

移植医療の基本的事項の理解のために-Overview from my works-

小林英司

慶應大学医学部臓器再生医学寄附講座

はじめに

近年、低侵襲外科治療が注目されてきているが、個々の手術の侵襲度自体を的確に判断することが外科治療で最も重要であることは変わらない事実である。臓器移植後に生じる病態は、通常の外科手術後のそれより複雑である。負荷される病態のポイントは、拒絶反応を主体とする免疫反応とその過剰な制御によって生じる感染症の発生にある。

著者は、我が国で臓器移植治療が始まる黎明期に移植免疫学を学んだ。そして臨床薬理で免疫抑制薬の研究領域を学んだ。それにより実際の臓器移植に必要な免疫学は、メカニズムが明らかになってきた移植免疫学の進歩みならず、免疫抑制薬の知識や移植後の感染症やそれに対する治療法も必要であり、臨床は極めて幅が広いということを経験した。臓器別学問が専門医制度で強調される中、これらを横断的に理解しておかないと最新の知見が理解できないと考えている。また、めまぐるしく進歩する最新の知識を得たとしても、これまでの臨床的史実をしらなければ、その最新の基礎知識を臨床応用することができない。

本稿ではまず1. 拒絶反応を主体とするアロ（異系間）免疫反応について基本的事項を概説することにした。著者が、移植免疫学で学んできたマウス皮膚移植実験系に基づき解説した⁽¹⁻⁷⁾。その上で、現在実際に使用されている2. 免疫抑制薬の分子レベルでの作用点を略図を交えて説明した。また多くの免疫抑制薬は、投与される時間によって血中濃度に差が表れる。ここでは著者が行ってきた免疫抑制薬の時間薬理についてラット実験モデルの結果を紹介した⁽⁸⁻²⁰⁾。さらにこの非特異的免疫抑制薬の使用の結果生じる3. 移植後感染症の特色を述べ、それに対する細菌感染とウイルス感染の治療薬を表にまとめ加えた。そして抗菌薬について、極めて教科書的事項を付けくわえた。

本稿は、著者自身が学んできたことを中心に概説したが、移植医療を成功させるためには、外科医としての手術技術とともに、極めて多くの基礎知識を必要とすること、またこのような知識の習得なくして、臨床応用可能な新たな副作用の少ない免疫抑制法は生れてこなかった歴史を学んでほしい。そして、現在著者がライフワークとしている研究である「自己細胞から移植可能な臓器を作る」を共に目指そうではないか。

I. 拒絶反応の基本的事項

拒絶反応の本体は移植抗原に対するレシピエントのT細胞の活性化という特異的反応(抗原認識)と、それに引き続き誘導される非特異的炎症反応(英語では non-immunological として呼ばれているが、炎症も免疫反応の一部である)である。後者の反応は急性拒絶反応の終末反応である場合と、極めて長期にわたって徐々に進行する慢性拒絶反応に分ける

ことができる。

移植抗原に T 細胞が対応する場合、大別して 2 経路ある。すなわち、移植抗原自身がアロ抗原提示細胞としてレシピエントの T 細胞として対応して直接認識する場合(直接認識)とアロ抗原がレシピエントのマクロファージ等でいったん処理され、レシピエントの主要組織適合複合体 (MHC) 上に表出されてから、レシピエント T 細胞が対応する場合 (間接認識) がある (図 1)。このいずれの場合も移植抗原の認識は T 細胞レセプターを介した主シグナルとしてレシピエント T 細胞核内の IL-2 遺伝子のプロモーターへ伝えられる。その際、T 細胞レセプター以外に抗原提示細胞 (APC) と T 細胞を接着させる分子が多数存在し、主シグナルとともに副シグナルを出す (図 2)。

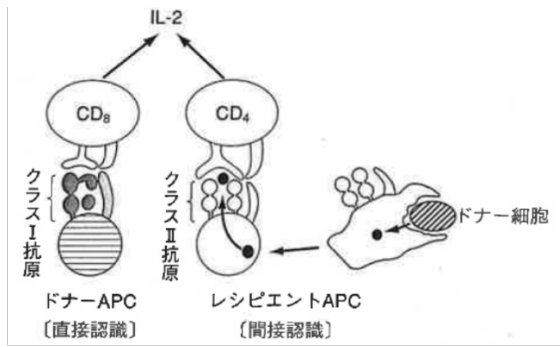


図1 ドナー-MHC抗原のレシピエントT細胞による認識機構
成熟Tリンパ球は、その表面マーカーによりCD8+細胞とCD4+細胞に分類される。アロ (異系間) MHCの遺伝的拘束性や反応性は、前者がクラス I 抗原と後者がクラス II 抗原と持っている。ドナーのMHCクラス II 抗原の認識の場合、ホストのマクロファージなどの professional APC (抗原提示細胞) がドナー細胞 (抗原) を貪食し、自己 (レシピエント) のMHC上に貪食した抗原の一部を表出することで生じる。

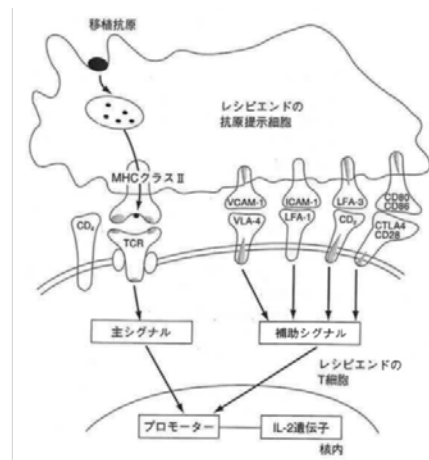


図2 APC-T細胞間の接着と主シグナル、補助シグナル
移植抗原はT細胞上のTCR (T細胞レセプター) を介し、IL-2遺伝子のプロモーターへと刺激が伝わる (主シグナル)。その際、種々の接着因子が働き、主シグナルとともに補助シグナルが入る。この細胞接着において補助シグナルが接着因子ブロッカー等で阻害されると、そのリンパ球はIL-2産生が生じずアナジー (anergy) 状態に陥る。

著者は、このアロ抗原の認識と T 細胞サブセットの関連について、マウス皮膚移植の実験系を持ちて明らかにしてきた⁽¹⁻⁷⁾。このモデルは、マウスの背部に 2 つの円形の皮膚移植片を対で植え、拒絶の過程を目で判断しながら反対側を病理で取るシステムであった (写真 1)⁽¹⁾。このシステムを用いてクラス I 抗原のみが異なる場合は、CD8T 細胞が抗原認識と拒絶の双方に関わること^(2,3)を移植片に浸潤する T 細胞サブセットを染色して付きとめた (写真 2-A, B)。

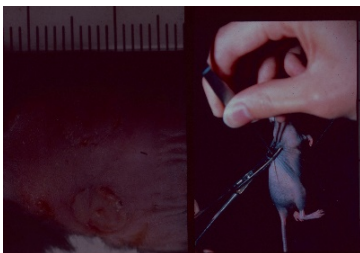


写真 1

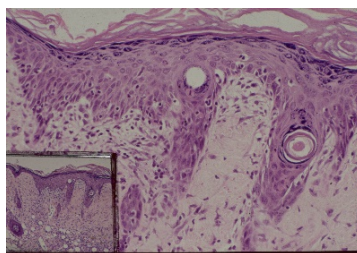


写真 2-A

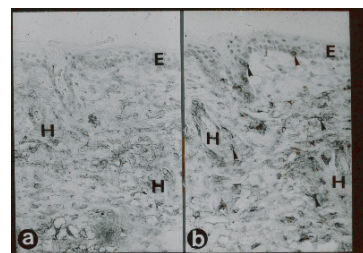


写真 2-B

一方、クラス II 抗原が異なる場合は、CD4T 細胞がその主体を演じていた⁽⁶⁾。これらのことは胸腺を摘出したマウスに対応する抗体を投与することで In vivo での反応が判明した (図 3-A, B)。

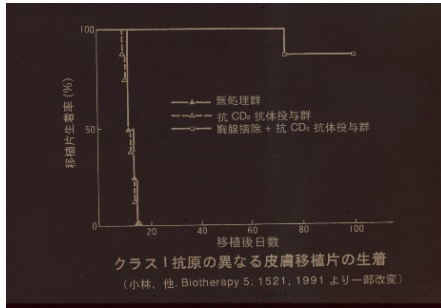


図 3-A

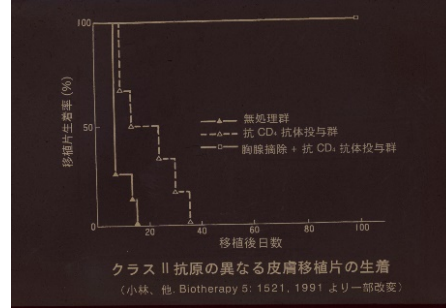


図 3-B

しかし、実際の移植片に対する免疫系の対応は、「クラス I-CD8 細胞、クラス II-CD4 細胞」といった一対一対応では説明が付かない多様のものである。著者らは、前述のマウス皮膚移植の系を持ちいて、クラス II 抗原に反応する CD8T 細胞の存在 (図 4-A)⁽⁵⁾、クラス I 抗原に反応する CD4T 細胞の存在 (図 4-B)^(4,7) が免疫系の多様性を示していた。

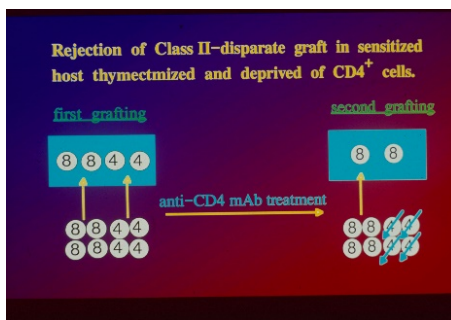


図 4-A

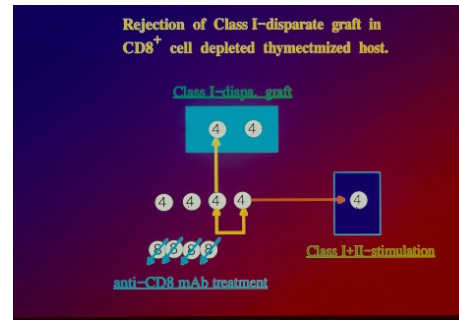


図 4-B

この移植抗原としてレシピエント T 細胞の最初の認識反応を経て、その後に連鎖反動的に免疫反応が進む。この移植抗原認識は、寛容誘導実験の基本となる現象であるが、早期に有利な反応 (免疫寛容) と有害な反応 (拒絶反応) のいずれかが決まる。

免疫寛容状態については、移植が研究され始めた 1990 年代早期より優れた概念が提唱されている。現在はその概念が凌駕するものはみられないが、それぞれ仔細なメカニズムが解明されている。古典的概念として反応する T 細胞クローンの存在形式により、①clonal anergy (反応 T 細胞が移植抗原に接着した後、麻痺状態となってしまうこと) と、②clonal delation (反応 T 細胞がアポトーシス (細胞死) を起こし存在しなくなる)、さらに③active suppression (サブレッサー細胞の存在や液性物質による積極的な免疫抑制) に大別された。

そして 20 年前は、T 細胞が分泌するサイトカインにより分類され、移植抗原に反応したヘルパー T 細胞 (Th) は、①IL-2 や INF- γ などを産生する Th₁ が誘導される場合と、②IL-4

や IL-10 など を 産 生 す る Th₂ が ク ロ ン サ イ ズ を 広 げ る 場 合 が あ る こ と が わ か っ た (図 5) 。 前 者 の Th₁ は 、 急 性 拒 絶 反 応 を 引 き 起 こ し 、 後 者 の Th₂ は 、 液 性 免 疫 を 惹 起 し な が ら 、 免 疫 抑 制 状 態 を 引 き 起 こ し 免 疫 寛 容 を 誘 導 す る と 考 え ら れ て い た 。 一 方 、 サ プ レ ッ サ ー と 呼 ば れ て い た T 細 胞 も “ 調 整 す る ” の 意 味 か ら レ ギ ュ レ ー タ ー と も 呼 ば れ た 。 1995 年 、 坂 口 ら に よ り 、 こ の 細 胞 が CD25 分 子 を 持 つ CD4T 細 胞 で あ る こ と が 証 明 さ れ た (8) 。

こ の よ う に 基 礎 免 疫 学 の 発 展 で 、 ド ナ ー 特 異 的 免 疫 寛 容 を 誘 導 す る 手 法 は 、 免 疫 反 応 を 起 こ さ せ て 誘 導 す る 方 法 論 と し て 数 多 く 展 開 し て き た 。 一 方 で 、 臨 床 で 使 用 さ れ る 免 疫 抑 制 薬 種 々 の 作 用 メ カ ニ ズ ム の も の が 実 用 化 さ れ 、 こ れ ら の 移 植 抗 原 の 認 識 反 応 そ の も の を 停 止 さ せ る も の で あ り 、 非 特 異 的 免 疫 抑 制 状 態 と な っ て し ま っ け る が 、 種 々 の 管 理 技 術 で き わ め て 安 定 し て 臓 器 移 植 が 行 わ れ る よ う に な っ た 。

II. 免疫抑制薬の分子機構

現 在 、 使 用 さ れ て い る 多 く の 免 疫 抑 制 薬 は 、 IL-2 の 産 生 を 抑 制 す る の が そ の 主 な 作 用 で あ る 。 そ れ ら の 薬 剤 を 極 め て 基 本 的 な 作 用 点 か ら 以 下 の よ う に 分 類 さ れ る (図 5) 。

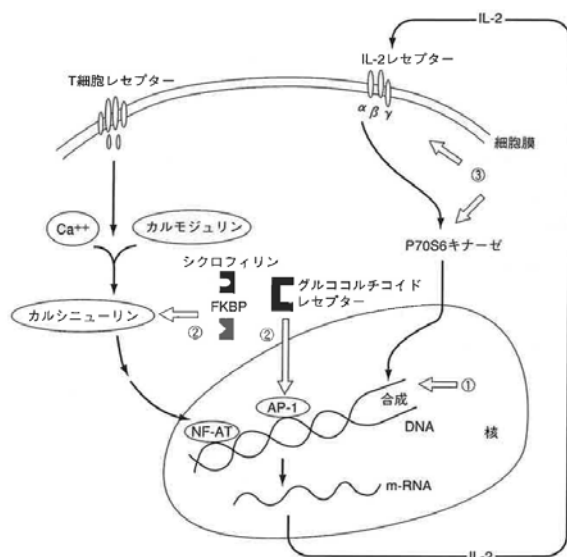


図5 T細胞内シグナル伝達機構と免疫抑制剤の作用点
文章中の①②③は、図4中のそれらに対応している。
①DNA合成そのものを抑制する場合と②イミノフィリンと作用した免疫抑制薬がカルシニューリンをブロックする場合と③IL-2レセプターを介しp70S6キナーゼに作用する場合がある。

1. 核酸合成を阻害する場合

アザチオプリン、ミゾリビン、ミコフェノール酸、RS61443などがそれに分類される。本質的には、抗癌薬と類似した特性を持つが、細胞増殖をそのものの抑制作用があり、ABO不適合移植における補助薬や慢性拒絶反応防止といった点に注目が集まっている。

2. IL-2産生に対する細胞内情報伝達を抑える場合

リンパ球の核内に存在する IL-2 遺伝子の発現を誘導する細胞質内の転写因子であるカルシニューリンの働きを阻害する薬 (カルシニューリンブロッカー) でシクロスポリンやタクロリムスがそれにあたる。シクロスポリン、タクロリムスはそれぞれシクロフィリン、FKBP というイミノフィリン (細胞内蛋白) と結合した上でカルシニューリンに作用する (図 6)。

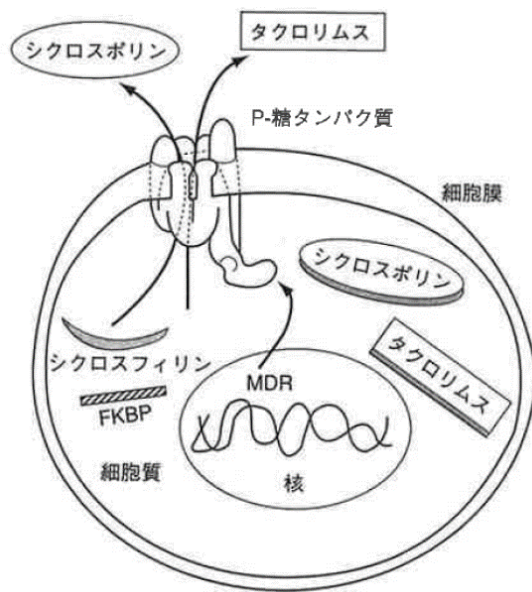


図6 P-糖蛋白質と免疫抑制薬
P-糖蛋白質は、MDR（多剤耐性）遺伝子により作られる膜貫通型蛋白で、リンパ球上にも発現している。細胞膜を12回繰り返して貫通することでチャンネル（ポンプ）を作って、ある種の抗癌剤やカルシニューリンインヒビターを基質として汲み出す。一方、細胞内にはイミノフィリンという免疫抑制薬と結合する蛋白が存在する。FKBPのタクロリムスとの結合力は、シクロスポリンのシクロフィリンのそれより強く、いったん結合すると長時間カルシニューリンをブロックする。

ステロイドも細胞内レセプター（熱ショック蛋白 90）と結合した上で、IL-2 の m-RNA の発現を阻害する意味でここに分類してある。これらは現在の免疫抑制法の基本薬であるが、これら薬剤の作用するリンパ球内への流入出が作用発現と作用時間の面で重要である。

3. IL-2 レセプターからの情報を阻害する場合

ラパマイシン、デオキシスパーガリンがそれに分類され、それぞれ FKBP、熱ショック蛋白 70 と結合する。それぞれがカルシニューリンインヒビターとは異なる特色を持ち、特にラパマイシンは動脈硬化阻害や抗がん効果など、移植で使用する薬物のどとは異なる治療濃度をもっている。

実際の臓器移植の臨床では、カルシニューリンインヒビターをベースに、これらの作用点を異にする免疫抑制薬を組み合わせ使用している。しかし併用療法についての基礎的情報は少ない。それは、薬が一般に臨床で実際使用され始める（第 4 相試験）と、基礎実験で併用効果（副作用）の検討が行われにくく極めて情報が少なくなるためである。また日本における臨床報告では、EBM (evidence-based medicine) に基づくものが少なく、今後は積極的にこのような併用についての基礎・臨床の両面での研究が必要である。さらに、これらの免疫抑制薬は、移植される臓器により拒絶反応の程度（強さ）が異なるため、移植される臓器による種々の工夫も必要である。著者らは、わが国の腎移植患者へのラパマイシンの導入において、ミコフェノール酸へ併用に比べ、サイトメガロウイルス感染を下げることを明らかにした⁽⁹⁾。

4. その他（レセプター抗体など）

前述のカビ等から抽出された免疫抑制薬と異なり、生体に生じる物質で免疫反応を起こすものにそのターゲットを持つものもある。現在臨床で使用されているものでは、古くは、リンパ球全体をターゲットとした OKT-3 があるが、現在では IL-2 レセプター抗体

が諸外国の臨床で使用されている。日本でもそれらの薬剤の早急な使用許可が期待されるが、脳死移植のそれのみならず日本の臨床治験の普及の遅れがここにも影を落としている。一方、実験的ではあるが、体内で作られる蛋白質で免疫抑制力を発揮するものがあることが知られている。これらはさきに 1, 2, 3 で述べた従来の生体外の物質から抽出された薬物と異なり、生来ヒトが持っている遺伝子から作られる蛋白質の産物である。したがって毒性は少なくより生理的である。その遺伝子を同定して薬として使ういわゆる gene drug が、ゲノム創薬として最も期待されている。近年の欧米諸国との遺伝子特許“戦争”が話題になっているが、研究者が個別に外国と戦う前に一丸となり、その応用を組織的に進めるべきであろう。

このような免疫抑制薬は、その多くが血中濃度が効果や副作用と関連するところから TDM(Therapyutic Drug Monitaring)の対象とされている。さらに人が持つ日内リズムによって、投与時間と薬物の血中濃度が異なるものも多い。著者は、この現象を多くのラットモデルで検証してきた⁽¹⁰⁻²²⁾。仔細は、他での報告を参考にして欲しいが、カルシユーニリン阻害薬のうち、タクロリムスは、活動期（人では朝、ラットでは暗期）に経口投与をした場合の血中濃度の推移は、非活動期（人では夕方、ラットでは明期）のそれに比し、高値となる⁽¹⁸⁾。

III. 感染症

免疫抑制薬の臨床応用は飛躍的な移植臓器の生着率向上をもたらしたが、移植後は常に感染症と戦わなくてはならなくなった。近年日本で最も経験が積み重ねられてきた生体肝移植でも、感染症が直接的な死亡原因となったと考えられるものが一割近くある。とくに、これらの致死的な感染症は移植後早期（1 カ月以内）に生じていることに注意が必要である。

感染症は、細菌、ウイルス、真菌のそれぞれの感染に大別される。免疫担当細胞の障害時に生じるそれぞれの感染症との基本的関連を図 7 でしめた。

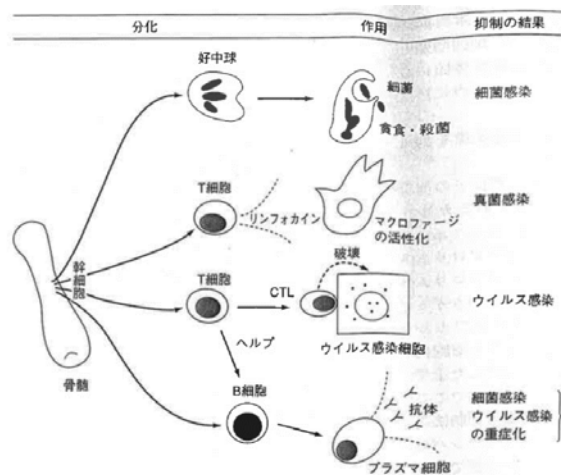


図7 免疫担当細胞の分化とそれらの障害時における感染症
細菌感染症は、好中球の障害に誘発される。好中球の血中における半減期は約7時間で、そのターンオーバーは極めて早い。ステロイド投与中は見かけ上の好中球増多を起こすが、生き残っている好中球は機能障害に陥っていて感染を引き起こしやすい。ウイルス感染は、T細胞およびB細胞いずれの障害時も重篤化する。真菌感染症は、T細胞のリンフォカイン分泌障害により生じる。

現在使用されている免疫抑制薬は先に述べたように非特異的であるため、ほとんどの免疫担当細胞に影響を及ぼす。感染症は移植される臓器により特徴があり、これらを総合して考えなければならない

。さらに移植施設の抗菌薬使用の状況にも影響を受け、術後 MRSA 等の発症（不顕性感染しているものが顕わになる場合が多いと考えられている）などが生じる。

細菌感染症は、生体肝移植に絞っても術後発症する感染症の半数以上を占める。しかも、その 8 割が移植後の 2 カ月以内に集中している。起因菌は好気性グラム陽性菌および陰性菌のどちらも生じうる。治療にあたっては、起炎菌、感受性を考慮して出来るだけ短期間の抗菌薬使用に留めることが重要である。

ここで細菌の変遷と抗菌薬開発について歴史的な事項を整理しておきたい。1940 年代にペニシリン系抗菌薬が開発され、球菌にその効力を示した。1960-1980 年代に入るとセフェム系抗菌薬が桿菌に強力に作用したが、球菌による感染が増える傾向になった。この一方の菌を強力に叩くと他の菌が増える現象を菌交代現象と呼ぶ。一方、セフェム系抗菌薬の多様使用が、耐性菌の出現を促したとされる。1986 年イギリスに発症した MRSA (Methicilin Resistant Staphylococcus aureus) が現在も院内感染として大きな問題になっている。さらに 1990 年代にはバンコマイシンが開発されると VRE (Vancomycin Resistant Enterococcus) などの耐性菌が出現することとなった。移植では予防的に多くの抗菌薬を使用するが、このような菌交代現象や耐性菌誘発を招く可能性が高いことに十分注意する必要がある。

また抗菌薬の種類を薬物動態から大別すると使用上の原則を理解しやすい。ペニシリン系やセフェム系の抗菌薬は β ラクタム系と総称され細菌の細胞壁合成障害作用を持つ。したがって細胞壁を持たない動物細胞には作用点がなく大量使用しても副作用がない。有効性を示すためには最小菌増殖濃度 (MIC) より高い濃度を必要とする。一方、アミノグリコシド、ペプタイド系の抗菌薬は、蛋白合成障害を生じるため、MIC より濃度が下がっても効果が続く (PAE; Post Administration Effect)。有効性の指標は DNA 合成阻害剤と同様に AUC (Area Under the Curve) と言われている。

ウイルス感染症では、サイトメガロウイルス (CMV) 感染症が重要で、本症も移植後 1~2 ヶ月で見られることが多い。他のウイルス感染症も含め臨床症状からのみでは、診断が困難な場合も多いが、近年はウイルスに対する遺伝子診断が可能になり、治療の目安にも利用されている。免疫抑制薬の中でも核酸合成阻害が CMV 感染を助長している。著者らの臨床研究では、MMF をラパマイシンに変更することで CMV 感染率を下げる事ができた⁽²¹⁾。

真菌感染症のほとんどは、カンジタ症であり、全真菌症の 80% を占める。死亡患者での同定が極めて高いが、末期になると本症が全面となるのは、他の疾患による重症患者と同様である。

これらのウイルス、真菌感染症は主として T 細胞障害によって生じるため、早期に対応することが必要である。特に、副作用（薬物有毒反応）に最大級の注意が必要である。また、移植後の感染症は拒絶反応を防ぐための免疫抑制薬によって誘発されていることを考慮し、継続、中止、増減などを決めることが極めて大切になる。この意味で薬学的知識は、臓器移植の免疫を理解するために極めて重要である。すべての臨床がそうであるが、知識に基づいた経験が必要で、病める患児を救うのは、このようなきめの細かいチーム医療が必修である。

結語

臓器移植に必要な、移植免疫学、免疫抑制薬の知識、さらに非特異的免疫抑制薬の使用による発生する感染症に対する対策について著者自身のやってきたことを振り返り、文献とともに解説した。

本論文構成は、小児外科 vol.133, no.9, 2001 年の著者の総説を基に改変した。

謝辞

本稿で紹介した移植免疫学の研究は、新潟大学医学部免疫学教室（藤原道夫先生）の指導の下で行った。また免疫抑制薬の臨床薬理学的仕事は、自治医科大学臨床薬理学（藤村昭夫先生）のもとで学んだ。

参考論文

1. Kobayashi E, Fujiwara M.: Coupled Skin Grafting for Use in the Studies of the Rejection Mechanism. *Acta Medical et Biologica*. 1989; 37:135.
2. Kobayashi E, Kawai K, Ito M, Matsumoto Y, Fujiwara M.: Mechanism of Rejection of MHC Class I-Disparate Murine Skin Grafts--Histological and Immunohistochemical Studies of the Rejection Phenomenon. *Transplant Proc*. 1990; 22(5):2352-2357. (Doctral Dissertation for E.K.)
3. Kobayashi E, Kawai K, Ikarashi Y, Watanabe H, Ito M, Fujiwara M.: Mechanism of the Rejection of MHC Class I-Disparate Murine Skin Graft II. Adoptive Cell Transfer Experiments and Immunohistochemical Studies. *Transplant Proc*. 1991; 23(3): 2005-2007.
4. Kobayashi E, Kawai K, Ikarashi Y, Watanabe H, Ito M, Fujiwara M.: Mechanism of the Rejection of MHC Class I-Disparate Murine Skin Graft III. Are L3T4+ T Cells Involved in the Rejection? *Transplant Proc*. 1991; 23(3): 2008-2011.
5. Kawai K, Kobayashi E, Matsumoto Y, Fujiwara M.: Generation of H-2 class II-reactive CD8+ cells in mice afetr class II-disparate skin graft rejection. *Transplantation*. 1992; 53(1):237-239
6. Kobayashi E, Fujiwara M.: Mechanism of rejection of MHC class II-disparate murine skin grafts. I. Immunohistochemical analysis of T-cell subset infiltrating the site of the graft. *Transplant Proc*. 1992; 24(1):419-422.

7. Kobayashi E, Kawai K, Ikarashi Y, Fujiwara M.: Mechanism of the rejection of major histocompatibility complex class I-disparate murine skin grafts: rejection can be mediated by CD4+ cells activated by allo-class I + II antigen in CD8+ cell-depleted hosts. *J Exp Med.* 1992; 176: 617-621.
8. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M and Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol* 1995. **155**, 1151-64.
9. Takahashi K, Uchida K, Yoshimura N, Takahara S, Teraoka S, Teshima R, Cornu-Artis C, Kobayashi E.: Efficacy and safety of concentration-controlled everolimus with reduced-dose cyclosporine in Japanese de novo renal transplant patients: 12-month results. *Transplant Res.* 2013; 2(1):14.
10. Mizuta K, Kobayashi E, Uchida H, Fujimura A, Kawarasaki H, Hashizume K.: Dose-dependent reduction of bile secretion in cyclosporine-treated rats. *Transplantation* 1998; 65(5): 758-759.
11. Yamauchi H, Kobayashi E, Sugimoto K, Tsuruoka S, Yabana M, Ishii M, Fujimura A.: Time-dependent cyclosporine A-induced nephrotoxicity in rats. *Clin Exp Pharm Physiol.* 1998; 25(6): 435-440.
12. Hishikawa S, To H, Kobayashi E, Uchida H, Fujimura A.: Chronotoxicity of Mizoribine under a repeated administration in the rat. *Transplant Proc.* 1999; 31(7): 2765-2766.
13. Mizuta K, Hishikawa S, Yoshida T, Kobayashi E, Uchida H, Fujimura A, Kawarasaki H, Hashizume K.: Survival of rats undergoing continuous bile drainage depends upon maintenance of circadian rhythm of bile secretion. *Chronobiol Int.* 1999; 16(6):759-765.
14. Mizuta K, Kobayashi E, Uchida H, Fujimura A, Kawarasaki H, Hashizume K.: Influence of tacrolimus on bile acid and lipid composition in continuously drained bile using a rat model. Comparative study with cyclosporine. *Transplant Int.* 1999; 12(5):316-322.
15. Mizuta K, Kobayashi E, Uchida H, Ogino Y, Fujimura A, Kawarasaki H, Hashizume K.: Cyclosporine inhibits transport of bile acid in rats :Comparison of bile acid composition between liver and bile. *Transplant Proc.* 1999; 31(7):2755-2756.
16. Mizuta K, Ohmori M, Miyashita F, Kito A, Fujimura A, Mori M, Kanno T, Hashizume K, Kobayashi E.: Effect of pretreatment of FTY720 and cyclosporine on ischemia-reperfusion injury of the liver in rats. *J Pharm Pharmacol.* 1999; 51(12):1423-1428.
17. Uchida H, Kobayashi E, Matsuda K, Mizuta K, Sugimoto K, Kawarasaki H, Hashizume K, Fujimura A.: Chronopharmacology for deoxyspergualin: toxicity and efficacy in the rat. *Transplantation.* 1999; 67(9): 1269-1274.
18. Uchida H, Kobayashi E, Ogino Y, Mizuta K, To H, Okabe R, Hashizume K, Fujimura A.: Chronopharmacology of tacrolimus in rats -Toxicity and efficacy in a mouse-to-rat intestinal

- transplant model and its pharmacokinetic profile. *Transplant Proc.* 1999; 31(7):2751-2753.
19. To H, Haba T, Uchida K, Fujimura A, Kobayashi E.: Time-depend difference of the 12-hour trough levels of cyclosporine in renal transplant recipients with sandimmune capsule. *Transplant Proc.* 2000; 32(1):221-222.
 20. To H, Xiu DR, Hishikawa S, Uchida H, Sudou T, Sunada K, Sugimoto K, Higuchi S, Fujimura A, Kobayashi E.: Dosing time-dependent pharmacological effects of anti-metabolites for rat cardiac graft. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 2001; 110(5-6):319-332.
 21. Tomizawa N, Uchida H, Xiu DR, To H, Fujimura A, Kobayashi E.: Chronopharmacology of oral prednisolone in rats. *J Med.* 2001; 32(3-4):135-151.
 22. Xiu DR, Sakuma Y, Nagai H, To H, Sugimoto K, Fujimura A, Uchida H, Kobayashi E.: Chronotherapy of sublethal doses of methotrexate on rats with allo-geneic heart grafts. *Res Commun Pharmacol Toxicol.* 2002; 7(1-2):77-85