奨励賞受賞論文

フィールドワーク研究と実験研究を融合した衛生学研究

矢嶋 伊知朗

名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学

Research on Hygiene Based on Fieldwork and Experimental Studies

Ichiro YAJIMA

Department of Occupational and Environmental Health, Nagoya University Graduate School of Medicine

Abstract Several experimental studies on hygiene have recently been performed and fieldwork studies are also important and essential tools. However, the implementation of experimental studies is insufficient compared with that of fieldwork studies on hygiene. Here, we show our well-balanced implementation of both fieldwork and experimental studies of toxic-element-mediated diseases including skin cancer and hearing loss. Since the pollution of drinking well water by toxic elements induces various diseases including skin cancer, we performed both fieldwork and experimental studies to determine the levels of toxic elements and the mechanisms behind the development of toxic-element-related diseases and to develop a novel remediation system. Our fieldwork studies in several countries including Bangladesh, Vietnam and Malaysia demonstrated that drinking well water was polluted with high concentrations of several toxic elements including arsenic, barium, iron and manganese. Our experimental studies using the data from our fieldwork studies demonstrated that these toxic elements caused skin cancer and hearing loss. Further experimental studies resulted in the development of a novel remediation system that adsorbs toxic elements from polluted drinking water. A well-balanced implementation of both fieldwork and experimental studies is important for the prediction, prevention and therapy of toxic-element-mediated diseases.

Key words: fieldwork study (フィールドワーク研究), experimental study (実験研究),
toxic elements (毒性元素), skin cancer (皮膚がん), drinking well water (飲用井戸水)

緒 言

人間はこの世に生を受けたときから、自己の外部環境からの影響を受け続け、それは死を迎えるまで続いてゆく。胎児期においても“母体環境”からの影響を受けており、そのような意味では生を受ける前から影響を受け続けていると行っても良いかもしれない。環境からの刺激は生命の正常な発生や個体維持に重要な刺激もある

が、その種類や量、時期の違いによっては悪影響も与えることが多い。こうした環境からの影響によって生じた健康問題や疾病を未然に予防し、人類の健康維持・向上を目指すことが衛生学（環境衛生学）の使命である。環境衛生学では、環境と健康の実態を知ることが全ての始まりであり、フィールドワークという研究アプローチ法は必須の手法である。疫学的手法を含むフィールドワーク研究を実施することで、人々の健康問題や疾病と、そこに存在する環境因子との関連性を明らかにすることが可能となる。衛生学を研究する上でフィールドワーク研究は必須の手法である一方、近年は培養細胞や実験動物等を利用した実験研究に基づいた衛生学研究も活発に行われている。細胞生物学、分子生物学等の分野で開発された様々な実験手法が衛生学の分野でも用いられるようになり、科学技術が高度に発達した現代ではこれらの手法

受付 2016 年 10 月 5 日, 受理 2016 年 10 月 18 日
Reprint requests to: Ichiro YAJIMA
Department of Occupational and Environmental Health, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya, Aichi 466-8550, Japan
TEL: +81(52)744-2125, FAX: +81(52)744-2126
E-mail: yajimai@med.nagoya-u.ac.jp

図 1 飲用井戸水の毒性元素汚染が誘発する健康問題を研究する上での、フィールドワーク研究と実験研究の位置づけ。

を用いることが不可避な状況となっている。実験研究が衛生学分野でも多用されるようになって久しいが、未だフィールドワーク研究と比べて質・両ともに十分であるとはいえない。とはいえ、実験研究だけを主体とした衛生学研究を実施すれば実態とかけ離れた研究となる危険性もあり、両者の適度なバランスのもとで研究を実施することが肝要である。

筆者らは、世界的な環境健康問題である飲用水のヒ素を含む、生命に対して様々な毒性を示す元素（毒性元素）の汚染と疾患の実態調査、疾患発症機構及び予防に関して、衛生学的見地から様々な研究を行ってきた。その研究スタイルはフィールドワーク研究と実験研究をバランス良く取り入れることで構築されている（図 1）。本稿では、筆者がこれまで行ってきた研究内容を紹介しつつ、衛生学という分野におけるフィールドワーク研究と実験研究の融合の重要性について述べる。

毒性元素による飲用井戸水の汚染実態調査 （フィールドワーク研究）

安全な水の確保は、人類の健康と安全を保証する上で極めて重要な問題である。飲用水に関わる汚染は、安全な水の確保を阻害し、人々の健康に大きな影響を及ぼしており、毒性元素による汚染は世界レベルの深刻な問題の一つである（1）。特に上水道設備を持たず、井戸水を利用している国・地域、中でもアジア・アフリカ及び南米地域の広範囲な領域ではヒ素汚染が広がり、がんを含む様々な疾患の原因となっている。例えばバングラデシュやベトナムではそれぞれ 2,500 万人、1,100 万人もの人々が慢性ヒ素中毒を発症（2,3）し、メキシコおよびチリで 40 万人、アルゼンチンとガーナではそれぞれ 20 万人、10 万人もの人々が、安全でないレベルのヒ素に曝露している（4）。飲用水による慢性的なヒ素曝露は皮膚がん、肺がん、膀胱がん、を含む様々ながんや、出生率の低下、糖尿病や神経疾患を誘発し、人々の健康だけ

でなく、生命をも脅かしている（4）。

飲用井戸水におけるヒ素汚染と疾患発症は世界の広範囲の地域で引き起こされており、それらに関する研究結果も無数に報告されている一方で、同じ井戸水内の他の元素に言及している報告は前者に比べて圧倒的に少数である。ヒ素汚染された飲用井戸水は純粋な「ヒ素水」ではなく、多くは各地域の地質等に依存した様々な種類の元素を含む天然水であり、汚染水によって発症する疾患の主原因がヒ素であったとしても、井戸水の「真の健康リスク」を知る上では、同時に存在する元素の健康影響も考慮に入れる必要がある。

筆者らはこのような複合汚染も視野に入れつつ、バングラデシュ、ベトナム、マレーシア等でフィールドワークを実施し、各地で利用されている飲用井戸水を採取、さらには、現地居住者の尿、毛髪、爪等を採取し、これらに含まれるヒ素を含む様々な元素を ICP-MS を用いて測定した。測定の結果、ヒ素汚染された飲用井戸水中には様々な元素が様々な濃度で存在していること、特にバリウム、鉄、マンガンといった元素が安全ではないレベルで含まれていることが明らかとなった（5-9）。バリウムについては特に、井戸水中のヒ素濃度との間に有意な正の相関関係があり、それらを飲用している現地住民の尿・毛髪・爪のいずれの検体に含まれるバリウムも、同じ検体に含まれるヒ素と極めて高い正の相関関係を示した。この結果は、ヒ素汚染された飲用井戸水は高い確率でバリウムを含んでいること、それらの井戸水を摂取した場合、バリウムも同時に体内に取り込まれることを示している（5）。

フィールドワーク研究では井戸水サンプルやヒト検体採取以外にも様々な情報を収集する。筆者らのフィールドワーク研究で得られた情報の中に現地居住者の聴力が挙げられる。聴力の低下は QOL の低下に繋がり、極めて重要な問題であり、加齢や騒音等、様々な要因で影響を受けることが知られている。毛髪や爪、尿などのバリウム濃度つまりバリウムの体内曝露レベルと、それぞれの聴力についてロジスティック回帰分析を含む統計学的解析を行ったところ、8 及び 12 kHz の領域での聴力と相関があることが初めて明らかとなっている（10）。尿サンプルには様々な成分が含まれており、特に分泌タンパク質の検出は体内で起きた現象を推測するための有用なマーカーとして知られている。尿中で検出可能な分泌タンパクの一つに胎盤増殖因子（Placental Growth Factor; PIGF）がある。PIGF はその名の通り胎盤形成に重要な役割を果たす成長因子だが、一方で様々ながんの発症時に発現し、発がんや転移を誘導する分子としても知られている（11）。ヒ素汚染井戸水を飲用していない、或いは飲用している住人の尿中ヒ素濃度及び尿中 PIGF 濃度を測定したところ、ヒ素汚染井戸水を飲用している住人の尿では、飲用していない住人の尿と比較して、ヒ素濃度だけでなく、PIGF 濃度も上昇していた（12）。この結果は、体内の PIGF 発現又は分泌の上昇がヒ素曝露によっ

て引き起こされた可能性を示唆しており、ヒ素誘導性発がんとの可能性も示唆される。

フィールドワーク研究結果を実験で検証する (実験研究)

前述したフィールドワーク研究により、毒性元素に関する様々な実態が明らかになるとともに、実際にヒトの聴力低下や、尿中がんマーカーの上昇と毒性元素との関連性を明らかにすることができた。一方で、実際の毒性がどの程度のリスクを伴っているのか、疾患と関連性があるとして、どのような発症機構なのか、それらは予知・予防が可能なのか、といったより詳細な、科学的な疑問には回答できていない。このような疑問に解を求める場合、様々な条件が一定の状況、つまり実験による再現によって設定した環境で解析を行うことが必須である。フィールドワーク研究によって明らかとなった、飲用井戸水に含まれる毒性元素の毒性を明らかにするため、筆者らは実験動物や培養細胞を用いた曝露実験を行い、主に聴力異常と発がんに関する研究を行った。

バリウムの聴力に対する影響については、3 週齢 ICR マウスに 12.5 及び 125 μM の塩化バリウムを 2 週間飲水投与し、聴性脳幹反応 (Auditory Brain-stem Response; ABR) 測定によって聴力への影響を調査した。その結果、測定した 4, 12, 20, 32 kHz のうち、4, 12, 20 kHz で聴力低下が観察され、同時に内耳有毛細胞及び蝸牛神経節に形態的異常が観察された (13)。

フィールドワークによってヒ素濃度の高いヒト尿では PIGF 濃度が上昇していることが明らかになったことから、体内の PIGF 発現量が上昇している可能性が考えられた。慢性的なヒ素曝露によって生じる主ながんの一つに皮膚扁平上皮がん (SCC) が挙げられることから、皮膚がんに着目し、ヒト正常角化細胞株 (HaCaT) (14) へのヒ素曝露を実施したところ、*PIGF* mRNA の発現、*PIGF* タンパク質の発現及び分泌の全てが上昇していることが判明した。また、HaCaT 細胞へのヒ素曝露は発がん活性 (コロニー形成活性) を誘導することが知られているが (9), siRNA トランスフェクション法を用いた *PIGF* ノックダウンを実施し、それらの細胞においてコロニー形成性能を解析したところ、ヒ素誘導性コロニー形成活性が強く抑制された。その際、細胞内では発がんシグナルである MEK/ERK 経路が VEGF レセプター 1 (VEGFR1) を介して活性化していたことから、ヒ素曝露は皮膚角化細胞での *PIGF* 発現を活性化するばかりか、発がん活性にも機能的に関与していることが明らかとなった (12)。このように、フィールドワークで明らかとなった汚染実態や住人の健康情報を元に実験研究を遂行することで、関連性の証明やメカニズムの解明を行うことができる。

フィールドワーク研究結果から新たな毒性元素を 評価する (実験研究)

フィールドワークで得られた聴力や尿中発がんマーカーレベルといった、ヒトの健康情報を元に実験研究でそれらを再現することで発症原因を明らかにすることが可能である一方、汚染実態の中で見出された新たな毒性元素も見つかっている。バリウムと聴覚の関係はフィールドワーク及び実験研究の両面でその可能性が指摘された (10, 13) が、その他の疾患とバリウムとの関連性は不明なままである。一方で、フィールドワーク研究によると、ヒ素汚染井戸水にはバリウムも高濃度で存在し、飲用した居住者の生体試料でもヒ素曝露レベルとの正の相関関係が認められた (5, 8) ことから、バリウムはヒ素によって誘発される疾患に関連性がある、或いは類似した疾患の発症に直接関与している可能性が考えられた。

筆者らはヒ素曝露によって誘発される疾患の中でも皮膚がんに着目し、バリウムの関連性について調査した。HaCaT 細胞に 5–50 μM の塩化バリウムを 24–48 時間曝露したところ、がん化した細胞に特徴的なコロニー形成活性と浸潤活性が上昇し、がん関連分子である c-SRC (proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src), FAK (focal adhesion kinase), ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase1/2) のリン酸化レベルの上昇を伴っていた (8)。この結果は 24–48 時間曝露という、短期間での曝露であったが、5 μM の塩化バリウムを HaCaT 細胞に 4 ヶ月間長期曝露したところ、不可逆的な浸潤活性の活性化が観察された (15) ことから、バリウム曝露は少なくともヒト皮膚正常角化細胞株に対して、がん化した細胞に特徴的な複数の表現型を示すことが明らかとなった。前述したように、井戸水、生体試料共に、バリウム濃度はヒ素濃度と正の相関関係を示している。そこでヒ素曝露によって誘発される皮膚がん発症におけるバリウムの役割を実験研究によって検討した。HaCaT 細胞又はヒト皮膚扁平上皮細胞株 (A431, HSC-5) にヒ素と同時にバリウムを複合曝露し、その影響を解析した。ヒ素は発がん毒性の他に細胞毒性 (細胞死誘導) も持つ (16) ため、ヒ素を高濃度で曝露すると、全ての細胞が細胞死を呈するが、バリウムを同時に曝露すると A431 及び HSC-5 細胞ではヒ素誘導性細胞死が抑制され、HaCaT 細胞では細胞死抑制は観察されなかった。A431 及び HSC-5 細胞への複合曝露では、NF- κ B の活性化とともに、XIAP の発現上昇と JNK1/2 の活性阻害が観察された。JNK1/2 を介した細胞死誘導シグナルは NF- κ B 活性化によって発現誘導された XIAP が阻害することが知られている (17, 18) ことから、バリウムはヒ素によって誘導される皮膚がん細胞の細胞死を抑制していることが明らかとなった。また、正常皮膚角化細胞株である HaCaT ではこのような細胞死抑制は観察されなかった (9)。前述したように、ヒ素は発がん毒性と細胞毒性の両方の特性を持つ元素であり、正常細胞をがん化させるとともに、がん細胞

図2 ヒ素、バリウム複合汚染による皮膚がん発症リスクの上昇。ヒ素の曝露は皮膚において様々な毒性を発揮する。正常角化細胞をがん化するとともに、正常角化細胞とがん細胞の両方に細胞死を誘発させる。ヒ素とともにバリウムが共存する場合、バリウムはヒ素による皮膚がん細胞の細胞死を特異的に抑制することで、結果的に皮膚がんの生存をサポートすることになる。そのためより多くのがん細胞が生き残ることとなり、がんの進行が促進される可能性がある。

胞を細胞死誘導する。しかし、バリウムの共存在下では細胞死誘導が阻害され、本来細胞死誘導されるはずの皮膚がん細胞が生き残ることになる。これはヒ素によって誘導された皮膚がん細胞がバリウム共存下ではより多く生き残ることを示しており、ヒ素単独の曝露よりも、ヒ素とバリウムの複合曝露のほうが発がん、或いはがんの悪性化リスクが高いことを示唆している（図2）。

筆者らの研究では、ヒ素汚染された飲用井戸水は高濃度の鉄にも汚染されていることが明らかになっており、その濃度比はモル濃度でほぼ1:10の関係にある。この濃度比でHaCaT細胞への曝露実験を行った結果、発がん活性と浸潤能活性が、ヒ素単独曝露によるそれぞれに対する効果よりも相乗的に活性化していることを明らかにした。また、発がん及び浸潤に関与する細胞内シグナル分子であるSRC及びERKも相乗的な活性化を示していた。これはヒ素単独曝露よりも、鉄との複合曝露のほうが皮膚がん発症のリスクが高い可能性を示唆している。また、ヒ素と鉄の複合曝露による相乗効果は、ヒト皮膚扁平上皮細胞株(A431)に対しても引き起こされており、皮膚がんが発症した後の悪性化、浸潤のリスクもまた複合曝露によって上昇する可能性を示唆している(7)。

毒性元素を浄化する新システムの開発（実験研究）

飲用井戸水汚染に関するフィールドワーク研究や実験研究を、皮膚がんだけでなく、他のがんや疾患に対しても実施すれば、毒性元素によって汚染された飲用井戸水によって誘発される疾患を予知し、更には予防法や治療法を開発することが可能となる。これは、人類の健康増進や疾患予防を目的とする衛生学において極めて理論的であり、妥当なアプローチ方法だといえるが、一方で疾患を誘発する原因である毒性元素を井戸水から排除できれば、毒性元素にまつわる健康問題を根本から解決することが可能となる。このような考え方から、筆者らはヒ素を含む毒性元素を飲用井戸水から除去するための浄化法についても検討を行っている。水の浄化についてはハ

イドロタルサイト（様）化合物を利用した方法が存在する。ハイドロタルサイト（HT）はアルミニウムやマグネシウム等の金属イオン骨格に、水分子や炭酸イオン分子がインターカレートされた層状複水酸化物の一つで、アニオン交換機能と、カチオン吸着機能を有している。ハイドロタルサイトを用いた浄化システムはこれまでもヒ素やクロム、カドミウム、鉛、ニッケルなどを浄化する事が可能であることが報告されている(19-21)。筆者らは前述したように、ヒ素汚染井戸水はバリウムや鉄にも高濃度で汚染されており、毒性を発揮することを示してきたことから、鉄やバリウムを含む毒性元素、特にヒ素と複合汚染された状態の飲用水からこれらを除去可能なハイドロタルサイトの合成を試みた。その結果、マグネシウムと鉄をベースとした新たなハイドロタルサイト(MF-HT)を開発、合成し、ヒ素及び他の毒性元素に対する吸着試験を実施した。ヒ素単独の汚染水の場合、初濃度500 µg/L (WHO 飲料水水質ガイドライン: 10 µg/L) を15秒以内に99.9%以上除去が可能であり、これは既存のハイドロタルサイトを用いた試験結果よりも高い効率でヒ素を浄化可能であることを示していた。これ迄に報告されている、ハイドロタルサイトを用いたヒ素吸着試験では、ヒ素の除去に10-16時間必要であった(19)ことから、筆者らが新たに合成したMF-HTの持つ15秒以下という除去スピードは、極めて高率の高い吸着剤であるといえる。バリウムや鉄単独の汚染水や、ヒ素との複合汚染水に対する吸着効果も、同レベルの高い吸着能力を示し、複合汚染された井戸水を効率的に浄化できる能力があることを示した(5, 7)。

飲用井戸水を用いた吸着試験（実験研究からフィールドワーク研究へのフィードバック）

衛生学研究を進める上で、フィールドワーク研究と実験研究をバランスよく遂行することは重要な点であるが、同時にお互いの研究成果をフィードバックすることも重要である(図1参照)。MF-HTを用いた吸着試験は純水に化合物を溶解して作成した溶液であり、実際の井戸水のようなcrudeの状態ではない。実際の環境下での浄化能力を検証するためには、実際の井戸水での検証が不可欠である。筆者らはフィールドワークによって採取した汚染井戸水を用いて吸着試験を実施した。使用した井戸水はバングラデシュ及びベトナムのヒ素汚染地域で採取した試料（汚染レベルはヒ素: 90.3-459.3 µg/L, 鉄: 1,205.0-2,956.0 µg/L, バリウム: 97.0-206.7 µg/L）を使用し、溶液を用いたときと同様のプロトコルを用いて行った。その結果、ほぼ同等の除去能力を発揮した(5, 7)。これらの結果は、筆者らが新たに作成したMF-HTは実際の汚染井戸水に対し、速やかに且つ効率的に浄化することが可能であり、ヒ素との複合汚染によって疾患発症リスクを持つ鉄やバリウムも、ヒ素と同時に浄化が可能であることを示している。

衛生学研究におけるフィールドワーク研究と 実験研究の融合

これまで述べてきたように、筆者らは毒性元素による飲用井戸水の汚染実態についてフィールドワーク研究と実験研究を融合させた形で実施し、様々な評価や分析を行ってきた。衛生学の基本であるフィールドワーク研究を出発点とし、環境及び生体の元素を測定することで汚染されている元素の種類及びそのレベルを明らかにするとともに、聴力や発がんマーカー等の分析によって疾患リスクを調査し、その関連性について疫学的な意味を見出すことが出発点となる。これらの疫学データを基に培養細胞や実験動物を用いた実験研究を実施することで、毒性元素を評価し、誘発される疾患の種類やその発症機構を解明する。培養細胞を用いた実験は疾患発症機構の解明を分子生物学的に解析する上で有効な手法であり、特に複合汚染のように実験条件が複雑な場合などには極めて有効である。培養細胞は均一な細胞の集団であり、曝露によって細胞内外で惹起される様々な反応（遺伝子発現、遺伝子変異、エピジェネティック変異、タンパク質の量的変化や活性変化など）の検出を低いバックグラウンド、且つ高い感度で検出可能である。培養細胞を用いた曝露実験には特に注意すべき点がある。培養細胞を直接毒性元素に曝露するため、飲水等による曝露を想定した場合は想定した標的臓器（細胞）に到達する際の実際の濃度や化学形態が飲水時と異なっている可能性がある。この点を考慮した上で実験計画を立案する必要がある。一方で動物実験はヒトにおける飲水曝露の再現が可能であり、飲水時の元素からの修飾作用や体内への吸収と排出がヒトと類似していると仮定できれば極めて有効な方法である。また各臓器の元素量を測定することで標的臓器を同定し、その毒性評価を行うことが可能である。動物実験における注意点としては、組織や臓器における毒性発露が、曝露した元素による直接的な作用なのかどうかを見極めることが難しい点や、毒性発露までの経路の解明が難しい点にある。いずれにせよ、実験研究を実施する上では、培養細胞実験と動物実験の長所と短所を理解した上で、お互いを相補う実験計画を立案することが重要である。

筆者らの研究では、前述したようにハイドロタルサイトをを用いた井戸水の浄化システム開発を行っている。この研究分野は培養細胞や実験動物を用いた実験研究とは異なり、疾患の解析には直接関与していないため、医学・生物学を基本とした研究を行ってきた場合、“敷居の高い”研究分野と思われがちである。しかし、化学的研究を用いて疾患の原因である環境因子を取り除くことができれば、永続的な疾患予防が可能であることから、衛生学分野での取り組みは極めて重要であると考えられる。現在、実験系及び実際の井戸水を用いたスモールスケールにおける MF-HT の有効性が証明されているが、今後はより実際の状況にあった浄化システムの構築を目指し、研究を継続している。

おわりに

ここまで述べてきたように、筆者らは世界的環境健康問題である飲用井戸水の汚染実態の解明と疾患予防に関する研究を、フィールドワーク研究と実験研究を並行して実施することで行ってきた。これまでヒ素汚染を主体とした研究が多く研究者によって行われてきたが、近年ではヒ素だけではなく、様々な毒性元素による汚染もクローズアップされつつある。また、複合汚染による疾患発症も多数報告されており、飲用井戸水の毒性元素による汚染問題はますます深刻になりつつある。筆者らもヒ素を含む様々な毒性元素による研究を実施しており、例えばヒ素が持つ“細胞毒性”と“発がん毒性”という二面性 (16) や、マンガンによる神経毒性 (22) などにも注目している。複雑さを増す飲用井戸水の毒性元素汚染実態の解明及びその予防には、十全なフィールドワーク研究による詳細な実態解明とともに、実験研究による詳細な毒性評価や疾患発症機構の解明が不可欠である。また、より多くの毒性元素をより効率的に除去できる新たな浄化システムの構築もまた今後より一層の研究が実施されなければならない。

飲用井戸水の問題だけでなく、衛生学という学問において実施される様々な研究においてもまた、フィールドワーク研究と実験研究をバランス良く実施することが、今後更に増えるであろう様々な健康問題を、衛生学という学問の中で解決するためには重要である。

謝 辞

本研究の一部は、科学研究費補助金：基盤研究 B (16H02962) の助成を得て行われた。

利益相反なし

文 献

- (1) Fernandez-Luqueno F, Lopez-Valdez F, Gamero-Melo P, Luna-Suarez S, Aguilera-Gonzalez E, Martinez A, et al. Heavy metal pollution in drinking water—a global risk for human health: A review. *Af J Envi Sci Tech* 2013;7:567–584.
- (2) Berg M, Stengel C, Pham TK, Pham HV, Sampson ML, Leng M, et al. Magnitude of arsenic pollution in the Mekong and Red River Deltas—Cambodia and Vietnam. *Sci Total Environ* 2007;372:413–425.
- (3) Chowdhury UK, Biswas BK, Chowdhury TR, Samanta G, Mandal BK, Basu GC, et al. Groundwater arsenic contamination in Bangladesh and West Bengal, India. *Environ Health Perspect* 2000;108:393–397.
- (4) IARC. Some drinking-water disinfectants and contaminants, including Arsenic. *Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum* 2004;84:68–70, 223–226.
- (5) Kato M, Kumasaka MY, Ohnuma S, Furuta A, Kato Y,

- Shekhar HU, et al. Comparison of barium and arsenic concentrations in well drinking water and in human body samples and a novel remediation system for these elements in well drinking water. *PLoS One* 2013;8:e66681.
- (6) Kato M, Onuma S, Kato Y, Thang N, Yajima I, Hoque M, et al. Toxic elements in well water from Malaysia. *Toxicol Environ Chem* 2010;92:1609–1612.
- (7) Kumasaka MY, Yamanoshita O, Shimizu S, Ohnuma S, Furuta A, Yajima I, et al. Enhanced carcinogenicity by co-exposure to arsenic and iron and a novel remediation system for the elements in well drinking water. *Arch Toxicol* 2013;87:439–447.
- (8) Thang ND, Yajima I, Kumasaka MY, Ohnuma S, Yanagishita T, Hayashi R, et al. Barium promotes anchorage-independent growth and invasion of human HaCaT keratinocytes via activation of c-SRC kinase. *PLoS One* 2011;6:e25636.
- (9) Yajima I, Uemura N, Nizam S, Khalequzzaman M, Thang ND, Kumasaka MY, et al. Barium inhibits arsenic-mediated apoptotic cell death in human squamous cell carcinoma cells. *Arch Toxicol* 2012;86:961–973.
- (10) Ohgami N, Mitsumatsu Y, Ahsan N, Akhand AA, Li X, Iida M, et al. Epidemiological analysis of the association between hearing and barium in humans. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2016;26:488–493.
- (11) Fischer C, Mazzone M, Jonckx B, Carmeliet P. FLT1 and its ligands VEGFB and PlGF: drug targets for anti-angiogenic therapy? *Nat Rev Cancer* 2008;8:942–956.
- (12) Yajima I, Kumasaka MY, Ohnuma S, Ohgami N, Naito H, Shekhar HU, et al. Arsenite-mediated promotion of anchorage-independent growth of HaCaT cells through placental growth factor. *J Invest Dermatol* 2015;135:1147–1156.
- (13) Ohgami N, Hori S, Ohgami K, Tamura H, Tsuzuki T, Ohnuma S, et al. Exposure to low-dose barium by drinking water causes hearing loss in mice. *Neurotoxicology* 2012;33:1276–1283.
- (14) Boukamp P, Petrussevska RT, Breitkreutz D, Hornung J, Markham A, Fusenig NE. Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. *J Cell Biol* 1988;106:761–771.
- (15) Thang ND, Yajima I, Ohnuma S, Ohgami N, Kumasaka MY, Ichihara G, et al. Enhanced constitutive invasion activity in human nontumorigenic keratinocytes exposed to a low level of barium for a long time. *Environ Toxicol* 2015;30:161–167.
- (16) Thang ND, Yajima I, Kumasaka MY, Kato M. Bidirectional functions of arsenic as a carcinogen and an anti-cancer agent in human squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2014;9:e96945.
- (17) Kaur S, Wang F, Venkatraman M, Arsura M. X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) inhibits c-Jun N-terminal kinase 1 (JNK1) activation by transforming growth factor beta1 (TGF-beta1) through ubiquitin-mediated proteosomal degradation of the TGF-beta1-activated kinase 1 (TAK1). *J Biol Chem* 2005;280:38599–38608.
- (18) Tang G, Minemoto Y, Dibling B, Purcell NH, Li Z, Karin M, et al. Inhibition of JNK activation through NF-kappaB target genes. *Nature* 2001;414:313–317.
- (19) Gillman GP. A simple technology for arsenic removal from drinking water using hydrotalcite. *Sci Total Environ* 2006;366:926–931.
- (20) Lazaridis NK, Asouhidou DD. Kinetics of sorptive removal of chromium(VI) from aqueous solutions by calcined Mg-Al-CO(3) hydrotalcite. *Water Res* 2003;37:2875–2882.
- (21) Turk T, Alp I, Deveci H. Adsorption of As(V) from water using Mg-Fe-based hydrotalcite (FeHT). *J Hazard Mater* 2009;171:665–670.
- (22) Kumasaka MY, Yajima I, Ohgami N, Naito H, Omata Y, Kato M. Commentary to Krishna et al. (2014): Brain deposition and neurotoxicity of manganese in adult mice exposed via the drinking water. *Arch Toxicol* 2014;88:1185–1186.