

## 마우스의 흉선에 미치는 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene의 영향

이 덕 윤

건국대학교 수의학과

## EFFECTS OF 7,12-DIMETHYLBENZ[a]ANTHRACENE ON THYMUS IN BALB/C MICE

Duck-Yoon Lee

Department of Veterinary Medicine, Kon-Kuk University  
93-1 Mojin-dong, Seongdong-gu, Seoul 133-701, Korea

(Received May 9, 1993)

(Accepted May 21, 1993)

**ABSTRACT:** This study was carried out to investigate the immunopathological effects of 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) on mouse thymus. DMBA was administered subcutaneously to BALB/C mice by interscapular single injection of 50 or 100  $\mu\text{g/g}$  of body weight. Each DMBA treatment group and additional corn oil control group of mice were studied on day 1, 3, 7, 14 and 21 following the injection of DMBA. DMBA treatment resulted in marked decreases in weights and cellularity of thymus. Thymus weights were decreased by 50.6 and 66.0% at 21 days, respectively, after treatment of 50  $\mu\text{g/g}$  and 100  $\mu\text{g/g}$  DMBA. Thymus cellularity was similarly decreased in comparison with those weights. Thymus showed morphologically no typical changes throughout the experimental period after 50  $\mu\text{g/g}$  DMBA treatment. Following the treatment of 100  $\mu\text{g/g}$  DMBA, there were remarkable fibrosis of entire thymic tissue, and destruction and cellular depletion of thymic cortex at 21 days. In the immunofluorescence reaction thymus sections of control and experimental groups were not stained with IgM monoclonal antibody, while Thy1.2 positive lymphocytes within thymic cortex were severely destroyed at 14 and 21 days following 100  $\mu\text{g/g}$  DMBA treatment. By the electron microscopy phagocytic epithelial cells or macrophages were remarkably increased in thymus at 14 and 21 days following the treatment of 100  $\mu\text{g/g}$  DMBA.

**Key Words:** 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene, thymus, monoclonal antibody, immunofluorescence reaction, BALB/C mouse

## 서 론

다환성 방향족 탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)에 속하는 대표적인 화학 물질에는 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene(DMBA), Methylcholanthrene(MCA), Benzo[a]-pyrene(B[a]P) 등이 있는데, 이 가운데 DMBA는 가장 강력한 발암성을 지닌 화학물질로서, 피부암(Halliday *et al.*, 1988, 1990), 육종(Edelman *et al.*, 1985), 백혈병(Raikow *et al.*, 1983; Fohlmeister *et al.*, 1982, 1986), 임파종(Rappaport & Baroni, 1962; Silvia *et al.*, 1988) 등의 실험적 연구에 주로 이용되어 왔으며, 이러한 각종 암의 발생은 면역 독성에 의한 세포성 및 체액성 면역기능의 저하와 깊은 관계가 있다(Urso & Gengozian, 1980; Yamashita & Hamaoka, 1982). 대부분의 발암성 PAH가 면역억제작용을 갖고 있는 반면에, 비발암성 유사화합물은 면역억제 효과를 나타내지 않는데, 이러한 PAH에 의해 유발되는 면역억제작용에 대한 정확한 기전에 대해서는 밝혀져 있지 않다(Yamashita & Hamaoka, 1982; Ward *et al.*, 1984; Dean *et al.*, 1986). 지금까지 DMBA의 면역억제작용에 대한 연구는 많이 이루어졌으나 면역기관인 골수, 임파절, 흉선 및 비장 등의 형태학적 변화에 관한 보고는 극히 적은 편이다. 따라서 저자는 면역기관인 흉선에 미치는 DMBA의 면역병리학적 영향을 규명하고자 마우스에 DMBA를 처리한 후 일정한 기간별로 흉선을 적출하여 파라핀절편 및 동결절편을 제작하여 특수염색과 면역형광염색을 실시하였으며, 전자현미경을 사용하여 미세구조변화를 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

체중 20~25 g 되는 6~8주령의 수컷 BALB/C 마우스를 실험전 1주일 동안의 관찰을 통하여 외관상 건강하다고 인정되는 마우스만 본 실험에 이용하였으며, 실험기간 동안 급여사료는 실험동물용 펠렛트 사료(제일제당)를 급여하였다.

### 약품 및 실험설계

7,12-Dimethylbenz[a]anthracene(Sigma Chemical Company, USA, Lot 19F-404)를 체중당 50  $\mu\text{g/g}$  또는 100  $\mu\text{g/g}$ 의 용량으로 corn oil(Sigma Chemical Company, USA, Lot 37F-0555)에 용해시켜 등쪽 견갑골 사이에 0.1 ml을 1회 피하주사하였으며, 대조군은 동량의 corn oil만을 투여하였다. Corn oil만을 투여한 대조군, 체중당 50  $\mu\text{g/g}$  또는 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA를 투여한 3군으로 구분하였으며, 시간의 경과에 따른 변화를 관찰하기 위하여 DMBA 투여 후 1일, 3일, 7일, 14일 및 21일에 ether로 마취시킨 다음 도살하여 실험에 이용하였다.

### 흉선의 세포분리

Ether로 마취시켜 도살한 마우스에서 흉선을 적출하여 무게를 측정하였고, 채취된 흉선은 각각 10% 우혈청이 첨가된 Hank's balanced salt solution(HBSS, pH 7.4)이 들어 있는 무균 배양접시에 넣은 다음, 멸균 syringe와 needle (21 gauge)을 사용하여 세포를 유리시켰다. 세포 부유액을 nylon mesh(60  $\mu\text{m}$ )로 걸러서 섬유조직 덩어리를 제거시킨 후 원심분리시켰으며, 상청액은 버리고 적당히 희석한 다음 혈구계산반으로 총세포수를 계산하였다.

### 광학 및 전자현미경 관찰

흉선은 bouin 고정액에 6~8시간 고정된 다음 탈수과정을 거쳐 파라핀 포매를 하였으며, 4~6  $\mu\text{m}$  두께의 조직절편을 만들어 hematoxylin-eosin(H & E)염색과 Masson's trichrome염색 및 Gomori's reticulin염색을 하였고, 미세구조변화 관찰을 위해서는 1 mm내의 두께로 세절한

흉선조직을 4°C에서 1% glutaraldehyde-paraformaldehyde 고정액에 전고정한 후, 2% osmium tetroxide(OsO<sub>4</sub>)용액에 후고정하여 ethanol과 acetone으로 탈수하고, Epon812-araldite mixture에 포매하여 60°C에서 중합시켰다. 포매조직은 Ultramicrotome(Reichert-Jung Ultracut E형)으로 70 nm의 두께로 초박절편을 만든 다음 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과 전자현미경(Zeiss EM109)으로 관찰하였다.

### 면역형광항체 반응

본 실험에 이용한 항체는 anti-Thy1.2와 anti-IgM인데, anti-Thy1.2는 R-phycoerytherin conjugate된 것으로서 1 : 20, anti-IgM은 1 : 100으로 희석하였으며, IgM항체의 형광발색을 위해서는 FITC-conjugated F(ab')<sub>2</sub> (Biotech사)를 1 : 40으로 희석하여 사용하였으며, 동결절편용 포매제인 OCT compound(Lab-Tek products, Lot: 0560108, Miles Inc. USA)에 포매한 조직은 냉동절편기(Reichert Histostat, Scientific Instructments, USA)를 사용하여 4~6 μm 두께로 연속동결절편을 만든 다음, 슬라이드 접착액인 0.1% poly-L-lysine(Sigma, Lot: 51H-4366, USA)을 처리한 유리슬라이드에 mounting하여 실온에서 건조시켰다(2~4시간). 건조된 조직은 acetone(-20°C)에 10분동안 고정한 후 실온에서 다시 건조시켰으며, 비특이성항원에 대한 면역 반응을 방지하기 위하여 normal horse serum에 10분동안 반응시켰다. 그후 해당 1차항체를 37°C에서 1시간 반응시킨 후 Thy1.2항원의 관찰을 위해 Gel/Mount(Biomed사)로 wet mounting하였으며, IgM항체의 형광발색을 위해서는 FITC-conjugated F(ab')<sub>2</sub>를 37°C에서 30분동안 반응시킨 후 Gel/Mount로 wet mounting하여 exciter filter(485 nm)와 barrier filter (515 nm)를 장치한 형광현미경(Olympus, PM-10ADS)으로 T세포 및 B세포들의 분포 및 변화를 관찰하였다.

### 통계학적 분석

SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 실험군의 결과를 대조군과 비교분석하였으며, P<0.05의 수준에서 유의성을 검정하였다.

## 결 과

### 흉선의 무게 및 총세포수의 변화

흉선의 무게는 DMBA 투여 후 1일, 3일과 7일에는 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았으며, 14일에 50 μg/g투여군과 100 μg/g 투여군의 무게가 대조군에 대하여 각각 30.5%, 44.9%의 감소율을 보였고, 21일에는 각각 50.6%, 66.0%의 유의한 감소율을 나타냈다(Table 1).

흉선의 총세포수는 DMBA투여 후 1일, 3일과 7일에는 대조군과 유사한 세포수를 나타냈으나, 14일에 50 μg/g 투여군과 100 μg/g 투여군이 대조군에 대하여 각각 24.5%, 41.5%가 감소하

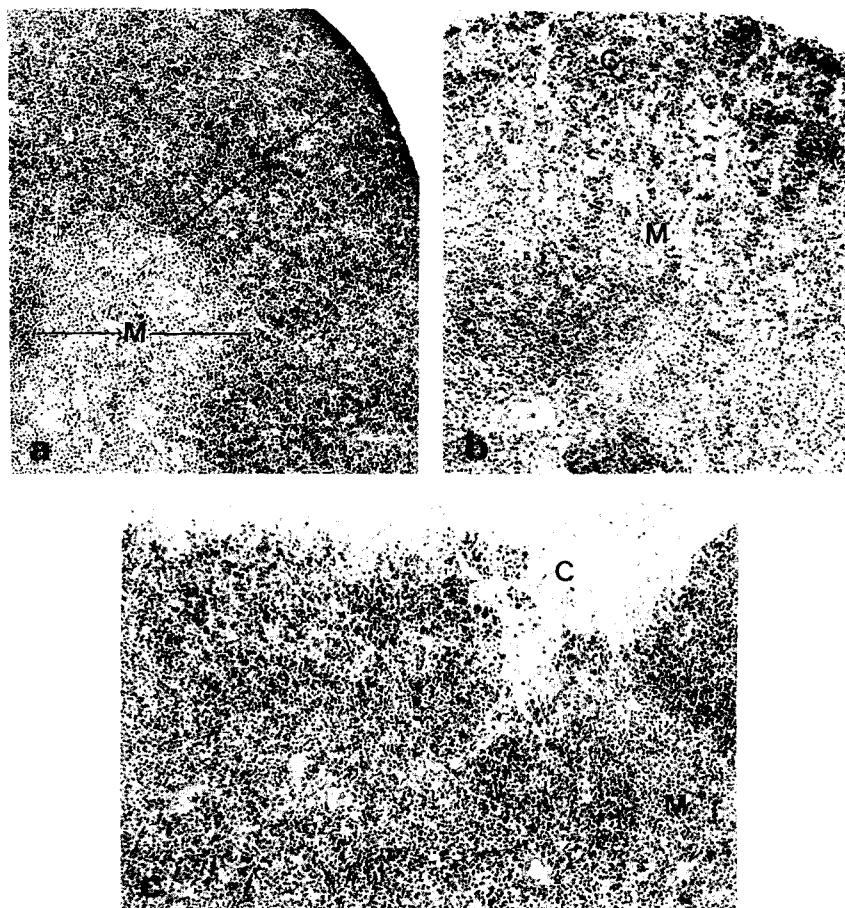
**Table 1.** Thymus weights of mice following DMBA treatment (Unit: mg, Mean ± S.D.)

Group	Days after DMBA treatment				
	1	3	7	14	21
Control	41.5 ± 14.6	40.2 ± 2.9	43.8 ± 2.2	47.9 ± 4.7	45.3 ± 3.7
DMBA (50 μg/g)	36.6 ± 9.3	38.0 ± 5.7	40.2 ± 4.7	33.3 ± 5.5*	22.4 ± 5.8*
DMBA (100 μg/g)	38.3 ± 8.3	34.9 ± 5.7	37.7 ± 3.2	26.4 ± 5.6*	15.4 ± 4.3*

\* Significantly different from controls at p<0.05

**Table 2.** Thymus cellularity of mice following DMBA treatment(Unit: Number, Mean  $\pm$  S.D.)

Group	Days after DMBA treatment				
	1	3	7	14	21
Control	9.10 $\pm$ 3.23 <sup>a</sup>	8.79 $\pm$ 0.65	9.58 $\pm$ 0.50	10.59 $\pm$ 1.01	10.15 $\pm$ 0.83
DMBA (50 $\mu$ g/g)	8.09 $\pm$ 2.04	8.41 $\pm$ 1.22	8.78 $\pm$ 1.11	7.97 $\pm$ 1.14*	5.44 $\pm$ 1.27*
DMBA 100 $\mu$ g/g)	8.47 $\pm$ 1.87	7.58 $\pm$ 1.13	8.32 $\pm$ 0.70	6.22 $\pm$ 1.76*	4.06 $\pm$ 0.90*

<sup>a</sup> Thymus cellularity ( $\times 10^7$ ) is expressed as a number of mononuclear cells per thymus\* Significantly different from controls at  $p < 0.05$ **Figure 1.** Thymus tissue. The cortex (C) is well distinguished from the medulla (M) in control group (a). Note the depleted thymocytes of the cortex at 14 days after treatment of 100  $\mu$ g/g DMBA (b). Thymic cortex is severely destroyed at 21 days after treatment of 100  $\mu$ g/g DMBA (c). H & E.  $\times 100$ .

였으며, 21일에는 대조군에 비하여 각각 46.4%, 60.0%의 심한 감소율을 나타냈다(Table 2).

### 병리조직학적 변화

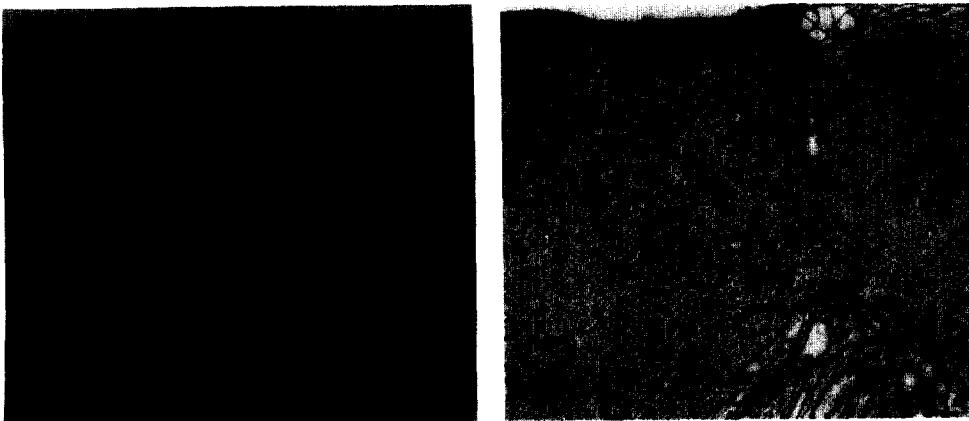
50  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA투여군의 흉선은 실험 전기간을 통하여 대조군과 비교하여 형태학적 큰 차이를 보이지 않았으며, 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA투여군은 1일, 3일 및 7일에는 대조군(Figure 1a)과 유사한 형태를 나타냈으나, 14일에는 피질을 구성하고 있는 흉선세포들이 현저히 감소되고(Figure 1b), 21일에는 피질내의 많은 임파구들이 심하게 파괴되었으며(Figure 1c) 교원섬유의 발달은 미약하였으나 reticulin염색시 대조군(Figure 2a)에 비하여 세망섬유들이 현저히 발달되어 피질과 수질의 구분이 불분명하였다(Figure 2b).

### 미세구조의 변화

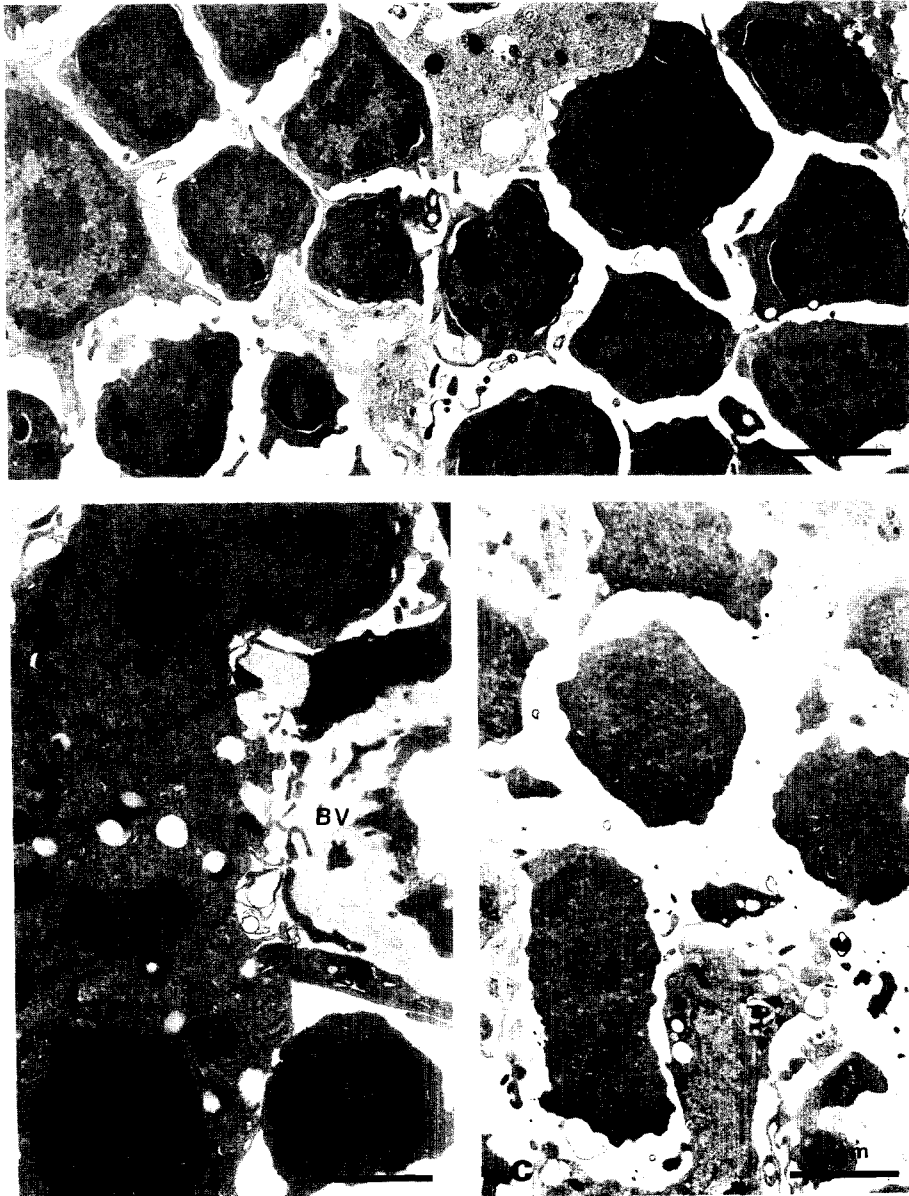
50  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA투여군은 광학현미경으로 관찰하였을 때 실험 전기간을 통하여 흉선의 조직학적 변화가 뚜렷하지 않았으므로 전자현미경 관찰은 하지 않았다. 한편 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA투여군의 흉선은 1일과 3일에 대조군(Figure 3a)과 유사한 소견을 보였으나, 7일에는 corticomedullary junction의 혈관주위에 위치하는 phagocytic epithelial cell에 의해 포식된 다수의 phagosomes들이 관찰되었고(Figure 3b), 14일에는 피질내 다수의 임파구들이 괴사 및 파괴되었으며(Figure 3c) 이러한 파괴된 세포를 탐식한 탐식세포들이 현저히 증가하였는데, 이들 탐식세포의 핵내에는 1~2개의 핵소체가 뚜렷하였으며, 세포질내에는 다수의 mitochondria, free ribosomes 및 rER이 관찰되었고 tonofilament도 잘 발달되어 있었다. 특히 이러한 phagocytic epithelial cell들은 corticomedullary junction의 혈관주위에서 주로 관찰되었다. 21일에도 14일군과 유사한 소견을 나타냈다.

### 면역형광항체 반응

흉선동결조직에서는 대조군과 DMBA 투여군 전체에서 IgM항체에 양성반응을 보이는 세포들이 관찰되지 않았으며, 대조군에 있어서 흉선의 피질은 거의 모든 세포들이 Thy1.2항체에 양성반응을 나타내는 세포들로 구성되어 있었으며 수질에서는 소수의 세포들만이 양성반응을 나타내고 피질과 수질은 분명한 경계를 나타내고 있었다(Figure 4a). 한편 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA를

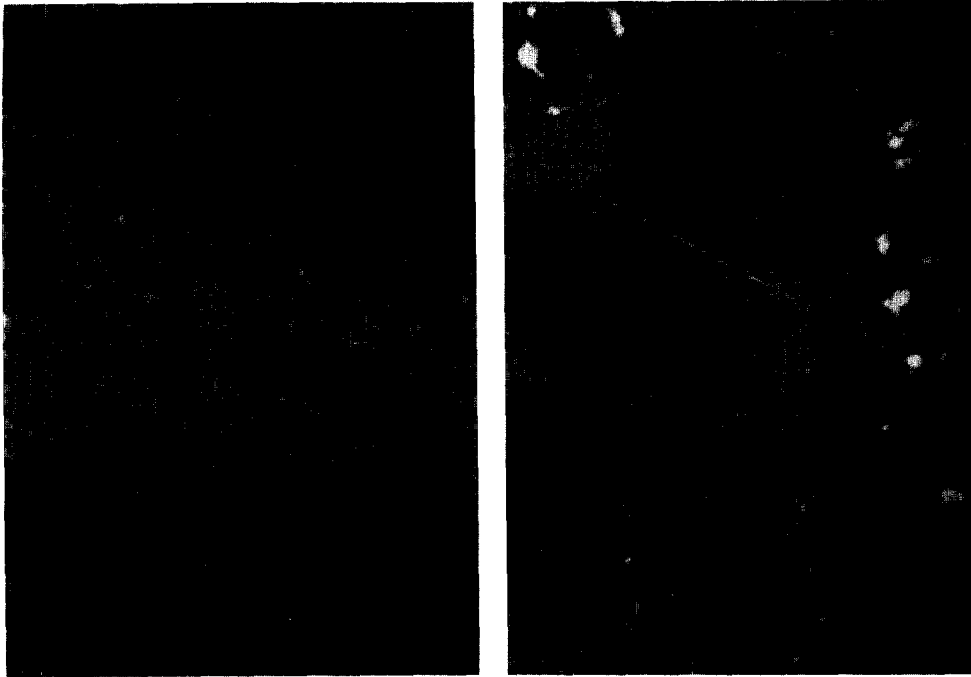


**Figure 2.** Thymus tissue from a control group (a) and at 21 days after treatment of 100  $\mu\text{g/g}$  DMBA (b). The cortex is poorly defined with the medulla, and reticulin fiber is remarkably developed in entire thymic tissue (b). Gomori's reticulin stain.  $\times 100$ .



**Figure 3.** Electron micrograph of thymus tissue from control group (a), and at 7 days (b) and at 14 days after treatment of 100 µg/g DMBA (c). Phagocytic epithelial cell adjacent to the blood vessel (BV) contains phagosomes of various size in its cytoplasm (b). And note the remarkable destruction of thymocytes (c).

투여한 후 1일과 3일에는 대조군과 유사하였으나, 14일에는 피질부를 구성하고 있는 많은 흉선세포들이 파괴되었으며, 수질부에 Thy1.2 양성세포들이 다수 관찰되어 피질부와 수질부의 경계가 불분명하여졌고, 21일에는 14일에 비하여 피질부의 흉선세포들이 더 심하게 파괴되었다 (Figure 4b).



**Figure 4.** Immunofluorescence staining of thymus tissue with Thy1.2 monoclonal antibody. Most of thymocytes within the cortex in control group (a) are stained, but a large number of thymocytes within the cortex are destroyed at 21 days after treatment of 100  $\mu\text{g/g}$  DMBA (b).  $\times 200$ .

## 고 찰

화석연료(석유, 석탄, 천연가스 등)의 불완전 연소에 의해 발생될 뿐만아니라 담배연기내에도 존재하는 주된 환경오염물질인 다환성 방향족 탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)에 속하는 화학물질에는 Methylcholanthrene(MCA), 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA), Benzo[a]pyrene(B[a]P) 등이 있는데, B[a]P는 체액성면역억제를 일으킴으로써 쥐의 입과구계세포에 면역독성을 나타내며(Stjernswärd, 1966; Wodjani & Alfred, 1984; Blanton *et al.*, 1986), MCA는 체액성(Ball, 1970) 및 세포매개성 면역반응(Stjernswärd, 1966; Wodjani & Alfred, 1984)을 억제시키고, DMBA는 가장 강력한 발암성화학물질로서 체액성(Ball, 1970; Ward *et al.*, 1984, 1986) 및 세포매개성 면역반응(Ehrlich *et al.*, 1983; Dean *et al.*, 1986; Ward *et al.*, 1986)을 억제시키는데, DMBA에 의한 1차 표적세포는 T세포계이다(Yamashita & Hamaoka, 1982). 한편 PAH에 의한 면역학적 영향은 동물의 나이, 투여경로, 성별, 호르몬상태, 영양상태, 종(species), 혈통(strain) 및 기타 요인 등에 따라 달라질 수 있으며(Urso & Gengozian, 1980; Thurmond *et al.*, 1988), PAH에 의한 각종 암의 유발은 면역독성에 의한 면역기능의 저하와 깊은 관계가 있다(Fohlmeister *et al.*, 1982; Yamashita & Hamaoka, 1982; Ward *et al.*, 1984, 1986; Dean *et al.*, 1986; House *et al.*, 1987; Burchiel *et al.*, 1988; Halliday *et al.*, 1990).

100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA를 마우스에 투여한 후 4주에 대조군에 대하여 비장과 흉선의 무게는 각각 59.7% 및 38.4%가 감소하였으며(Ward *et al.*, 1986), 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA는 흉선과 비장의 무게 및 세포성을 심하게 억제시킬 뿐만 아니라(Thurmond *et al.*, 1987), 비장내의 T세포군(Thy1.2, Lyt.1 및 Lyt.2)을 감소시키는데(Burchiel *et al.*, 1988), 본 연구결과에 의하면 50  $\mu\text{g/g}$ 의

DMBA투여후 14일과 21일에 대조군에 대하여 흉선의 무게가 각각 30.5%, 50.6%가 감소하였으나, 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA투여 후 14일과 21일에는 각각 44.9%, 66.0%의 높은 감소율을 나타냈으며, 흉선의 총세포수도 50  $\mu\text{g/g}$  및 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA투여후 21일에 각각 46.4%, 60.0%의 감소율을 나타냄으로써 흉선의 무게 및 세포성은 DMBA의 투여량의 증가와 시간이 경과함에 따라 크게 감소함을 알 수 있다.

흉선은 골수에서 유입되는 precursor T세포를 T임파구로 분화시키는 중심 임파기관으로서, allograft rejection과 graft-versus-host(GVH)반응과 같은 세포성 면역에 관여를 하는데, 흉선이 T세포를 분화시키는 정확한 기전에 대해서는 밝혀져 있지 않으며, 이에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다(Hsu & Jaffe, 1985; Wick & Rosai, 1988; Suster & Rosai, 1990).

본 연구에서 50  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA를 투여했을 때 흉선은 실험 전기간을 통하여 뚜렷한 형태학적 변화가 관찰되지 않았으며, 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA투여군은 7일까지는 대조군과 유사한 형태를 나타냈으나, 14일에는 피질내 임파구들이 현저히 감소하였으며, 21일에는 피질이 심하게 파괴되고 reticulin염색시에 흉선조직내에 세망섬유가 현저히 증가되어 피질과 수질의 경계가 불분명하여졌다. 이와같은 흉선조직의 뚜렷한 형태학적 변화는 흉선의 피질을 구성하고 있는 임파구가 흉선의외의 임파조직에 존재하는 임파구보다 DMBA의 세포독성 작용에 대한 감수성이 더 높기 때문이거나(Rappaport & Baroni, 1962), DMBA의 표적세포인 다능력 조혈간세포(pluripotent hemopoietic stem cell)의 파괴로 인한 조혈기능의 장애를 원인으로 볼 수도 있는데, 그 이유는 흉선은 골수에서 유래하는 pre-T세포의 증식과 분화에 직접적으로 영향을 미칠뿐만 아니라 골수내의 다능력 조혈간세포는 임파구의 ancestor이기 때문이다(Petrov *et al.*, 1977; Shinpock & Goodman, 1978; Fohlmeister *et al.*, 1982).

한편 PAH인 DMBA의 면역기관에 미치는 면역독성을 밝히기 위해 많은 연구가 이루어져 왔지만, 그러한 연구들이 주로 *in vitro*상태에서 수행되어 왔으며, 면역기관을 형성하고 있는 면역세포들에 대한 면역조직화학적 연구는 전혀 되어 있지 않은 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 DMBA의 흉선에 미치는 면역독성을 밝히기 위해 Thy1.2항체와 IgM항체를 이용하여 면역형광염색을 실시하였다. 이때 흉선동결조직에서는 대조군과 DMBA투여군 전체에서 IgM항체에 양성반응을 보이는 세포들이 관찰되지 않았으며, 대조군의 흉선피질은 거의 모든 세포들이 Thy1.2항체에 양성반응을 나타내는 세포들로 구성되어 있었으나, 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA투여 후 14일과 21일에 Thy1.2항체에 강한 염색반응을 보이는 흉선 피질내의 임파구들이 심하게 파괴되어 피질과 수질의 경계가 불분명하여졌는데, Lee 등(1992)은 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA가 마우스 비장내 동맥주위임파구초를 구성하고 있는 T세포들을 다수 파괴시켰다고 하였으며, Burchiel 등(1988)은 비장내의 T세포군(Thy1.2, Lyl.1 및 Lyl.2)이 상당히 감소되었다고 하였는데, 이러한 사실로 미루어 볼 때 DMBA는 T세포에 대하여 점진적이며 강한 세포독성을 나타낸다고 할 수 있다.

사람(Bearman *et al.*, 1978; Gaudecker, 1978)을 비롯한 마우스(Hoshino, 1963), 랫트(Brelinska *et al.*, 1985), 기니픽(Mandel, 1968) 및 golden hamster(Ito & Hoshino, 1966) 등의 흉선에 대한 전자현미경적 연구가 많은 연구가들에 의해 이루어져 흉선을 구성하고 있는 세포들의 미세구조가 밝혀졌다. 한편 강력한 면역독성작용을 갖고 있는 것으로 밝혀진 DMBA가 흉선에 미치는 영향에 대한 미세구조학적 연구는 시도된 바가 없다. 본 연구결과에 의하면 100  $\mu\text{g/g}$ 의 DMBA를 투여한 후 14일에 피질을 구성하고 있는 세포들 중 다수의 임파구들이 괴사 및 파괴되었으며, 이러한 파괴된 세포를 탐식한 epithelial cell들이 현저히 증가하였는데, 특히 corticomedullary junction의 혈관주위에서 다수가 관찰되었으며, 이러한 현상은 21일에도 지속되었다.

DMBA는 골수(Lee & Lee, 1992), 비장(Lee *et al.*, 1992) 및 흉선과 같은 임파기관에 병리조직학적 및 면역학적 독성을 나타내며 이러한 독성은 DMBA의 투여량의 증가와 시간이 경



과함에 따라 증가함을 알 수 있었는데, 특히 DMBA는 흉선피질을 구성하고 있는 임파구에 대한 심한 세포독성을 나타낼 뿐만아니라 흉선조직내 세망섬유의 현저한 발달을 촉진시키는 바 이와같은 세포독성과 조직내 섬유화가 발달과정에 있어서 중요하게 작용할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Ball, J.K. (1970): Immunosuppression and carcinogenesis: Contrasting effects with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene, benzo[a]pyrene, and 3-methylcholanthrene. *J. Nat. cancer Inst.* **44**, 1-10.
- Bearman, R.M., Levine, G.D., and Bensch, K.G. (1978): The ultrastructure of the normal human thymus: A study of 36 cases. *Anat. Rec.* **190**, 755-782.
- Blanton, R.H., Lyte, M., Myers, M.J., and Bick, P.H. (1986a): Immunomodulation by polycyclic aromatic hydrocarbons in mice and murine cells. *Cancer Research* **46**, 2735-2739.
- Brelinska, R., Kaczmarek, E., Warchol, J.B., and Jaroszewski, J. (1985): Distribution of different cell types within the rat thymus in the neonatal period of life. *Cell Tissue Res.* **240**, 473-478.
- Burchiel, S.W., Madley, W.M., Barton, S.L., Fincher, R.H., Lauer, L.D. and Dean, J.H. (1988): Persistent suppression of humoral immunity produced by 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene(DMBA) in B6C3F1 mice: Correlation with changes in spleen cell surface markers detected by flow cytometry. *Int. J. Immunopharmac.* **10**, 369-376.
- Dean, J.H., Ward, E.C., Murray, M.J., Lauer, L.D., House, R.V., Stillman, W., Hamilton, T.A., and Adams, D.O. (1986): Immunosuppression following 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene exposure in B6C3F1 mice. II. Altered cell-mediated immunity and tumor resistance. *Int. J. Immunopharmacol.* **8**, 189-198.
- Edelman, A.S., Xue, B., Sanchez, P., and Thorbecke, G.J. (1985): Cross-reactive cellular and humoral immunity to carcinogen-induced chicken fibrosarcomas. I. Protective cross-immunity between transplantable tumor lines. *J. Immunol.* **135**, 2206-2219.
- Ehrlich, R., Efrati, M., Malatzky, E., Shochat, L., Eyal, A.B., and Witz, I.P. (1983): Natural host defence during oncogenesis. NK activity and dimethylbenz[a]anthracene carcinogenesis. *Int. J. Cancer* **31**, 67-73.
- Fohlmeister, I., Schaefer, H.E., and Fischer, R. (1982): On the pathogenesis of preleukemic myelodysplastic syndromes: Development of a dysplastic hemopoietic proliferation in the rat after a single pulse dose of Dimethylbenz[a]anthracene(DMBA). *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **104**, 249-261
- Gaudecker, B. (1978): Ultrastructure of the age-involuted adult human thymus. *Cell Tiss. Res.* **186**, 507-525.
- Halliday, G.H., Cavanagh, L.L., and Muller, H.K. (1988.): Antigen presented in the local lymph node by cells from Dimethylbenz[a]anthracene-treated murine epidermis activates suppressor cells. *Cellular Immunology* **117**, 289-302.
- Halliday, G.M., Wood, R.C., and Muller, H.K. (1990): Presentation of antigen to suppressor cells by a dimethylbenz[a]anthracene-resistant Ia-positive, Thy.1-negative, I-J-restricted epidermal cell. *Immunology* **69**, 97-103.
- Hoshino, T. (1963): Electron microscopic studies of the epithelial reticular cells of

- the mouse thymus. *Zeitschrift für Zellforschung* **59**, 513-519.
- House, R.V., Lauer, L.D., Murray, M.J., and Dean, J.H. (1987): Suppression of T-helper cell function in mice following exposure to the carcinogen 7,12-dimethylbenz[a]-anthracene and its restoration by Interleukin-2. *Int. J. Immunopharmac.* **9**, 89-97.
- Hsu, S.H., and Jaffe, E.S. (1985): Phenotypic expression of T lymphocytes in thymus and peripheral lymphoid tissues. *Am. J. pathol.* **121**, 69-78.
- Ito, T., and Hoshino, T. (1966): Fine structure of the epithelial reticular cells of the medulla of the thymus in the golden hamster. *Zeitschrift für Zellforschung* **69**, 311-318.
- Lee, D.Y., and Lee, S.M. (1992): Hematopathological effects of 7,12-Dimethylbenz[a]-anthracene on bone marrow in BALB/C mouse. *J. Anim. Sci. & Tech.* **17**, 87-94.
- Lee, D.Y., Han, S.S., and Lee, S.M. (1992): Immunopathology of spleen following 7,12-dimethylbenz[a]anthracene treatment in BALB/C mice. *Korean J.Toxicol.* **8**, 179-189.
- Mandel, T. (1968): Ultrastructure of epithelial cells in the cortex of guinea pig thymus. *Zeitschrift für Zellforschung* **92**, 159-168.
- Petrov, R.V., Khaitov, R.M., Aleinikova, N.Y., and Gulak, L.V. (1977) Factors controlling stem cell recirculation. III. Effect of the thymus on the migration and differentiation of hemopoietic stem cells. *Blood*, **49**, 865-872.
- Raikow, R.B., Okunewick, J.P., Jones, D.L., and Buffo, M.J. (1983): Potentiation of Friend viral leukemogenesis by 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene in two strains of mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **173**, 125-129.
- Rappaport, H., and Baroni, C. (1962): A study of the pathogenesis of malignant lymphoma induced in the swiss mouse by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene injected at birth. *Cancer Research* **22**, 1067-1087.
- Shincock, S.G., and Goodman, J.W. (1978): Ability of thymic lymphocytes to alter CFU kinetics in radiation chimeras. *Cell Tissue Kinet.* **11**, 111-117.
- Silva, S., Babonits, M., Wiener, R., and Klein, G. (1988): Further studies on chromosome 15 trisomy in murine T-cell lymphomas: mapping of the relevant chromosome segment. *Int. J. Cancer* **41**, 738-743.
- Stjernswärd, J. (1966): Effect of noncarcinogenic and carcinogenic hydrocarbons on antibody-forming cells measured at the cellular level in vitro. *J. Nat. Cancer Inst.* **36**, 1189-1195.
- Suster, S., and Rosai, J. (1990): Histology of the normal thymus. *Am. J. surg. pathol.* **14**, 284-303.
- Thurmond, L.M., House, R.V., Lauer, L.D., and Dean, J.H. (1988): Suppression of splenic lymphocyte function by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene(DMBA) *in vitro*. *Toxicol. Appl. Pharmac.* **93**, 369-377.
- Thurmond, L.M., Lauer, L.D., House, R.V., Cook, J.C., and Dean, J.H. (1987): Immunosuppression following exposure to 7,12-dimethylbenz[a]anthracene(DMBA) in Ah-responsive and Ah-nonresponsive mice. *Toxicol. Appl. Pharmac.* **91**, 450-460.
- Urso, P., and Gengozian, N. (1980): Depression humoral immunity and increased tumor incidence in mice following in utero exposure to benzo[a]pyrene. *J. Toxicol. Environ. Health* **6**, 569-576.

- Ward, E.C., Murray, M.J., Lauer, L.D., House, R.V., Irons, R., and Dean, J.H. (1984): Immunosuppression following 7,12-dimethylbenz[a]anthracene exposure in B6C 3F1 mice. I. Effects on humoral immunity and host resistance. *Toxicol. Appl. Pharmac.* **75**, 299-308.
- Ward, E.C., Murray, M.J., Lauer, L.D., House, R.V., and Dean, J.H. (1986): Persistent suppression of humoral and cell-mediated immunity in mice following exposure to the polycyclic aromatic hydrocarbon 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Int. J. Immunopharmac.* **8**, 13-22.
- Wick, M.R., and Rosai, J. (1988): Neuroendocrine neoplasms of the thymus. *Path. Res. Pract.* **183**, 188-199.
- Wojdani, A., and Alfred, L.J. (1984): Alterations in cell-mediated immune functions induced in mouse splenic lymphocytes by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer Research* **44**, 942-945.
- Yamashita, U., and Hamaoka, T. (1982): Selective suppression of host T cell and macrophage activities during 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced carcinogenesis. *GANN* **7e**, 773-782.

