

## 비장과 흉선의 림프세포와 LPS에 의해 유도된 사이토카인의 발현에 대한 수은의 영향

김상현\*\*\* · 최철희\*\* · 임종필\*\*\* · 신태용\*\*\*, #

\*조지아 주립대학, \*\*조선대학교 의과대학, \*\*\*우석대학교 약학대학

(Received July 21, 2004; Revised August 12, 2004)

## Oral Exposure to Mercury Alters T Lymphocyte Phenotypes and Augments LPS-induced Cytokine Expressions in Spleen and Thymus

Sang-Hyun Kim\*\*\*, Cheol-Hee Choi\*\*, Jong-Pil Lim\*\*\* and Tae-Yong Shin\*\*\*, #

\*Interdisciplinary Program of Toxicology, University of Georgia, Athens, Georgia 30602, USA

\*\*Research Center for Resistant Cells, College of Medicine, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

\*\*\*College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea

**Abstract** — Mercury is a widespread metal and consequently there are large populations that currently exposed to low levels of mercury. Endotoxin is a component of the gram-negative bacteria and promotes inflammatory responses. The present study was designed to determine the impact of mercury on lymphocytes phenotype populations and endotoxin-induced inflammatory cytokine expressions in immune organ, spleen and thymus. Male BALB/c mice were exposed continuously to 0, 0.3, 1.5, 7.5, or 37.5 ppm of mercuric chloride in drinking water for 14 days and at the end of the treatment period, lipopolysaccharide (LPS, 0.5 mg/kg) was injected intraperitoneally 2 h prior to euthanasia. The dose-range of mercury used did not cause hepatotoxicity. Mercury at 7.5 and 37.5 ppm dose-dependently decreased CD3<sup>+</sup> T lymphocytes in spleen; both CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> single positive lymphocyte populations were decreased. Exposure to 7.5 and 37.5 ppm of mercury decreased the CD8<sup>+</sup> T lymphocyte population in the thymus, whereas double positive CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> thymocytes were not altered. Mercury altered LPS-induced inflammatory cytokine gene expressions such as, tumor necrosis factor  $\alpha$ , interferon  $\gamma$ , and interleukin-12 in spleen and thymus. Results indicated that decreases in T lymphocyte populations in immune organs and altered cytokine gene expression may contribute to the immune-modulative effects of inorganic mercury.

**Keywords** □ mercury, LPS, T lymphocyte, drinking water, inflammatory cytokine, immune-modulation

수은은 널리 알려진 독성물질 중의 하나이며 독성을 나타내지 않는 저용량의 수은이라도 만성적으로 흡수되면 신경독성, 신장독성 그리고 면역계의 교란을 가져오며 특히 바이러스 감염시 숙주의 대응력을 약화시킨다.<sup>1-3)</sup> 최근 인류건강에 대한 경각심과 대체물질 사용에 의해 수은의 사용은 감소되었으나 토양과 물에 의한 저용량의 만성적인 수은 중독은 여전히 일어나고 있다.

세계보건기구에서 정한 안전농도 이하의 수은에 노출된 사람을 대상으로 한 실험에서 이러한 저농도의 수은은 신경계 질환을 일으키지는 않지만 면역계의 이상을 가져오는 것으로 나타났

다.<sup>4)</sup> 면역계는 수은에 의해 독성이 나타나는 표적기관중의 하나이고, 특히 저농도 수은의 생체에 대한 영향을 실험하는데 좋은 연구 분야임을 알 수 있다. 수은에 대한 만성적인 노출은 비록 저농도라 할지라도 숙주의 면역력을 약화시키고 또한 자가 항체를 생성시켜 자가면역질환을 유발한다.<sup>5,6)</sup> 저자 등은<sup>7)</sup> 독성을 유발하지 않는 범위의 저용량의 수은이 LPS에 의해 증가되며 생체 방어반응에서 중요한 역할을 하는 NO의 생성을 저해하고 tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$ , interleukin(IL)-1 $\beta$ , IL-6 등과 같은 염증유발 사이토카인의 생성에 여러 가지 transcription factor들을 조절함으로써 영향을 미친다는 것을 보고한바 있다. 지금까지 수은에 의해 사이토카인의 발현이 변화된다는 것은 알려져 있으나<sup>8)</sup> 비장과 흉선같은 면역기관에서 림프세포들의 변화와 사이토카인의 발현에 대한 수은의 영향에 대해서는 연구된 바

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 063-290-1572 (팩스) 063-290-1567  
(E-mail) tyshin@woosuk.ac.kr

가 없다.

따라서 본 연구에서는 저용량의 수은이 비장과 흉선의 림프세포에 미치는 영향과 그 조직에서 LPS에 의한 사이토카인의 발현에 미치는 영향을 검토하였다. 또한 음식물이나 식수가 수은의 주 노출 경로이고 경구로 흡수된 수은의 양이 농도 의존적으로 번역기관으로 흡수된다는 사실<sup>9)</sup> 감안하여 수은을 음용수에 섞어 투여하였다.

## 실험방법

### 시약 및 기기

Mercuric chloride, lipopolysaccharide(LPS) 및 tryphan blue는 Sigma사로부터 구입하여 사용하였다. Hitachi 912 automatic analyzer는 Roche사(USA), Stomacher blender는 STOM사(UK), EPICS XL-MCL flow cytometer는 Coulter사(USA), UN-SCAN-IT software는 Silk Scientific사(USA)의 제품을 사용하였다.

### 실험동물

실험에 사용한 BALB/c계 수컷 생쥐(6주령)는 Harlan사(USA)에서 구입하여 온도 21°C, 상대습도 50% 및 12시간마다 낮과 밤이 반복되도록 빛을 조절한 동물 사육실에서 1주일 이상 순화시켜 체중 25~30 g 범위의 것을 사용하였다.

### 약물투여

수은(mercuric chloride)을 0, 0.3, 1.5, 7.5, 37.5 ppm의 농도로 음용수에 섞어 2주 동안 투여하였다. 대조군 동물은 증류수를 투여하였다. 매번 새롭게 만든 수은 용액을 이틀 간격으로 교체하였으며, 매일 생쥐의 체중과 섭취한 음용수 그리고 사료의 양을 기록하였다. 수은 투여의 마지막 날 생쥐를 하룻동안 금식시키고 LPS(0.5 mg/kg)를 복강 내로 투여하고 2시간 후에 마취시킨 후 생쥐의 혈액과 비장, 그리고 흉선조직을 채취하였으며 각각의 장기의 무게를 기록하였다.

### 간독성 측정

투여한 약물에 의한 간독성은 혈장중 alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase(AST)를 Hitachi 912 automatic analyzer를 이용하여 측정하였다.

### 비장과 흉선 세포의 분리와 유세포 분석

Johnson과 Sharma의 방법<sup>10)</sup>에 의하여 분리하였다. 즉 RPMI 배지에 보관시킨 조직을 Stomacher blender를 이용해 단일세포 상태로 만들고 결합조직들은 120 µm 스크린을 이용하여 제거하였다. 분리한 세포는 RPMI 배지에 현탁시켰으며 trypan blue 염색으로 생존을 검사시 95% 이상의 생존율을 나타내었다. 분리된 세포들은 PAB(PBS with 1% bovine serum albumin and 0.1% NaN<sub>3</sub>) 용액으로 세 번 세척하고 0.5% 포르말린에 함유된 PBS 용액에 재부유 시켰다. 고정된 세포들은 세포 수용체 특이적 항체를 이용하여 EPICS XL-MCL flow cytometer로 유세포 분석하였다.

### 조직내 사이토카인 발현 분석

조직내 RNA 분리는 Tsunoda와 Sharma의 방법<sup>11)</sup>을 이용하여 분리하였다. cDNA는 Superscript II(Life Technologies 사, USA)를 이용하여 만들고 RT-PCR를 이용하여 TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-12, 그리고 β-actin의 발현량을 분석하였다. RT-PCR의 조건은 김 등의 방법<sup>7)</sup>에 준하여 실험하였고 각각의 PCR cycle은 예비실험을 통해 최적화하였다. PCR 산물 25 µl을 2% agarose 젤로 전기영동하여 분리하고 ethidium bromide 용액으로 염색한 후 UN-SCAN-IT software를 이용하여 수치화하였다. 각 사이토카인의 밴드는 같은 샘플에서의 β-actin의 양으로 정량화하였다.

### 통계처리

각 실험 결과의 통계학적 분석은 SAS statistical software (SAS 사, USA)를 이용하였다. 수치의 분석은 one way analysis of variance(ANOVA)와 post-hoc Duncan's Multiple Range

**Table I** - Effects of oral exposure to mercury on spleen lymphocyte population

Mercury in water (ppm)	LPS	Splenocytes ( $\times 10^5$ ) per spleen expression receptor			
		CD3 <sup>+</sup> (T lymphocytes)	CD45/B220 <sup>+</sup> (B lymphocytes)	CD4 <sup>+</sup> (T-helper)	CD8 <sup>+</sup> (T-cytotoxic)
0	-	51.69±0.93	50.80±3.04	31.29±0.64	19.08±0.27
37.5	-	36.77±0.87*	54.11±1.01	20.55±1.19*	13.32±1.32*
0	+	50.44±1.45	51.41±0.98	30.45±0.78	20.55±1.07
0.3	+	47.59±0.64	51.87±2.30	28.75±0.55	18.93±0.53
1.5	+	46.01±1.65	51.44±1.25	27.92±1.20	18.02±0.53
7.5	+	41.91±1.81*	53.52±1.81	25.04±1.30*	14.89±0.58*
37.5	+	39.56±0.94*	56.81±2.63	23.14±0.61*	14.69±0.35*

Populations are represented as absolute cell numbers expression a given receptor. Mean±SE (n=4).

\*Significantly different from the control group (no treatment) at  $p < 0.05$ .

test법을 이용하였고 p<0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

소하였으나 유의성을 나타내지는 않았다(data not shown). 생쥐가 섭취한 사료와 음용수의 양은 가장 높은 농도의 수은 투여군(37.5 ppm)에서만 감소되었다.

**실험결과**

**간독성과 사료, 음료 섭취량**

수은을 0.3, 1.5, 7.5, 37.5 ppm으로 음용수에 섞어 2주간 투여한 군, 그리고 LPS(0.5 mg/kg)를 복강주사로 2시간 투여한 군에 대해 ALT와 AST를 측정하였을 때 수은의 농도에 따라 약간 감

**생쥐의 체중과 장기무게의 변화**

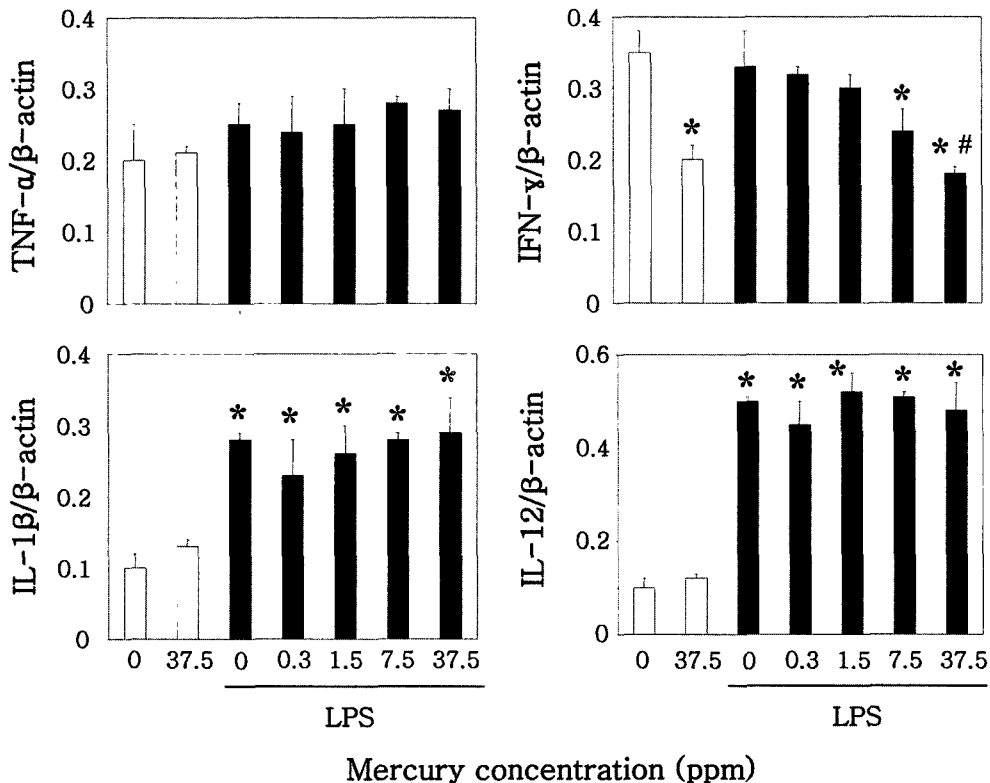
수은의 투여가 생쥐의 체중증가와 상대적인 장기의 무게에 대한 영향은 2주간의 실험동안 대조군은 11.3%의 체중증가를 보였으나 37.5 ppm의 수은을 투여한 군은 2.1%의 체중증가에 그

**Table II** – Effects of oral exposure to mercury on thymus lymphocyte population

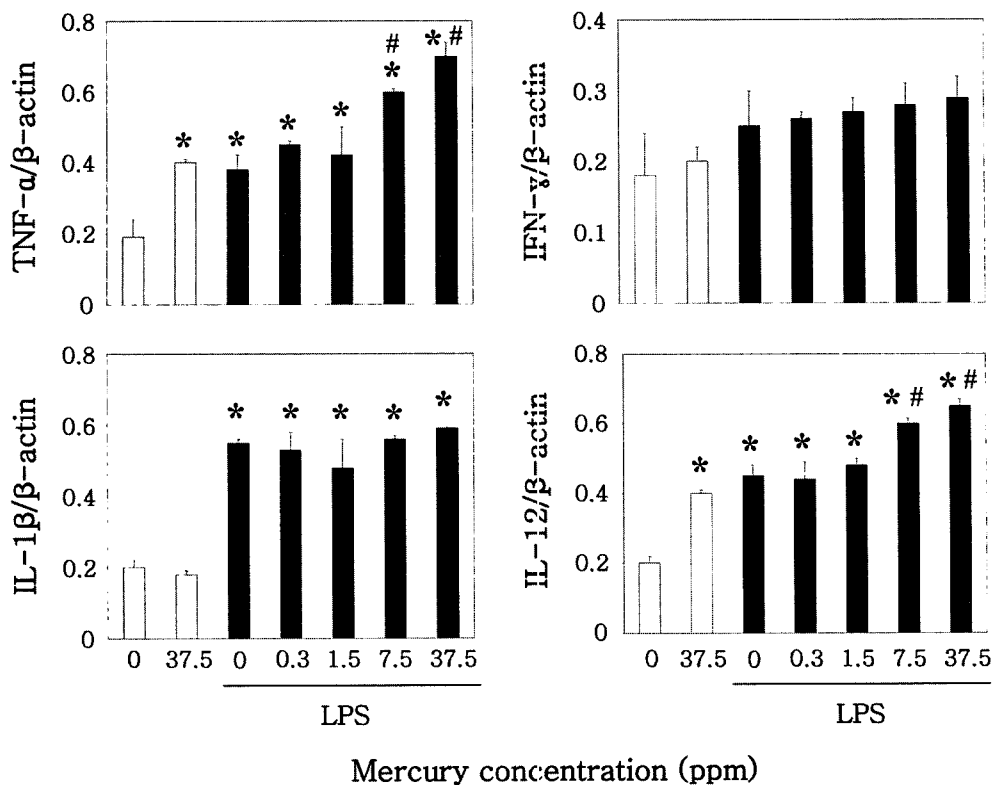
Mercury in water (ppm)	LPS	Thymocytes ( $\times 10^5$ ) per thymus expression receptor		
		CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> (double-positive)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>-</sup> (helper)	CD4 <sup>-</sup> /CD8 <sup>+</sup> (cytotoxic)
0	-	70.35±9.94	9.58±0.82	3.99±0.19
37.5	-	67.88±1.41	7.41±1.10	2.31±0.22*
0	+	66.23±8.88	8.99±3.21	3.21±0.55
0.3	+	63.54±6.71	8.06±1.06	3.18±0.19
1.5	+	61.08±7.21	7.63±0.82	2.91±0.32
7.5	+	70.02±2.92	7.56±0.43	2.49±0.31*
37.5	+	66.23±6.21	7.05±0.69	2.38±0.16*

Populations are represented as absolute cell numbers expression a given receptor. Mean±SE (n=4).

\*Significantly different from the control group (no treatment) at p<0.05.



**Fig. 1** – The effect of inorganic mercury on the LPS-induced expression of various cytokines in spleen. Male BALB/c mice were treated with 0.3, 1.5, 7.5, 37.5 ppm of mercury in the drinking water for 14 days. Animals were sacrificed 2 h after LPS injection. Extraction and analysis of mRNA performed as described under Materials and methods. Each gene expression was analyzed by RT-PCR. Results are expressed as mean±SE (n=4). \*Significantly different than the control group at p<0.05. #Significantly different from the LPS alone group at p<0.05.



**Fig. 2** – The effect of inorganic mercury on the LPS-induced expression of various cytokines in thymus. Male BALB/c mice were treated with 0.3, 1.5, 7.5, 37.5 ppm of mercury in the drinking water for 14 days. Animals were sacrificed 2 h after LPS injection. Extraction and analysis of mRNA performed as described under Materials and methods. Each gene expression was analyzed by RT-PCR. Results are expressed as mean  $\pm$  SE (n=4). \*Significantly different than the control group at  $p < 0.05$ . #Significantly different from the LPS alone group at  $p < 0.05$ .

쳤다. 이에 반해 비장의 상대적 무게는 가장 고농도의 수은 투여군에서 증가하였다. 그러나 흉선에서는 변화가 없었다.

#### 비장과 흉선에서 림프세포의 변화

수은의 투여는 비장과 흉선에서의 림프세포수를 농도 의존적으로 감소시켰다. LPS의 처리는 2시간으로 한정되었으므로 림프세포의 수에 영향을 미치지 않았다. 수은은 7.5와 37.5 ppm의 농도로 투여시 총  $CD3^+$  T 림프세포를 감소시켰으나  $CD45^+$  B 림프세포에는 영향이 없었다.  $CD4^+$ 와  $CD8^+$  T 림프세포도 농도 의존적으로 감소되었고  $CD3^+$  T 림프세포의 수 감소와 일치하였다. 수은 7.5와 37.5 ppm 투여군은 흉선에서  $CD8^+$  T 림프세포의 감소를 나타내었다. 그러나  $CD4^+/CD8^+$ 와  $CD4^+$  T 림프세포에는 영향을 나타내지 않았다(Table I, Table II).

#### 비장과 흉선에서 사이토카인 발현의 변화

수은을 37.5 ppm으로 투여한 군은 비장에서 IFN- $\gamma$ 의 발현을 억제하였다. 그러나 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  및 IL-12의 발현에는 영향이 없었다. LPS의 투여는 IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  및 IL-12의 발현을 증가시켰고 37.5 ppm 수은 투여군은 LPS에 의한 IFN- $\gamma$ 의 발현을 억제

하였다. 흉선에서의 반응은 비장과 다른 양상으로 나타났다. 수은 37.5 ppm 투여군은 TNF- $\alpha$ 와 IL-12의 발현을 증가시켰다. 또한 7.5와 37.5 ppm 수은 투여군에서는 LPS에 의해 증가된 TNF- $\alpha$ 와 IL-12의 발현을 더욱 증가시켰다(Fig. 1, Fig. 2).

## 고 찰

2주간 수은을 Brown Norway 랫트에 투여하였을 때 수은이 림프노드에서  $CD45^+$  B 림프세포와  $CD4^+/CD8^+$  T 림프세포수의 변화 없이  $CD4^+$ 와  $CD8^+$ 의 수를 감소시킨다고 보고 되어 있다.<sup>12)</sup> 이 보고의 내용은 본 실험결과와 일치하며 이는 수은에 의한 T 림프세포의 변화가 단순히 수은의 독성에 의한 T 세포들의 감소가 아니라 또 다른 특이적인 메커니즘에 의한 것임을 암시한다. 수은은 면역억제에서 자가 면역까지 넓은 범위의 면역 반응을 유발한다.<sup>13)</sup> 수은을 B6C3F 생쥐에 2주간 투여했을 때 흉선의 무게가 감소되며 면역저하작용이 나타난다는 보고가 있다.<sup>14)</sup> 또한 수은은  $CD4^+$  림프노드 T 세포의 증식을 억제하며 IL-3와 IFN- $\gamma$ 의 분비를 억제하여 apoptosis에 이르게 한다는 보고도 있다.<sup>15)</sup> 그러나 본 실험의 결과에서 나타난 수은에 의한 일

부 T 림프세포의 감소는 수은에 의해 유도된 apoptosis에 의한 것임이 아닌 것으로 추정된다. 왜냐하면 실험결과에서 수은의 투여가 흉선의 무게에 영향을 미치지 않았고 apoptosis에 민감하게 반응하는 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 림프세포의 수에 변화가 없기 때문이다.

고용량의 LPS 투여는 생체에서 염증반응을 유발하며 그 결과로 다양한 면역반응을 유발하는 2차 전달물질을 발생시키며 염증을 더욱 악화시키고 결국 장기들을 손상시킨다.<sup>16)</sup> 이와는 달리 저용량의 LPS를 투여하면 조직을 손상시키지는 않지만 호중구의 축적이나 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12 같은 염증유발 사이토카인을 유리하며 염증반응을 촉매한다.<sup>17)</sup> LPS에 의해 유도되는 조직의 손상은 여러 가지 사이토카인들의 발현과 밀접한 관계가 있다.<sup>18)</sup> 본 실험에서 LPS의 투여는 2시간으로 한정되어서 림프세포의 수에는 영향을 미치지 않았다. 그러나 각 면역장기에서 염증 유발 사이토카인의 발현을 증가시켜 염증 반응을 유발 하였고, 또한 수은은 LPS에 의해 유발되는 사이토카인의 발현에 영향을 나타내었다.

IFN- $\gamma$ 는 major histocompatibility complex와 함께 T 림프세포에 의해 유발되는 면역반응, 특히 대식세포의 활성화에 중요한 역할을 차지한다. 37.5 ppm 수은 투여시 나타난 비장 IFN- $\gamma$ 의 발현량의 감소는 비장 T 림프세포의 감소와 상관관계가 있는 것으로 추정된다. 사이토카인의 발현은 다른 사이토카인들의 발현과의 상호관계에 의해 결정된다. 면역유발 사이토카인의 하나인 IL-12는 IFN- $\gamma$ 의 발현을 돕고 T-helper 1(Th1)의 분화를 야기한다.<sup>19)</sup> 생쥐의 흉선에 IL-12를 처리하면 CD8<sup>+</sup> T 림프세포수가 급격히 증가한다.<sup>20)</sup> 본 실험 결과에서 수은 투여에 의해 흉선 CD8<sup>+</sup> T 림프세포수가 현저히 감소되었기 때문에 아마도 IL-12가 CD8<sup>+</sup> T 림프세포로의 분화를 위해 다량으로 발현된 것으로 추측된다.

본 실험에서 보여준 여러 가지 사이토카인의 발현 결과는 수은을 2주 동안 투여한 후 측정되었다. 사이토카인의 발현은 시간에 따라 변화됨으로 시간 의존적으로 실험을 하는 것이 이상적인 실험이라 사료된다. 또한 본 실험에서 나타난 결과들이 수은의 직접적인 영향인지 혹은 간접적인 영향에 의해서인지 이 실험에서는 확실히 밝힐 수 없었다. 그러므로 이에 대한 추가 실험이 필요하다고 사료된다. 수은은 면역억제에서부터 면역자극까지 넓은 범위의 면역반응을 나타내는 특징을 가지고 있어 외부 물질에 의한 면역독성의 실험에서 가장 좋은 물질중의 하나로 여겨지고 있다.<sup>21)</sup> 그러므로 면역계 특히 비장과 흉선같은 면역 장기에서 수은의 영향과 LPS 같은 염증유발물질에 의해 야기되는 사이토카인에 대한 연구는 면역조절의 현상 이해에 좋은 방향을 제시할 수 있으리라 사료된다.

## 결 론

대표적인 독성물질중의 하나인 수은은 생체내로 투여되었을때

독성을 일으키지 않는 범위인 저농도라 할지라도 비장과 흉선에서 T 림프세포수를 감소시키고 사이토카인의 발현을 조절함으로써 면역반응에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

## 감사의 말씀

이 연구는 과학기술부·한국과학재단 지원 내성세포연구센터(R13-2003-009)의 일부지원으로 수행되었음.

## 문 헌

- 1) Christensen, M. M., Ellermann-Eriksen, S., Rungby, J. and Mogensen, S. C. : Influence of mercuric chloride on resistance to generalized infection with herpes simplex virus type 2 in mice. *Toxicol.* **114**, 57 (1996).
- 2) Gerstner, H. B. and Huff, J. E. : Clinical toxicology of mercury. *J. Toxicol. Environ. Health* **2**, 491 (1977).
- 3) Wild, L. G., Ortega, H. G., Lopez, M. and Salvaggio, J. E. : Immune system alteration in the rat after indirect exposure to methyl mercury chloride or methyl mercury sulfide. *Environ. Res.* **74**, 34 (1997).
- 4) Perlingeiro, R. C. and Queiroz, M. L. : Polymorphonuclear phagocytosis and killing in workers exposed to inorganic mercury. *Int. J. Immunopharmacol.* **16**, 1011 (1994).
- 5) Koller, L. D. : Methylmercury: effect on oncogenic and nononcogenic viruses in mice. *Am. J. Vet. Res.* **36**, 1501 (1975).
- 6) Sapin, C., Druet, E. and Druet, P. : Induction of anti-glomerular basement membrane antibodies in the Brown-Norway rat by mercuric chloride. *Clin. Exp. Immunol.* **28**, 173 (1977).
- 7) Kim, S. H., Johnson, V. J. and Sharma, R. P. : Mercury inhibits nitric oxide production but activates proinflammatory cytokine expression in murine macrophage: differential modulation of NF-kappaB and p38 MAPK signaling pathways. *Nitric Oxide* **7**, 67 (2002).
- 8) Hu, H., Moller, G. and Abedi-Valugerdi, M. : Major histocompatibility complex class II antigens are required for both cytokine production and proliferation induced by mercuric chloride *in vitro*. *J. Autoimmun.* **10**, 441 (1997).
- 9) Nielsen, J. B. and Andersen, O. : Oral mercuric chloride exposure in mice: effects of dose on intestinal absorption and relative organ distribution. *Toxicology* **59**, 1 (1989).
- 10) Johnson, V. J. and Sharma, R. P. : Gender-dependent immunosuppression following subacute exposure to fumonisin B1. *Int. Immunopharmacol.* **1**, 2023 (2001).
- 11) Tsunoda, M. and Sharma, R. P. : Modulation of tumor necrosis factor alpha expression in mouse brain after exposure to aluminum in drinking water. *Arch. Toxicol.* **73**, 419 (1999).
- 12) Kosuda, L. L., Whalen, B., Greiner, D. L. and Bigazzi, P. E. :

- Mercury-induced autoimmunity in Brown Norway rats: kinetics of changes in RT6+ T lymphocytes correlated with IgG isotypes of circulating autoantibodies to laminin 1. *Toxicol.* **125**, 215 (1998).
- 13) Koller, L. D. : Immunotoxicology of heavy metals. *Int. J. Immunopharmacol.* **2**, 269 (1980).
- 14) National Toxicology Program : Toxicology and carcinogenesis studies of mercuric chloride in F344/N rats and B6C3F1 mice. NIH publication, p. 91 (1993).
- 15) Shen, X., Lee, K. and Konig, R. : Effects of heavy metal ions on resting and antigen-activated CD4(+) T cells. *Toxicol.* **169**, 67 (2001).
- 16) Ghosh, S., Latimer, R. D., Gray, B. M., Harwood, R. J. and Oduro, A. : Endotoxin-induced organ injury. *Crit. Care Med.* **21**, S19 (1993).
- 17) Spitzer, J. A., Zhang, P. and Mayer, A. M. : Functional characterization of peripheral circulating and liver recruited neutrophils in endotoxic rats. *J. Leukoc. Biol.* **56**, 163 (1994).
- 18) Tsutsui, H., Matsui, K., Kawada, N., Hyodo, Y., Hayashi, N., Okamura, H., Higashino, K. and Akanishi, K. : IL-18 accounts for both TNF-alpha and Fas ligand-mediated hepatotoxic pathways in endotoxin-induced liver injury in mice. *J. Immunol.* **159**, 3961 (1997).
- 19) Trinchieri, G. : Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **3**(2), 133 (2003).
- 20) Godfrey, D. I., Kennedy, J., Gately, M. K., Hakimi, J., Hubbard, B. R. and Zlotnik, A. : IL-12 influences intrathymic T cell development. *J. Immunol.* **152**, 2729 (1994).
- 21) Bigazzi, P. E. : Mercury. In: Zelikoff, J. and Thomas, P. (Eds.), *Metal Immunotoxicology*. Taylor and Francis, London, UK. p.131 (1998).