

六价铬的细胞毒理效应及其机制研究进展

金立方 袁翊朦 胡祎瑞 倪 坚*

(绍兴文理学院生命科学院, 绍兴 312000)

摘要 六价铬[Cr(VI)]是一种普遍存在于土壤、大气与水环境中的污染物, 可通过呼吸道、消化道及皮肤接触进入人体, 产生直接或间接的毒性作用。该文着眼于近年来的研究进展, 从Cr(VI)导致胞内活性氧累积效应、诱发细胞凋亡、导致细胞癌变、毒理效应的基因组学研究等几方面, 论述了Cr(VI)对人体和动物的细胞毒理效应及其作用机制。随着研究的深入, 从基因组水平研究Cr(VI)毒理效应成为新的热点。

关键词 六价铬; 细胞毒理; 活性氧; 凋亡; 癌变

Research Progress in Cytotoxicity and Mechanism of Hexavalent Chromium

Jin Lifang, Yuan Yimeng, Hu Yirui, Ni Jian*

(College of Life Science, Shaoxing University, Shaoxing 312000, China)

Abstract The hexavalent chromium [Cr(VI)] is a common contaminant found in soil, air and water. It can be ingested via digestive tract, respiratory tract and skin contact, and directly or indirectly cause severe health problems in humans. This review summarizes the recent research progress in the effect and the mechanism of Cr(VI)-induced cytotoxicity, such as reactive oxygen species (ROS) accumulation, cell apoptosis, carcinogenesis, and so on. The future exploration of Cr(VI) cytotoxicity should focus on its molecular mechanisms at the genomic level.

Key words hexavalent chromium; cytotoxicity; reactive oxygen species; apoptosis; carcinogenesis

1 引言

20世纪以来, 重金属铬在电镀、制革、染料、颜料、有机合成、石化、木材加压制作等领域得以广泛应用, 与之相伴的铬污染问题也越来越严重。近年来, 铬污染事件在世界各地均有发生, 2012年“毒胶囊事件”使得铬污染及其对人体的危害再度成为公众关注的焦点。

铬在自然界中的迁移十分活跃, 可以通过大气(气溶胶和粉尘)、水和生物链来传递。由于铬的累

积性和生物链浓缩富集的特点, 散布在大气、水体和土壤中的铬化合物被动植物吸收后, 会直接或间接进入人体, 对组织器官造成损伤^[1]。环境中的铬以无机铬和有机铬两种主要形态存在。其中, 无机铬的含量远比有机铬大得多。除金属铬外, 无机铬中常见的形态为三价铬Cr(III)和六价铬Cr(VI)。Cr(III)是人体和动物必需的微量元素, 参与人体多种代谢活动, 且较难透过细胞膜, 毒性较小, 因此铬的毒理研究主要集中在Cr(VI)化合物上^[2]。自然界中的

收稿日期: 2012-10-30 接受日期: 2012-12-10

浙江省自然科学基金(批准号: Y2110911)资助的课题

*通讯作者。Tel/Fax: 0575-88345007, E-mail: nijian@usx.edu.cn

Received: October 30, 2012 Accepted: December 10, 2012

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No. Y2110911)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-575-88345007, E-mail: nijian@usx.edu.cn

网络出版时间: 2013-03-04 16:15

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130304.1615.011.html>

Cr(VI)主要以铬酸根及重铬酸根的形式存在,可以通过细胞膜上非特异性的阴离子通道迅速进入细胞内。Cr(VI)对人体及动物的毒性作用有多种表现,最常见的包括引起肝肾损伤与恶性肿瘤。除此之外,皮肤接触Cr(VI)可发生铬性皮炎和湿疹,通过呼吸道进入的Cr(VI)可导致鼻中隔溃疡、鼻出血、肺癌等,通过消化道摄入过量的Cr(VI)会引起恶心、胃肠道病变、痉挛,甚至导致死亡^[3-4]。早期对Cr(VI)的毒理作用的研究集中于临床病理改变、生理生化障碍及生物大分子损伤等方面,包括Cr(VI)对器官的损伤及引起的组织病变、Cr(VI)的体内代谢过程及Cr(VI)引起的染色体畸变与DNA单链损伤等细胞遗传毒性作用。随着更多分子与细胞研究技术在毒理学研究中的应用,人们对Cr(VI)引起的细胞毒理效应有了新的认识,本文就近年来Cr(VI)的细胞毒理效应及其机制的研究进展做一简要综述。

2 Cr(VI)与活性氧(reactive oxygen species, ROS)

活性氧(ROS)包括氧自由基如超氧阴离子、羟自由基以及过氧化氢和单线态氧等,这些物质有较强的氧化能力,具有比分子氧更加活泼的化学反应性质,需氧细胞在代谢反应和外界环境因子的刺激下能够产生ROS^[5]。

细胞水平的研究表明, Cr(VI)进入细胞后,在细胞内被还原为低价态铬,在此过程中产生大量的ROS。ROS在胞内累积是Cr(VI)细胞毒理效应的关键因素^[4]。

近年来的研究表明, Cr(VI)可通过降低胞内抗氧化酶活性、促进ROS合成相关酶类表达及干扰线粒体能量传递等方式导致细胞内ROS累积。

2.1 消解ROS的酶类活性下降

细胞内存在抗氧化系统,多种酶类与多肽具有消除ROS的作用,如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH), 硫氧还蛋白及其还原酶等(thioredoxin/thioredoxin reductase, Trx/TrxR)等,只有当细胞内的还原系统不足以清除新产生的ROS时,才会导致胞内ROS水平提高^[5]。生理研究显示, Cr(VI)进入动物体后可导致包括肝组织、表皮组织在内的多种组织中SOD、CAT活性, GSH/GSSH比值出现明显下降^[6]。在细胞水平上, Cr(VI)

染毒后的人支气管上皮细胞BEAS-2B中, TrxR活性被抑制, Trx氧化水平提高^[7]。以上结果表明, Cr(VI)在还原过程中消耗了大量胞内还原酶,打破了体内氧化还原平衡,导致胞内抗氧化系统受损,从而产生ROS累积效应。Wang等^[8]发现,在小鼠大肠癌相关的肠癌细胞中, Cr(VI)还导致SOD及CAT蛋白表达水平下降,说明Cr(VI)不只消耗胞内成熟的抗氧化酶类,还干扰此类酶的表达。

2.2 ROS合成相关的酶类表达水平提高

ROS除了作为有氧代谢的副产品,同时也可以作为第二信使,调节细胞正常生理活动,体内多种信号能刺激胞内产生ROS,如生长因子、细胞因子等^[5]。胞内存在合成ROS的酶系——NADPH氧化酶(NADPH oxidase, NOX)。NOX位于多种细胞质膜上,带有细胞色素C和FAD基团,由gp91^{phox}、p22^{phox}、p47^{phox}、p67^{phox}、p40^{phox}和Rac六种亚基组成^[9]。在BEAS-2B细胞中, Cr(VI)染毒后可导致NOX的多个亚基的表达水平有明显提升,同时, p47^{phox}磷酸化水平提高,并转移到膜上^[10]。说明Cr(VI)除在还原过程中直接产生ROS外,还可促进细胞合成新的ROS。

2.3 干扰线粒体能量传递

线粒体是胞内氧化反应的中心,线粒体通过电子传递链将电子传递给氧,并制造ATP。Yuan等^[11]和Xiao等^[12]对Cr(VI)影响人胚肝细胞L-02的线粒体能量代谢机制进行了系统研究,结果表明, Cr(VI)可以通过阻遏线粒体细胞呼吸链I(mitochondrial respiratory chain complex I, MRCC I)的电子传递作用造成ROS累积,有意思的是,在L-02细胞中, SOD、CAT等抗氧化酶类的表达水平没有明显改变。说明在不同的细胞中, Cr(VI)导致ROS累积的机制有所不同。

3 Cr(VI)诱导细胞凋亡及其机制

细胞凋亡是Cr(VI)造成器官损伤的主要原因之一。已有的研究表明, Cr(VI)可通过多种机制诱导细胞凋亡, ROS在Cr(VI)导致的细胞凋亡中扮演着重要角色。根据诱导机制的差异, Cr(VI)诱导的细胞凋亡大致可分为p53依赖性细胞凋亡与p53非依赖性细胞凋亡两类。

3.1 Cr(VI)诱导p53依赖性细胞凋亡

早期在多种细胞中进行的研究就已表明,较高浓度的Cr(VI)进入细胞内,可通过ROS造成DNA损

伤, 激活p53蛋白, 诱导细胞凋亡^[13]。近期的研究发现, Cr(VI)也可通过干扰胞内能量代谢过程激活p53介导的细胞凋亡。如在肝细胞L-02中, 50 $\mu\text{mol/L}$ Cr(VI)诱导线粒体主呼吸链电子漏增加, 抑制MRCC I的电子传递过程, 造成胞内ATP水平下降, 激活p53蛋白^[14]。

Cr(VI)对p53蛋白的激活作用体现在多方面: 一方面, Cr(VI)可通过对p53翻译后修饰的调节, 如导致p53蛋白磷酸化、提高p53蛋白活性并提高其稳定性, 造成p53蛋白在胞内积累^[13]; 另一方面, Cr(VI)可上调p53的转录水平^[15-16]; 另外, Cr(VI)产生的ROS还可通过p53蛋白富含半胱氨酸的氧化还原敏感元件, 调节p53转录调控活性, 引起细胞凋亡相关基因转录水平发生变化^[13]。

p53蛋白被激活后, 可通过多种方式引发细胞凋亡: 一方面, p53蛋白可导致细胞周期阻遏, 如在肝细胞L-02中, 较低浓度Cr(VI)(4 $\mu\text{mol/L}$)导致细胞被阻遏于G₁/S期, 高浓度Cr(VI)(16, 32 $\mu\text{mol/L}$)导致细胞被阻遏于G₂/M期^[14], 细胞周期阻遏后, 如损伤无法在短时间内修复, 则引发细胞凋亡; 另一方面, 激活后的p53可通过影响下游凋亡相关蛋白活性及转录水平引发细胞凋亡, 如在小鼠肝脏中, p53可上调*bax*(*bcl-2* associated X protein)基因转录水平, 促使线粒体释放出凋亡诱导因子, 诱导细胞凋亡的发生^[16]。

3.2 Cr(VI)诱导p53非依赖性细胞凋亡

研究发现, 在p53缺陷型细胞中, Cr(VI)同样可以诱导凋亡的发生, 说明Cr(VI)可通过p53非依赖性凋亡途径诱导细胞凋亡。

线粒体可能在Cr(VI)诱导的p53非依赖性细胞凋亡中发挥作用, Cr(VI)可导致线粒体膜通透性、线粒体跨膜电位、线粒体总酶活性等方面有明显改变, 造成线粒体损伤, 引起线粒体内促凋亡因子如细胞色素C的释放, 从而引发Caspase(cysteinyI aspartate specific proteinase)蛋白酶级联反应, 最终导致细胞凋亡^[17]。

Cr(VI)介导产生的ROS与另一个胞内重要的第二信使Ca²⁺也有密切联系, 一定浓度ROS可促进胞内光面内质网上的钙离子通道打开, 导致胞内Ca²⁺浓度提高, Ca²⁺可通过Ca²⁺-Calpain-线粒体-Caspase级联途径, 引起细胞凋亡^[18]。

在大鼠粒层细胞中还发现, 10 $\mu\text{mol/L}$ 的重铬酸钾引起细胞周期依赖的蛋白激酶、周期蛋白与增殖

细胞核抗原的表达下降以及周期蛋白激酶抑制蛋白的表达水平提高, 从而导致细胞周期阻遏, 并诱导细胞凋亡的发生^[19]。

除此之外, Cr(VI)还可通过抑制胞内Hsp70(heat shock protein 70)与Hsp90(heat shock protein 90)蛋白活性, 直接激活Caspase3, 引发细胞凋亡^[12]。

目前, 研究了解较为清楚的Cr(VI)诱导细胞凋亡机制, 无论是p53依赖性细胞凋亡与p53非依赖性细胞凋亡, 最终均通过激活Caspase3导致细胞凋亡^[12,16-18]。

4 Cr(VI)导致细胞癌化及其机制

细胞癌化是Cr(VI)造成的另一种重要毒理效应, 在人体职业病调查与病理研究中, Cr(VI)已被证实能引起肺癌, 1990年国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)将Cr(VI)化合物定为人类确定致癌物。在动物实验中发现, 接受紫外线照射的裸鼠饮用含Cr(VI)的水会增加患皮肤癌的几率^[20], 饮用水含重铬酸钠超过172 mg/L的大鼠会发生口腔黏膜肿瘤, 饮用水含重铬酸钠超过57.3 mg/L的小鼠会引发小肠肿瘤^[21]。但在人体中是否引起肠癌或皮肤癌的证据尚不够充分。Cr(VI)致癌机制还未完全清楚, 根据已有的研究推测有几种可能的机制, 具体介绍如下。

4.1 Cr(VI)还原产物作用于DNA

Cr(VI)进入细胞后立即与细胞内的还原物质发生还原反应, 进而生成可与蛋白质或DNA作用的低价态Cr, 包括Cr(V)、Cr(IV)及Cr(III)。Cr(III)含有六个配位点, Cr(III)与DNA的磷酸骨架及鸟嘌呤的N-7原子共价结合, 形成Cr(III)-DNA加合物, 该加合物的形成中和了DNA中磷酸基团的电负性, 导致DNA螺旋结构的改变, 进而影响DNA复制的精确性, 同时, 该加合物不易被修复和重组^[22]。蛋白质或氨基酸还可结合Cr-DNA加合物形成三联化合物, 也是引起基因突变并进而引起细胞癌变的一个重要原因^[23]。

4.2 ROS导致DNA损伤

ROS对Cr(VI)的致癌性起着重要作用。ROS氧化DNA所导致的一项重要损伤是碱基的氧化。ROS中的羟自由基除了能使2'-脱氧鸟苷(dG)羟基化形成8-羟基-2'-脱氧鸟苷(8-OHdG)外, Cr的氧化中间产物Cr(V)过氧化复合物也可导致8-OHdG的产生。产生的8-OHdG抑制DNA修复活性, 造成

DNA突变^[24]。在动物研究中发现, Cr(VI)可引起大鼠肺组织p53基因外显子7的DNA损伤, 产生两个损伤点, 这两个位点的DNA损伤可能是Cr(VI)导致肺癌的原因之一^[25]。

4.3 通过信号转导途径, 影响癌基因转录水平及癌蛋白活性

Cr(VI)可以激活细胞内多条与细胞增殖相关的信号通路, 活化相关转录因子, 产生刺激细胞增殖的效应。在Cr(VI)灌喂后的大鼠胃肠道系统中, 发现RKIP(raf kinase inhibitor protein)、galectin、c-myc的表达量上调, 而p53与Rho-GDI α (rho guanine dissociation inhibitor α)的表达水平下降^[26]。在小鼠结肠癌细胞的研究中发现, Cr(VI)导致胞内Wnt(Wingless-type MMTV integration site family members)信号转导途径中的核心因子catenin浓度提高, 从而产生促进细胞增殖效应, 这一作用可能通过ROS介导^[8]。线粒体上的凋亡抑制蛋白bcl-2(B cell lymphoma/leukemia-2)在Cr(VI)引起的细胞癌化过程中也有重要作用, Medan等^[27]发现, Cr(VI)可引起人肺上皮细胞一氧化氮产生水平提高, 从而稳定bcl-2, 抑制细胞凋亡。Cr(VI)还可导致肺上皮细胞中bcl-2表达水平上调, 引起细胞癌变^[28]。

4.4 表观遗传改变

研究发现, 几种形式的表观遗传改变与Cr(VI)引发的细胞癌化有关, 包括microRNAs、组蛋白修饰与DNA甲基化^[29]。Klein等^[30]最早报道了铬酸钠诱导gpt报告基因异常甲基化, 导致gpt基因表达被抑制。之后, 在Cr(VI)引起的肺癌病人体内也发现了多个与DNA修复相关的基因和抑癌基因被甲基化, 如DNA错配修复基因hMLH1(human MutL homolog1)、抑癌基因p16等^[31-32]。在体外小鼠肝癌细胞系hepatic1c7中发现, Cr(VI)处理导致组蛋白H3、H4多个位点被磷酸化及甲基化, 抑制低氧诱导因子HIF-1 β (hypoxia-inducible factor-1 β)的表达^[33]。Sun等^[34]研究也发现, 在肺癌细胞A549中, 组蛋白甲基化与hMLH1基因的转录抑制相关。综合上述结果可以得出结论, Cr(VI)可通过表观遗传修饰作用调节基因表达, 使细胞发生转化, 引发肿瘤。

5 从基因组水平研究Cr(VI)毒理效应

Cr(VI)的细胞毒理效应有相当的复杂性, 在不同生物体或同种生物的不同细胞及组织中Cr(VI)可

以产生出完全不同的毒性作用, 说明其毒理效应及作用机制与细胞及生物体遗传背景有密切关系。因此, 从单一基因或信号通路角度很难全面认识与评价其毒理效应。从基因组水平观察细胞对Cr(VI)的应答可能能够获得新的线索。

Kopec等^[37]通过用含不同浓度Cr(VI)的饮用水对小鼠灌喂7天与90天后, 利用基因芯片对小肠上皮组织基因表达谱进行了分析, 结果表明, Cr(VI)处理导致氧应激相关基因、细胞周期调控基因、细胞凋亡相关基因及免疫应答基因表达水平有明显改变, 部分基因表达水平表现出剂量效应。结果显示, 氧化应激及细胞毒性作用是Cr(VI)导致小鼠肠癌的早期关键因素。Kopec等^[38]还进一步比较了大鼠与小鼠小肠上皮组织在Cr(VI)染毒后基因表达谱变化的差异, 结果发现, 同样浓度的Cr(VI)染毒91天后, 造成小鼠3 484个基因差异表达, 而在大鼠中只引起1 504个基因出现差异表达。差异基因的功能分类也有较大差异, 可以部分解释在小鼠中能引起肠癌的Cr(VI)浓度对大鼠未产生同样效应。

Sun等^[39]建立了Cr(VI)长期低浓度染毒后转化的BEAS-2B细胞系, 与正常BEAS-2B细胞相比, 有409个基因出现明显差异表达(差异倍数>2), 大部分在过去的Cr(VI)毒理研究中没有被发现, 这一细胞模型对研究Cr(VI)慢性毒理机制有重要意义。

6 小结与展望

综上所述, Cr(VI)进入细胞后可以通过损伤生物大分子、激活信号转导途径、调节转录因子活性、改变表观遗传状态等多种方式, 引发多种多样的细胞毒理效应, ROS在此过程中扮演关键角色(图1)。Cr(VI)的细胞毒理效应是其导致器官损伤及恶性肿瘤等多种临床疾病的基础。

近年来, 由于铬污染的蔓延, 非职业人群接触Cr(VI)的风险有所增大, 与职业人群不同, 非职业人群在日常生活中接触Cr(VI)表现为浓度低、接触时间不确定等特征。

目前的细胞毒理研究往往从可见的细胞毒理效应出发研究Cr(VI)对细胞的损伤, 难以正确评估长期接触低浓度Cr(VI)对机体造成的可能损伤。毒理基因组学从全基因组的角度, 检测Cr(VI)对细胞基因表达水平的影响, 即使细胞水平上尚未表现出明显表型改变, 也可以发现Cr(VI)产生的毒理效应,

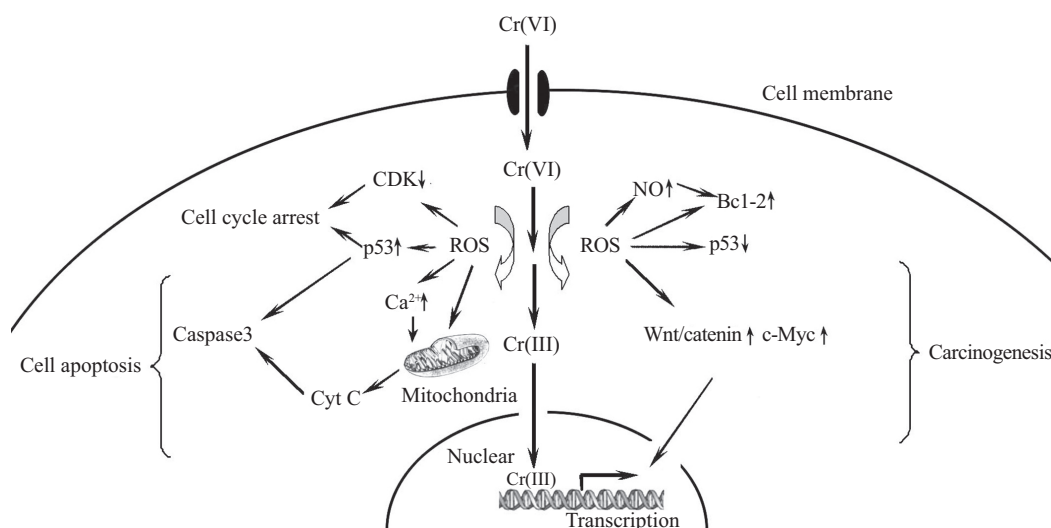


图1 六价铬的细胞毒理效应

Fig.1 Cytotoxicity of hexavalent chromium

更有利于全面认识Cr(VI)的潜在危害,并有助于阐明Cr(VI)产生的多种细胞毒理效应的分子机制。相信对毒理基因组学的研究将有可能推动对Cr(VI)毒理效应及其机制的认识迈上一个新的台阶。

参考文献 (References)

- Theopold KH. Chromium: Inorganic and Coordination Chemistry, in Encyclopedia of Inorganic Chemistry. New York: John Wiley & Sons, 1997, 666-78.
- Levina A, Lay PA. Chemical properties and toxicity of chromium(III) nutritional supplements. Chem Res Toxicol 2008; 21(3): 563-71.
- Rowbotham AL, Levy LS, Shukcr LK. Chromium in the environment: An evaluation of exposure of the UK general population and possible adverse health effects. J Toxicol Environ Health B Crit Rev 2000; 3(3): 145-78.
- Zhitkovich A. Chromium in drinking water: Sources, metabolism, and cancer risks. Chem Res Toxicol 2011; 24(10): 1617-29.
- 景亚武, 易 静, 高 飞, 汤雪明. 活性氧: 从毒性分子到信号分子—活性氧与细胞的增殖、分化和凋亡及其信号转导途径. 细胞生物学杂志(Jing Yawu, Yi Jing, Gao Fei, Tang Xueming. Chinese Journal of Cell Biology) 2003; 25(4): 197-202.
- Lee IC, Kim SH, Shin IS, Moon C, Park SH, Kim SH, *et al.* Protective effects of pine bark extract on hexavalent chromium-induced dermatotoxicity in rats. Phytother Res 2012; 26(10): 1534-40.
- Myers JM, Antholine WE, Myers CR. The intracellular redox stress caused by hexavalent chromium is selective for proteins that have key roles in cell survival and thiol redox control. Toxicology 2011; 281(1): 37-47.
- Wang X, Mandal AK, Saito H, Pulliam JF, Lee EY, Ke ZJ, *et al.* Arsenic and chromium in drinking water promote tumorigenesis in a mouse colitis-associated colorectal cancer model and the potential mechanism is ROS-mediated Wnt/β-catenin signaling pathway. Toxicol Appl Pharmacol 2012; 262(1): 11-21.
- Lambeth JD, Cheng G, Arnold RS, Edens WA. Novel homologs of gp91phox. Trends Biochem Sci 2000; 25(10): 459-61.
- Wang X, Son YO, Chang Q, Sun L, Hitron JA, Budhreja A, *et al.* NADPH oxidase activation is required in reactive oxygen species generation and cell transformation induced by hexavalent chromium. Toxicol Sci 2011; 123(2): 399-410.
- Yuan Y, Ming Z, Gong-Hua H, Lan G, Lu D, Peng L, *et al.* Cr(VI) induces the decrease of ATP level and the increase of apoptosis rate mediated by ROS or VDAC1 in L-02 hepatocytes. Environ Toxicol Pharmacol 2012; 34(2): 579-87.
- Xiao F, Li Y, Dai L, Deng Y, Zou Y, Li P, *et al.* Hexavalent chromium targets mitochondrial respiratory chain complex I to induce reactive oxygen species-dependent caspase-3 activation in L-02 hepatocytes. Int J Mol Med 2012; 30(3): 629-35.
- Ye J, Wang S, Leonard SS, Sun Y, Butterworth L, Antonini J, *et al.* Role of reactive oxygen species and p53 in chromium(VI)-induced apoptosis. J Biol Chem 1999; 274(49): 34974-80.
- Xiao F, Feng X, Zeng M, Guan L, Hu Q, Zhong C. Hexavalent chromium induces energy metabolism disturbance and p53-dependent cell cycle arrest via reactive oxygen species in L-02 hepatocytes. Mol Cell Biochem 2012; 371(1): 65-76.
- Banu SK, Stanley JA, Lee J, Stephen SD, Arosh JA, Hoyer PB, *et al.* Hexavalent chromium-induced apoptosis of granulosa cells involves selective sub-cellular translocation of Bcl-2 members, ERK1/2 and p53. Toxicol Appl Pharmacol 2011; 251(3): 253-66.
- Wang XF, Lou XM, Shen Y, Xing ML, Xu LH. Apoptotic-related protein changes induced by hexavalent chromium in mice liver. Environ Toxicol 2010; 25(1): 77-82.
- Wang CC, Fang KM, Yang CS, Tzeng SF. Reactive oxygen species-induced cell death of rat primary astrocytes through mitochondria-mediated mechanism. J Cell Biochem 2009; 107(5): 933-43.
- Hayashi Y, Kondo T, Zhao QL, Ogawa R, Cui ZG, Feril LB, *et al.* Signal transduction of p53-independent apoptotic pathway induced by hexavalent chromium in U937 cells. Toxicol Appl

- Pharmacol 2004; 197(2): 96-106.
- 19 Stanley JA, Lee J, Nithy TK, Arosh JA, Burghardt RC, Banu SK. Chromium-VI arrests cell cycle and decreases granulosa cell proliferation by down-regulating cyclin-dependent kinases (CDK) and cyclins and up-regulating CDK-inhibitors. *Reprod Toxicol* 2011; 32(1): 112-23.
- 20 Davidson T, Kluz T, Burns F, Rossman T, Zhang Q, Uddin A, *et al.* Exposure to chromium (VI) in the drinking water increases susceptibility to UV-induced skin tumors in hairless mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004; 196(3): 431-7.
- 21 Stout MD, Herbert RA, Kissling GE, Collins BJ, Travlos GS, Witt KL, *et al.* Hexavalent chromium is carcinogenic to F344/N rats and B6C3F1 mice after chronic oral exposure. *Environ Health Perspect* 2009; 117(5): 716-22.
- 22 Strauss JK, Maher LJ. DNA bending by asymmetric phosphate neutralization. *Science* 1994; 266(5192): 1829-34.
- 23 Zhitkovich A, Voitkun V, Costa M. Formation of the amino acid-DNA complexes by hexavalent and trivalent chromium *in vitro*: Importance of trivalent chromium and the phosphate group. *Biochemistry* 1996; 35(22): 7275-82.
- 24 Kuo HW, Chang SF, Wu KY, Wu FY. Chromium (VI) induced oxidative damage to DNA: Increase of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine concentrations (8-OHdG) among electroplating workers. *Occup Environ Med* 2003; 60(8): 590-4.
- 25 Xiong K, Zhang Z, Heng Z. Applying randomized terminal linker-dependent PCR to detect the DNA damage of P53 gene in rat. *Wei Sheng Yan Jiu* 2003; 32(3): 189-91.
- 26 Tsao DA, Tseng WC, Chang HR. The expression of RKIP, RhoGDI, galectin, c-Myc and p53 in gastrointestinal system of Cr(VI)-exposed rats. *J Appl Toxicol* 2011; 31(8): 730-40.
- 27 Medan D, Luanpitpong S, Azad N, Wang L, Jiang BH, Davis ME, *et al.* Multifunctional role of Bcl-2 in malignant transformation and tumorigenesis of Cr(VI)-transformed lung cells. *PLoS One* 2012; 7(5): e37045.
- 28 Azad N, Iyer AK, Wang L, Lu Y, Medan D, Castranova V, *et al.* Nitric oxide-mediated bcl-2 stabilization potentiates malignant transformation of human lung epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010; 42(5): 578-85.
- 29 Baccarelli A, Bollati V. Epigenetics and environmental chemicals. *Curr Opin Pediatr* 2009; 21(2): 243-51.
- 30 Klein CB, Su L, Bowser D, Leszczynska J. Chromate-induced epimutations in mammalian cells. *Environ Health Perspect* 2002; 110(5): 739-43.
- 31 Takahashi Y, Kondo K, Hirose T, Nakagawa H, Tsuyuguchi M, Hashimoto M, *et al.* Microsatellite instability and protein expression of the DNA mismatch repair gene, hMLH1, of lung cancer in chromate-exposed workers. *Mol Carcinog* 2005; 42(1): 150-8.
- 32 Kondo K, Takahashi Y, Hirose Y, Nagao T, Tsuyuguchi M, Hashimoto M, *et al.* The reduced expression and aberrant methylation of p16(INK4a) in chromate workers with lung cancer. *Lung Cancer* 2006; 53(3): 295-302.
- 33 Schneckeburger M, Talaska G, Puga A. Chromium cross-links histone deacetylase 1-DNA methyltransferase1 complexes to chromatin, inhibiting histone-remodeling marks critical for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 2007; 27(20): 7089-101.
- 34 Sun H, Zhou X, Chen H, Li Q, Costa M. Modulation of histone methylation and MLH1 gene silencing by hexavalent chromium. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 237(3): 258-66.
- 35 Wang BJ, Sheu HM, Guo YL, Lee YH, Lai CS, Pan MH, *et al.* Hexavalent chromium induced ROS formation, Akt, NF-kappaB, and MAPK activation, and TNF-alpha and IL-1alpha production in keratinocytes. *Toxicol Lett* 2010; 198(2): 216-24.
- 36 Cogan N, Baird DM, Phillips R, Crompton LA, Caldwell MA, Rubio MA, *et al.* DNA damaging bystander signalling from stem cells, cancer cells and fibroblasts after Cr(VI) exposure and its dependence on telomerase. *Mutat Res* 2010; 683(1): 1-8.
- 37 Kopec AK, Kim S, Forgacs AL, Zacharewski T, Proctor DM, Harris MA, *et al.* Genome-wide gene expression effects in B6C3F1 mouse intestinal epithelia following 7 and 90days of exposure to hexavalent chromium in drinking water. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 259(1): 13-26.
- 38 Kopec AK, Thompson CM, Kim S, Forgacs AL, Zacharewski TR. Comparative toxicogenomic analysis of oral Cr(VI) exposure effects in rat and mouse small intestinal epithelia. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 262(2): 124-38.
- 39 Sun H, Clancy HA, Kluz T, Zavadil J, Costa M. Comparison of gene expression profiles in chromate transformed BEAS-2B cells. *PLoS One* 2011; 6(3): e17982.