差异等因素的作用下, 通过MAPKs各亚类间的相互协调和作用, 会产生不同甚至相反的生物学效应, 即环境化学污染物的种类不同或作用剂量(时间)不同, 或作用于不同细胞, 都会引起不同的细胞结局, 因此在某种程度上, MAPK信号通路的平衡决定了细胞的生存或死亡(图1)。

3 TBT诱导细胞凋亡中MAPK通路及几种重要细胞因子的作用

凋亡是多细胞动物的生命活动过程中不可缺少的环节。细胞凋亡的途径主要可分为三种: 内源性途径(又称为线粒体途径)、外源性途径(又称为死亡受体途径)和内质网途径, 三种途径最后汇聚到同一通路通过激活caspase 3最终致细胞凋亡^[11]。TBT的毒性与其诱导的细胞凋亡密切相关^[12], MAPK通路在其中的作用尤其突出。

3.1 ROS、线粒体、Bax及钙离子的作用

大量研究表明, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)与细胞凋亡密切相关, 而且诱发DNA损伤是ROS引起细胞凋亡最重要的途径之一^[13]。Gennari等^[14]的研究结果证实, TBT可导致细胞中ROS水平的升高和凋亡的发生, 且具有时间和剂量效应。ROS的一个主要作用目标是线粒体, 线粒体在内源性途径中扮演了重要的角色, 它不仅是细胞呼吸链和氧化磷酸化的中心, 也是细胞凋亡调控中心和细胞生命活动控制中心。研究表明, 细胞色素c从线粒体释放是细胞凋亡的关键步骤。本研究小组叶怀庄等^[15]和Liu等^[16]发现, TBT对大鼠和小鼠均造成明显的氧化损伤及DNA损伤, 并可经电镜观察到明显的凋亡小体和线粒体肿胀; 朱欣等^[17-18]发现, TBT可以诱导人羊膜细胞(human amnion cells, FL)、大鼠肝细胞(BRL3A) ROS显著升高导致DNA链断裂发生凋亡; Liu等^[19-20]发现, 天然植物茶多酚和大蒜素能有效降低TBT引起的细胞内ROS升高并减少凋亡小体形成, 也证明了ROS在TBT诱导的细胞凋亡中起着重要作用。

ROS还可以刺激Bax从胞质转位到线粒体膜上, 通过介导细胞色素c的释放从而启动细胞凋亡, Bcl-2家族在细胞凋亡过程中起重要作用, Bcl-2和Bax均属Bcl-2家族, 前者抑制凋亡, 后者促进凋亡^[21]。Bomer等^[8]

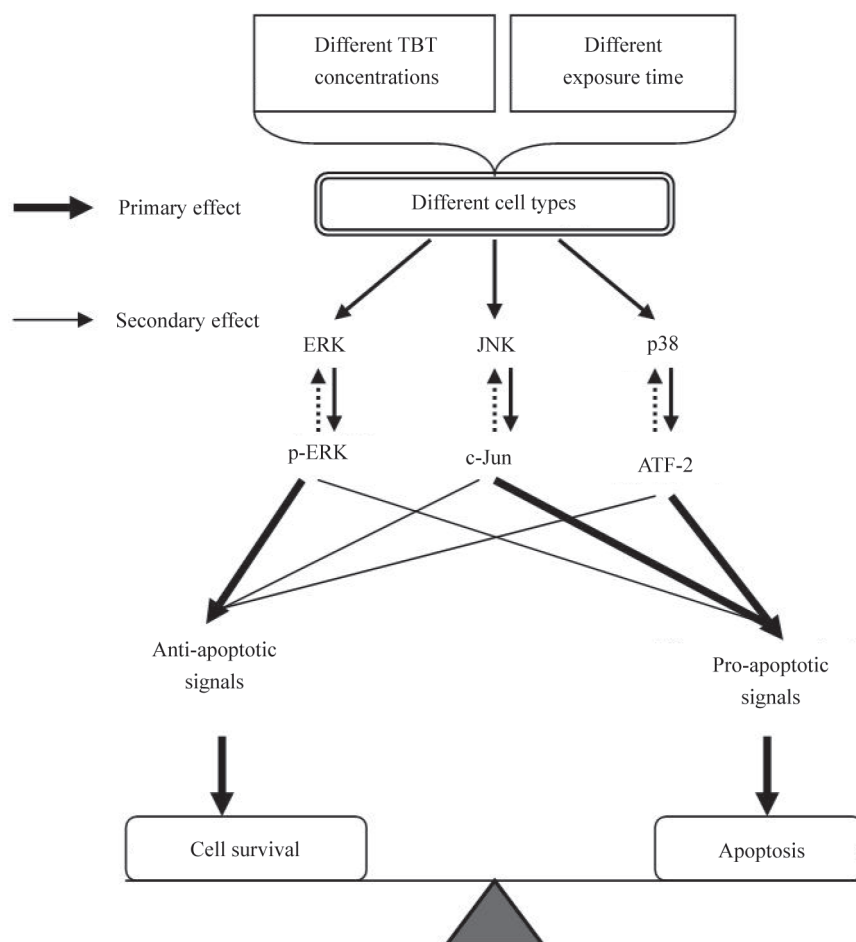


图1 TBT浓度、作用时间或细胞种类不同会引起不同的细胞内应答而导致不同的细胞结局

Fig.1 Different TBT concentrations, exposure time or cell types lead to different intracellular responses and cell endings

及Zhu等^[8]发现, TBT促进FL细胞中Bax的表达、抑制Bcl-2表达, 并且在TBT引起的细胞凋亡过程中细胞骨架损伤与caspase 3的活化同步发生^[8,22], 但对p53蛋白表达量并无显著影响, 提示在TBT诱导的凋亡中可能不受p53的调控。但许多其它毒物诱导的细胞凋亡过程中都能观察到p53的作用, 如本研究小组Fu等^[23]研究证明, 微囊藻毒素LR在诱导BRL3A细胞的Bax表达升高、Bcl-2表达下降的同时也引起p53蛋白表达量明显升高。ROS还可以激活MAPK信号通路, 如Châtel等^[24]发现, TBT诱导海绵细胞内ROS显著升高并激活JNK和p38, 引起caspase 3激活和DNA损伤, 导致细胞凋亡; 他们还发现, TBT引起海洋贻贝细胞内活性氧升高, 激活JNK和p38^[25]。以上研究结果不但说明相同蛋白在不同毒物诱导的不同类型的细胞凋亡途径中作用方式大相径庭, 也表明细胞凋亡受多种因素调节, 是一个极其复杂的过程。

钙离子在TBT诱导的细胞凋亡中也起到重要作用。有学者发现, 人T淋巴细胞暴露于TBT后细胞内钙离子浓度升高, MAPK明显激活导致细胞凋亡^[26]; Bissonnette等^[27]也发现, TBT诱导骨髓B细胞钙离子升高, 钙离子一方面作用于线粒体引起细胞色素c的释放, 另一方面活化钙调素依赖性蛋白激酶II(calmodulin dependent protein kinase II, CaMKII)以及MAPK通路, 后者刺激Bax从胞质转位到线粒体膜上, 引起细胞色素c的释放而导致细胞凋亡。

3.2 PP2A活性与细胞骨架损伤

PP2A是真核生物体内主要的Ser/Thr蛋白磷酸酶, 能使蛋白质脱磷酸, 在细胞代谢、分化、增殖、凋亡及细胞转化等生理过程中具有重要的调节作用。研究证实, PP2A可以激活MAPKs信号通路, 通过对MAPKK、MAPK的去磷酸化对MAPK途径起负调控作用, 从而介导细胞进入静息状态^[28-29]。然

而, PP2A在细胞凋亡中所起的作用往往存在很大争议, 例如有研究证实PP2A有促细胞凋亡作用, 因为它能活化Bcl-2家族中的促凋亡蛋白而抑制该家族中的抗凋亡蛋白^[30-31]; 而与之相反, 一些PP2A抑制剂, 如微囊藻毒素LR、大田软海绵酸等, 却能激活ERK1/2、JNK和(或)p38信号通路而诱导细胞凋亡^[32-33]。总之, 在TBT引起的不同种类细胞的MAPKs活化过程中受到PP2A的调节, 说明PP2A在TBT诱导的细胞凋亡中扮演着重要的角色^[34-35]。Zhang等^[36]发现, TBT使FL细胞的PP2A活性被抑制, JNK和p38被激活, 诱导caspase 3活化并伴细胞骨架损伤导致细胞凋亡, 并且JNK阻断剂明显抑制caspase 3激活。Zhang等^[37]进一步研究证实, TBT有效抑制小鼠肝和脾PP2A活性, 对脾脏PP2A活性的抑制作用更加明显, 而对脑组织PP2A酶活性未产生影响, 同时肝组织ROS升高, ERK、JNK和p38激活, Bax/Bcl-2比值增加, caspase 3被激活而诱导肝细胞发生凋亡。以上研究结果也证实, PP2A在TBT的毒性机理中可能起关键作用。

PP2A不但参与MAPK信号通路的调节, 它还是一种能作用于细胞微管的蛋白磷酸酶。细胞微管是细胞骨架的主要组成部分, 有研究证明PP2A被大田软海绵酸抑制后引起细胞微管解聚, 导致细胞骨架损伤而引起细胞凋亡^[38], 细胞微管解聚引起的细胞凋亡往往还有JNK和(或)p38信号通路的参与^[39]。TBT的细胞毒性也表现为其对细胞骨架的损伤^[40], 因此, PP2A在TBT的细胞毒性中起着重要作用, 它不仅激活JNK/p38, 并且引起细胞骨架损伤而诱导细胞凋亡。

3.3 TBT诱导的凋亡与caspase的依赖关系

caspase在细胞凋亡中发挥着极其重要的作用, 因此有学者将细胞凋亡途径分为两大类: caspase依赖型凋亡和caspase非依赖型凋亡。caspase依赖型凋亡还包括细胞因子诱导或压力诱导这两条途径^[41], 大部分外来刺激诱导的细胞凋亡属于caspase依赖型凋亡。caspase非依赖型凋亡主要包括自体吞噬、类凋亡、有丝分裂灾变、凋亡样程序性死亡、坏死样程序性死亡等。例如当一个细胞的DNA遭受到持续刺激因素的作用或DNA损伤时, 在DNA完全复制或DNA损伤修复之前细胞就可以过早地进入有丝分裂, 引起细胞有丝分裂灾变, 从而导致细胞凋亡^[42]。

TBT能够诱导FL细胞caspase 3酶活性升高并发

生凋亡, 表明TBT诱导的FL细胞凋亡属于caspase依赖型凋亡^[8,36-37], 但现有的研究表明, TBT诱导的细胞凋亡与caspase的依赖关系较为复杂。如有学者发现, TBT既引起RTG2细胞(rainbowtrout gonadal 2) caspase依赖型凋亡, 也引起caspase非依赖型凋亡^[43], 也就是两种凋亡途径同时存在。还有学者发现, TBT诱导的凋亡途径与作用浓度相关: 低浓度(3 mmol/L)TBT作用于贝类细胞后ROS升高, p38通过活化Bcl-xS诱导caspase非依赖型细胞凋亡, 而高浓度(30 mmol/L)TBT作用后细胞内ROS升高、JNK通过活化caspase 3, 诱导caspase依赖型细胞凋亡^[44]; Owuor等^[45]也发现, RTG2细胞暴露于低浓度TBT后JNK不激活, 诱导caspase非依赖型凋亡, 而高浓度TBT下JNK激活, 诱导caspase依赖型凋亡; Nakatsu等^[46]发现, 大鼠PC12细胞暴露于2 $\mu\text{mol/L}$ TBT浓度时, JNK不激活, 暴露于500 nmol/L TBT时JNK激活, 但都诱导caspase依赖型凋亡。以上研究结果提示, 即使是同一种毒物由于作用剂量不同也或细胞种类不同会出现不同的细胞内应答。

3.4 蛋白激酶的作用

几乎所有的细胞内信号通路都是利用蛋白磷酸化产生信号并向远处传递, 蛋白激酶是细胞内最大的蛋白家族之一, 其中对Ser/Thr激酶和Tyr激酶研究得较为清楚。蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)和细胞蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)是重要的Ser/Thr激酶, 这两种激酶参与了多种信号通路的活化或抑制。Abraha等^[47]发现, TBT引起NK细胞p44/42激活必需要PKC活化, 而p38和JNK激活则不需要PKC活化, 并且p44/42激活后NK细胞失去其细胞溶解功能^[48]; 他们还发现, TBT能抑制NK细胞PKA和腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)而降低NK细胞的功能, 而PKA活性降低可以引起p44/42激活升高^[49]。Aluoch等^[50]发现, TBT可以激活p38和p44/42以及它们的上游因子MAP2Ks、MKK3/6和MEK1/2, 然而非受体上游因子蛋白酪氨酸激酶(protein tyrosine kinases, PTKs)并没有激活, 结果提示TBT引起的MAPKs、p38和p44/42的激活是分别由于它们的上游因子MAP2Ks、MKK3/6和MEK1/2的激活引起的。

4 小结

综上所述, TBT引起的凋亡相关的细胞内信号通

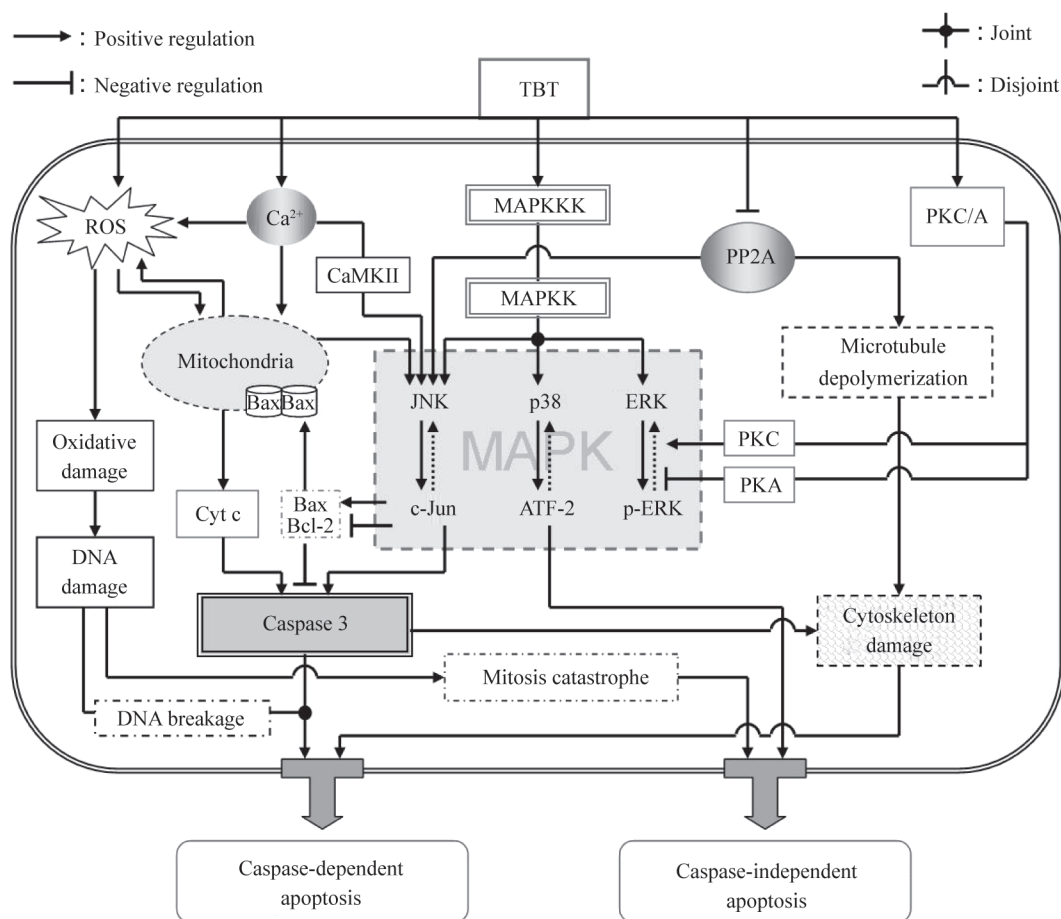


图2 三丁基锡引起的凋亡相关细胞内集成式信号应答反应

Fig.2 Apoptosis related integrated intracellular signal pathways response induced by TBT

路应答十分复杂, 各种细胞因子及它们之间的作用关系构成类似“集成电路”样网络式分子反应(图2), 各种“细胞元件”, 如ROS、线粒体、PP2A、casepase及蛋白激酶等, 组成了细胞内一个个相对独立、又互相关联的“反应模块”, 如本文所述的“ROS、线粒体、Bax钙离子”模块; “PP2A、细胞骨架损伤”模块; “蛋白激酶(C/A)”模块等, 而MAPK家族则毫无疑问是这个“集成电路”中的“核心元件”, 起到了调节枢纽作用。事实上, 就TBT而言, 其引起的细胞内信号通路远比文中所描述的“集成电路”样应答复杂得多, 因为可能还有未曾被发现的信号途径, 即使是已经发现的细胞信号通路, 在不同的细胞、不同的外来刺激作用下其变化也很大。

从TBT引起的细胞内信号通路转导的集成式网络反应现象可以推断, 构建污染物作用引起的特征性细胞内应答网络, 不仅可从细胞动态的集成式分子变化来描述污染物可能的作用机制, 对于建立可用于污

染物危害性评价的综合性生物标志物也有重要价值。

参考文献 (References)

- 1 Fent K. Ecotoxicology of organotin compounds. Crit Rev Toxicol 1996; 26(1): 1-117.
- 2 江桂斌, 刘稷燕, 周群芳, 吴迪靖. 我国部分内陆水域有机锡污染现状初探. 环境科学学报(Jiang Guibin, Liu Jiyan, Zhou Qunfang, Wu Dijing. Preliminary studies on the occurrence of organotins in Chinese inland water system. Acta Scientiae Circumstantiae) 2009; 20(5): 636-8.
- 3 刘慧刚, 徐立红. 三丁基锡毒性作用生物标记研究进展. 中华预防医学杂志(Liu Huigang, Xu Lihong. Review of research on the bio-markers of toxic effects of tributyltin. Chin J Prev Med) 2005; 39(4): 288-9.
- 4 Schaeffer HJ, Weber MJ. Mitogenactivated protein kinases: Specific messages from ubiquitous messengers. Mol Cell Biol 1999; 19(4): 2435-44.
- 5 Cobb MH, Goldsmith EJ. How MAP kinases are regulated. J Biol Chem 1995; 270(25): 14843-6.
- 6 Aluoch AO, OdmanGhazi SO, Whalen MM. Pattern of MAP kinases p44/42 and JNK activation by nonlethal doses of tributyltin in human natural killer cells. Arch Toxicol 2007; 81(4): 271-7.

- 7 Aluoch A, Whalen M. Tributyltin-induced effects on MAP kinases p38 and p44/42 in human natural killer cells. *Toxicology* 2005; 209(3): 263-77.
- 8 Zhu X, Xing M, Lou J, Wang X, Fu W, Xu L. Apoptotic related biochemical changes in human amnion cells induced by tributyltin. *Toxicology* 2007; 230(1): 45-52.
- 9 Matsuoka M, Igisu H. Effects of heavy metals on mitogenactivated protein kinase pathways. *Environ Health Prev Med* 2002; 6(4): 210-7.
- 10 Zhu Y, Zhong X, Zheng S, Ge Z, Du Q, Zhang S. Transformation of immortalized colorectal crypt cells by microcystin involving constitutive activation of Akt and MAPK cascade. *Carcinog* 2005; 26(7): 1207-14.
- 11 Dasmahapatra G, Almenara JA, Grant S. Flavopiridol and histone deacetylase inhibitors promote mitochondrial injury and cell death in human leukemia cells that over express Bcl2. *Mol Pharmacol* 2006; 69(1): 288-9.
- 12 朱 欣, 徐立红. 三丁基锡诱导细胞凋亡的机制. 环境与健康杂志(Zhu Xin, Xu Lihong. Mechanism of tributyltin-induced apoptosis. *J Environ Health*) 2005; 22(2): 155-8.
- 13 Sastre J, Pallardo FV, Vina J. Mitochondrial oxidative stress plays a key role in aging and apoptosis. *IUBMB Life* 2000; 49(5): 427-35.
- 14 Gennari A, Viviani B, Galli CL, Marinovich M, Pieters R, Corsini E. Organotins induce apoptosis by disturbance of $[Ca(2+)](i)$ and mitochondrial activity, causing oxidative stress and activation of caspases in rat thymocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 169(2): 185-90.
- 15 叶怀庄, 邢鸣鸾, 钱 江, 俞智勇, 徐立红. 三丁基锡对小鼠脏器组织总氧自由基清除能力的影响. 环境与健康杂志(Ye Huaizhuang, Xing Mingluan, Qian Jiang, Yu Zhiyong, Xu Lihong. Effect of tributyltin on total oxyradical scavenging capacity in mice viscera tissues. *J Environ Health*) 2005; 22(3): 185-6.
- 16 Liu HG, Wang Y, Lian L, Xu LH. Tributyltin induces DNA damage as well as oxidative damage in rats. *Environ Toxicol* 2006; 21(2): 166-71.
- 17 朱 欣, 徐立红. 三丁基锡引起人羊膜细胞氧化损伤及DNA损伤的研究. 癌变 畸变 突变(Zhu Xin, Xu Lihong. Study of oxidative damage and DNA damage in FL cells induced by tributyltin. *Carcinogenesis Teratogenesis & Mutagenesis*) 2008; 4: 299-302.
- 18 朱 欣, 傅文字, 王晓峰, 徐立红. 三丁基锡对 BRL3A 细胞活力以及凋亡的影响. 毒理学杂志(Zhu Xin, Fu Wenyu, Wang Xiaofeng, Xu Lihong. Cell viability and apoptosis affected by tributyltin in BRL3A cells. *J Toxicology*) 2006; 1(20): 25-6.
- 19 Liu HG, Guo ZL, Xu LH, Hsu S. *Environ Toxicol*. Protective effect of green tea polyphenols on tributyltin-induced oxidative damage detected by *in vivo* and *in vitro* models. *Environ Toxicol* 2008; 23(1): 77-83.
- 20 Liu HG, Xu LH. Garlic oil prevents tributyltin-induced oxidative damage *in vivo* and *in vitro*. *J Food Prot* 2007; 70(3): 716-21.
- 21 Harris MH, Thompson CB. The role of the Bcl2 family in the regulation of outer mitochondrial membrane permeability. *Cell Death Differ* 2000; 7(2): 1182-91.
- 22 Borner C. The Bcl2 protein family: Sensors and checkpoints for life or death decisions. *Mol Immunol* 2003; 39(11): 615-47.
- 23 Fu WY, Chen JP, Wang XM, Xu LH. Altered expression of p53, Bcl-2 and Bax induced by microcystin-LR *in vivo* and *in vivo*. *Toxicol* 2005; 46(2): 171-7.
- 24 Châtel A, Talarmin H, Hamer B, Schröder HC, Müller WE, Dorange G. MAP kinase cell signaling pathway as biomarker of environmental pollution in the sponge *Suberites domuncula*. *Ecotoxicology* 2011; 20(8): 1727-40.
- 25 Châtel A, Hamer B, Talarmin H, Dorange G, Schröder HC, Müller WE. Activation of MAP kinase signaling pathway in the mussel *Mytilus galloprovincialis* as biomarker of environmental pollution. *Aquat Toxicol* 2010; 96(4): 247-55.
- 26 Yu ZP, Matsuoka M, Wispriyono B, Iryo Y, Igisu H. Activation of mitogenactivated protein kinases by tributyltin in CCRFCM cells: role of intracellular $Ca(2+)$. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 168(3): 200-7.
- 27 Bissonnette SL, Haas A, Mann KK, Schlezinger JJ. The role of CaMKII in calciumactivated death pathways in bone marrow B cells. *Toxicol Sci* 2010; 118(1): 108-18.
- 28 Junttila MR, Li SP, Westermarck J. Phosphatase-mediated cross-talk between MAPK signaling pathways in the regulation of cell survival. *FASEB J* 2008; 22(4): 954-65.
- 29 Sundaresan P, Farndale RW. P38 mitogen-activated protein kinase dephosphorylation is regulated by protein phosphatase 2A in human platelets activated by collagen. *FEBS Lett* 2002; 528(1/2/3): 139-44.
- 30 van Hoof C, Goris J. Phosphatases in apoptosis: To be or not to be. PP2A is in the heart of the question. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1640(2/3): 97-104.
- 31 Garcia A, Cayla X, Guernon J, Dessauge F, Hospital V, Rebollo MP, *et al*. Serine/threonine protein phosphatases PP1 and PP2A are key players in apoptosis. *Biochimie* 2003; 85(8): 721-6.
- 32 Yoon S, Choi J, Yoon J, Huh JW, Kim D. Okadaic acid induces JNK activation, bim over expression and mitochondrial dysfunction in cultured rat cortical neurons. *Neurosci Lett* 2006; 394(3): 190-5.
- 33 Li W, Xie L, Chen Z, Zhu Y, Sun Y, Miao Y, *et al*. Cantharidin, a potent and selective PP2A inhibitor, induces an oxidative stress-independent growth inhibition of pancreatic cancer cells through G₂/M cell-cycle arrest and apoptosis. *Cancer Sci* 2010; 101(5): 1226-33.
- 34 Aluoch AO, OdmanGhazi SO, Whalen MM. Pattern of MAP kinases p44/42 and JNK activation by nonlethal doses of tributyltin in human natural killer cells. *Arch Toxicol* 2007; 81(4): 271-7.
- 35 Nakatsu Y, Kotake Y, Ohta S. Concentration dependence of the mechanisms of tributyltin-induced apoptosis. *Toxicol Sci* 2007; 97(2): 438-47.
- 36 Zhang Y, Liang J, Sun L, Guo Z, Xu L. Inhibition of PP2A and the consequent activation of JNK/cJun are involved in tributyltin-induced apoptosis in human amnionic cells. *Environ Toxicol* 2011; doi: 10.1002/tox.20730.
- 37 Zhang Y, Chen Y, Sun L, Liang J, Guo Z, Xu L. Protein phosphatases 2A as well as reactive oxygen species involved in tributyltin-induced apoptosis in mouse livers. *Environ Toxicol* 2012; doi: 10.1002/tox.21751..
- 38 Tar K, Csontos C, Czékora I, Olah G, Ma SF, Wadgaonkar R, *et al*. Role of protein phosphatase 2A in the regulation of endothelial cell cytoskeleton structure. *J Cell Biochem* 2006; 98(4): 931-53.
- 39 Chen TH, Pan SL, Guh JH, Liao CH, Huang DY, Chen CC, *et al*. Moscatilin induces apoptosis in human colorectal cancer cells:

- A crucial role of c-Jun NH₂-terminal protein kinase activation caused by tubulin depolymerization and DNA damage. Clin Cancer Res 2008; 14(13): 4250-8.
- 40 Rodríguez-Ortega MJ, Grøsvik BE, Rodríguez-Ariza A, Goksøyr A, López-Barea J. Changes in protein expression profiles in bivalve molluscs (*Chamaelea gallina*) exposed to four model environmental pollutants. Proteomics 2003; 3(8): 1535-43.
- 41 Lassus P, OpitzAraya X, Lazebnik Y. Requirement for caspase-2 in stress-induced apoptosis before mitochondrial permeabilization. Science 2002; 297(5585): 1352-4.
- 42 Chan TA, Hermeking H, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. 14-3-3Sigma is required to prevent mitotic catastrophe after DNA damage. Nature 1999; 401(6753): 616-20.
- 43 Urushibara N, Mitsuhashi S, Sasaki T, Kasai H, Yoshimizu M, Fujita H, *et al.* JNK and p38 MAPK are independently involved in tributyltinmediated cell death in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) RTG2 cells. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 2009; 149(4): 468-75.
- 44 Châtel A, Hamer B, Jakšić Z, Vucelić V, Talarmin H, Dorange G, *et al.* Induction of apoptosis in mussel *Mytilus galloprovincialis* gills by model cytotoxic agents. Ecotoxicology 2011; 20(8): 2030-41.
- 45 Owuor ED, Kong AN. Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. Biochem Pharmacol 2002; 64(5/6): 765-70.
- 46 Nakatsu Y, Kotake Y, Ohta S. Concentration dependence of the mechanisms of tributyltin-induced apoptosis. Toxicol Sci 2007; 97(2): 438-47.
- 47 Abraha AB, Rana K, Whalen MM. Role of protein kinase C in TBT-induced inhibition of lytic function and MAPK activation in human natural killer cells. Arch Environ Contam Toxicol 2010; 59(4): 661-9.
- 48 Abraha AB, Whalen MM. The role of p44/42 activation in tributyltininduced inhibition of human natural killer cells: Effects of MEK inhibitors. J Appl Toxicol 2009; 29(2): 165-73.
- 49 Whalen MM, OdmanGhazi SO. Effects of adenylyl cyclase and protein kinase A inhibition on signaling enzymes in natural killer cells: Comparison to tributyltin. Hum Exp Toxicol 2006; 25(6): 333-40.
- 50 Aluoch AO, OdmanGhazi SO, Whalen MM. Alteration of an essential NK cell signaling pathway by low doses of tributyltin in human natural killer cells. Toxicology 2006; 224(3): 229-37.