

쥐하지부 동종이식에서 FK-506과 Rapamycin을 사용하여 이식부 생존기간에 대한 효과의 비교관찰

한림대학교 의과대학 성형외과학교실 · 스탠포드대학교 의과대학 성형외과

서인석 · William C. Lineaweaver*

— Abstract —

Efficacy of FK-506 and Rapamycin in Prolongation of Allograft Rat Limb Survival

In Suck Suh, M.D., William C. Lineaweaver*

*Department of Plastic Surgery, Stanford University, College of Medicine, Hallym University
Department of Plastic Surgery, Stanford University**

Free vascularized composite tissue transfer is more frequently underwent for reconstruction of complicated tissue defects with the recent advance of microsurgery. But postoperative result was not satisfactory because of donor site morbidity, flap bulkiness and cosmetic problem. So would no longer be a problem if we can obtain the exact donor tissue required for the recipient site as allotransplantation and designing the flap.

Allotransplantation has been resolved with the recent development of immunosuppressive agents, while reconstruction has made great progress with the refinement of microsurgical techniques in the last 20 years.

The final success or failure of the operative procedure in transplantation is so utterly dependent on the availability of strategies that can control the immune system effectively, selectively, safely to allow allotransplantation of a nonvital body part. I used 2 strains of rats, BUF and LEW, for the limb allotransplantation as a composite tissue transfer. The primary goal of this program is to improve results in clinical transplantation by accelerating the transformation of new immunological knowledge into useful medicine. Two of the most promising new immunosuppressive compounds are FK-506(FK) and rapamycin(RPM). Both drugs are antibiotic macrolide fungal fermentation products that presumably suppress the immune system in ways similar to cyclosporin(CyA).

This study shows that two new immunosuppressive drugs compare the immunosuppressive activity and effectiveness of FK-506 and RPM for prevention of the limb allograft rejection in the rat. Additional experiments investigate the dose, route of administration and histologic findings. These data demonstrates that rapamycin is far more potent and effective than FK-506 when both compounds are administered by the

intraperitoneal route, as well as prolonged graft survival significantly in a dose-route dependent manner.

These results lead to the view that vascularized allograft composite tissue transfer can become a reality with the expectation of possible future application in reconstructive surgery of humans.

Key Words : FK-506, Rapamycin, Immunosuppression, Allograft, Rat limb, Microsurgery

서 론

최근 미세수술의 다양한 발전에 따라, 성형외과의 재건수술 영역에서는 선천적기형, 외상 및 종양의 전적출후 발생한 커다란 결손부에 대하여 유리 복합 조직의 동종이식술을 적용하여 많은 발전을 거듭하였다. 그러나, 자가이식이란 공여부의 희생으로 인한 그 적용과 효과가 심한 제한을 받고 있는 재건술식이다. 그래서, 최근 의학계의 관심분야로 각광을 받고 있는 분야중 하나가 동종이식에 초점을 맞추어 상당한 발전을 거듭하여 이제는 신장, 심장, 간장 등의 단일 조직뿐만 아니라 복합조직의 동종이식을 시도하기위해 계속 연구중이다. 최근, 1983년 Hewitt¹⁾, Press²⁾와 1984년 Fritz³⁾ 등은 종래의 면역억제제보다 독성이 적고, 조직의 동종이식에 효과가 우수한 cyclosporine A(CyA)를 사용하여 쥐의 동종이식을 다리부위에서 성공적으로 실시하였다고 보고하였다. 또한, 1989년 Arai 등은 FK-506을 사용하여 쥐의 하지부에 대한 동종이식기간을 좀더 연장시킬수 있었다고 보고하였다⁴⁾. 따라서, 이러한 결과들은 재건수술영역에서 복합조직이식이나 수지 혹은 상하지부의 동종이식을 실현시킬수 있다는 놀라운 연구 업적이 되겠다.

이에 저자는 쥐의 하지부 동종이식을 실시하여 CyA보다 독성이 적어 안전하며, 강력한 새로운 면역억제제인 FK-506과 Rapamycin을 사용 그 효과를 비교관찰함으로써 이상적인 면역억제제의 사용과 치료를 연구하였고, 향후 인체에서도 이와같은 적용을 기대해보면서 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험동물은 유전학적으로 매우 선별된 두 종류의

쥐, BUF(H-1⁶, Ag-B6)와 LEW(H-1¹, Ag-B1)를 사용하였으며, 이 쥐들은 모두 남성으로 무게 200-250gm정도이었다. BUF의 쥐는 하지부 동종이식의 공여부로서, LEW는 수여부로서 이용하였다. 쥐를 pentobarbital로 복강내 마취 시행후 공여부와 수여부의 쥐 후지중대퇴부에서 절단하고, 대퇴동정맥과 좌골신경을 조심스럽게 박리하여 공여부 후지를 수여부후지절단 단단부위에 부착시키기위해 골간고정후 대퇴동정맥을 미세수술현미경하에 확대하여 10-0 nylon으로 미세봉합을 실시한다. 혈류의 흐름을 확인후 대퇴 및 좌골신경과 피부를 봉합한다. 전체 허혈시간은 40-50분정도였다. 술후 쥐가 감각이 없는 이식부위를 물어뜯는 것을 방지하기위하여 철사부목으로 쥐의 몸체를 고정하였다. 이와같이 동종이식한 쥐를 각각 12마리씩 5군으로 나누어 제1군은 이식술후 아무 치료를 하지않은 군으로, 제2, 3군은 Rapamycin(Wyeth-Ayerst Research Laboratories, Princeton, NJ)을 술후 2주간 3mg/kg/day을 각각 경구 및 복강내주사하였고, 제4, 5군은 FK-506(Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd., Tsukuba, Japan)을 역시 술후 각각 2주간 12mg/kg/day을 경구와 복강내 주사하여 치료한 군이었다. 이중 각군의 10마리씩은 이식된 후지부를 매일 관찰하면서 혈관문합부의 맥박, 부종, 색깔의 변화, 피부의 발진 및 괴사 등의 거부반응증상에 대한 형태학적 관찰만 기록하였고, 나머지 각군의 2마리들은 조직학적 변화 등을 수술전과 수술후 제 14, 40일째 검사하여 비교 분석하였다. 이때 조직검사소견은 이식쥐중 나머지 2마리만 선택하여 각각 술후 14, 40일째 조직검사를 위한 피부, 근육 혈관등의 부위별 생검을 실시하였다.

통계학적 검사는 Student t 검사 또는 Mann Whitney U 검사등을 정상분포의 검토를 위하여 실시하였고, 평균치의 정확도를 위한 가능성은

0.001이하 정도였다.

결 과

아무치료를 하지않은 제1조절군에서는 수술후 처음 5일간 약간의 부종과 발진 및 포진등이 나타났으나 비교적 정상적인 분홍빛 피부색깔과 모발상태이였으나 10-12일이 지난후부터 피부의 가피, 궤양 및 탈모 등의 거부반응현상이 일어나는 변화와 함께 14-20일 사이에 이식된 후지부전체가 괴사되었다. 이때 수술후 가피와 탈모현상이 일어나는 기간까지의 평균생존기간은 11 ± 1 일 정도였다(Fig. 1).

강력한 면역억제효과를 지닌 Rapamycin을 경구로 투여한 제2군에서는 최저 35일에서 최고 54일까지 평균 43.7 ± 8.5 일간의 생존기간을 관찰할 수 있었는데, 복강내 투여한 제3군에서는 평균생존기간이 136.8 ± 23.1 일 정도로 상당히 생존기간을 연장할 수 있었다(Fig 2, 4) 한편, 합병증으로는 탈모증, 체중감소 및 설사등의 만성 이식편대숙주병(chronic graft-versus-host disease)이 나타났을뿐 거부반응으로 인한 피부괴사나 염증 및 죽음 등은 관찰되지 않았다. 동종이식의 거부반응을 억제하기위한 면역억제제 FK-506을 수술후 매일 14일간 경구로 투여한 제3군에서도 모든 이식된 후지부의 전체괴사나 미이라화등이 없이 최고 49일까지 평균 35.2 ± 8.4 일 동안의 생존기간을 기록하였으나, 복강내 주사에 의한 투여군에서는 116.8 ± 15.5 일의 비교적 긴 생존기간의 결과를 보여주었다(Table 1, Fig. 1, 3) 그러나, 족부에서 화상후 합지증이나 굴곡변형등의 연부조직의 구축현상과 피부거부반응 현상이 점차적

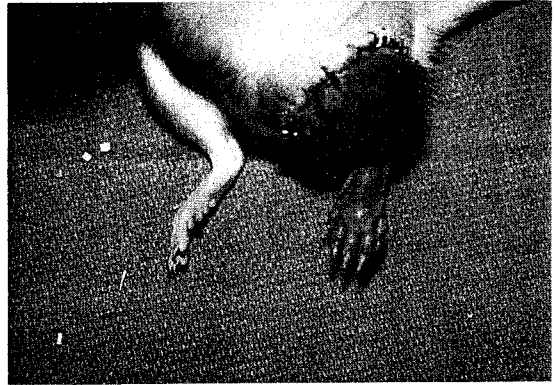


Fig. 1. Group 1, no treatment of allotransplanted rat limb, postoperative day 7. Severe edema and darkening of color of the limb show evidency as rejection of the allografted limb proceeds.



Fig. 2. Group 3, rat limb allotransplantation is treated with rapamycin by intraperitoneal injection for 14 days. Postoperative day 7, allografted limb shows initial postoperative swelling with pinkish skin color and no visible signs of rejection.

Table 1. Effect of Rapamycin and FK-506 on Vascularized Limb Allograft Survival in the rat

Group	Treatment*	Dose : mg/kg/day	Number	MST \pm SD(days)	Student's test**
1	no	no	10	11 \pm 1	-
2	Rapamycin	3(PO)	10	43.7 \pm 8.5	<0.001
3	Rapamycin	3(IP)	10	136.8 \pm 23.1	<0.001
4	FK-506	12(PO)	10	35.2 \pm 8.4	<0.001
5	FK-506	12(IP)	10	116.8 \pm 15.5	<0.001

* Drugs were given p.o. or ip from the day of transplantation for 14 days.

** vs nontreatment

MST : mean survival time, SD : standard deviation

PO : peroral, IP : intraperitoneal injection



Fig. 3. Group 3, Transplanted rat limb on the rapamycin regimen. Postoperative day 120. replanted limb appears no color change, normal hair growth but shows atrophy of skin and contraction of foot due to fibrosis.



Fig. 4. Group 5. Rat from FK-506 treatment (12mg/kg/day, intraperitoneal injection). Postoperative day 60. There is a slight swelling and color change of skin with normal hair growth. But unnatural stance of the digits is secondary to denervation.

으로 나타나는 것을 관찰할 수 있었다.

생존된 이식부의 혈관문합부위를 술후 각각 14일, 40일에 채취하여 H&E염색으로 조직검사를 한 결과 조절군에서는 대퇴동맥문합부의 혈관내막 및 외막의 주위에 neutrophil, lymphocyte 등이 침윤되었고, 혈관내외막등은 비후되었고 퇴행성 변화가 특히 동맥보다 정맥에서 심하게 나타나는 소견을 보였다. 한편, 제2, 3의 치료군에서 14일째 혈관의 내외막주위에 lymphocyte의 침윤이 있었고, 40일에는 혈관내막의 증식외에 퇴행성변화나 혈전이나 혈액 응고로 인한 어떤 소견도 관찰할 수 없었다(Fig. 5).

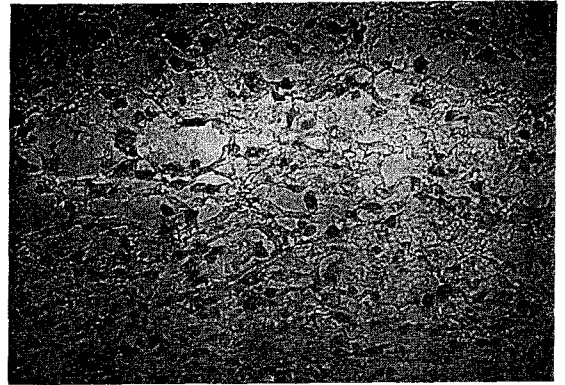


Fig. 5. Group 2. Postoperative day 40. An intense mononuclear cell infiltrates to the dermis, and edema shows like vacuoles. It is composed of variably sized lymphocytes and macrophages (Magnification $\times 400$).

고 찰

최근 동종이식 및 이종이식등 조직이식술의 기법과 술기의 연구가 계속됨과 동시에 이러한 이식시 나타나는 면역반응의 조절을 요하는 면역억제제의 방법과 약제가 상당한 발전을 거듭한 결과 생명의 필수기관외 여러조직의 이식등 그 적용범위가 점차 넓어지고 있는 추세이다. 따라서, 과거 이식술후 자주 표현되던 "수술은 성공했으나 환자는 죽었다."라는 격언이 이제는 무색할 정도로 보편화되고 있는 상태이다⁶⁾. 재건수술영역에서는 상하지나 복합조직의 동종이식이 생명유지에 필수적인 심장, 간장, 신장 같은 조직의 이식을 요하는 상황만큼 생명에 위협을 주는 이와같은 과정을 필요로 하지않기 때문에 많은 관심을 보이진 않았다. 그러나, 복합조직의 동종이식은 많은 사람들이 삶의 질을 높이기 위해 커다란 해부학적 결손부의 기능회복을 위해 점차 그 필요성이 높아지고 있는 상태이다. 특히, 외상, 방사선조사, 종양적출술후 발생할 수 있는 광범위한 복합조직결손부의 재건방법에서 수여부에 알맞는 적당한 공여부를 얻을 수 있는 유리혈관 복합조직의 동종이식이 훌륭한 술법이라 생각되는 바이다.

하지부 동종이식에 관한 실험논문은 1962년 Schwind⁶⁾가 면역계의 미성숙시기인 어린 쥐의 후지부를 동종이식하여 생존을 연장시켜 성공했다는 보고와 1966년 Goldwyn⁷⁾ 등이 고양이 후지부의

동종이식에서 생존기간연장에 대한 azathioprine과 6-mercaptopurine의 면역억제 효과에 대한 첫 보고를 하였다. 즉, 7마리의 동물을 이용하여 성공적으로 이식하여 조절군의 6일간 생존기간에 비하여 면역억제제를 사용한 군은 평균 18일을 생존하였다고 기술하였다. 1979년 Doi⁸⁾는 azathioprine과 prednisolone의 병합치료가 쥐후지부 동종이식에서 거부반응을 연장시키는데 단일약제의 투여군보다 더욱 효과가 좋다고 보고하였다. 또한, 1983년 Hewitt와 Black⁹⁾은 공여부 특수혈액을 수혈시켜 공여부 항원자극에 의한 면역계대성을 일으킨 군과 Cyclosporin A (CyA)을 사용한 군을 비교하여 CyA를 사용한 군에서 평균 101일 정도의 장기간 생존하였다고 발표하였다. 이후 CyA보다 강력한 약제인 FK-506이나 Rapamycin을 사용하여 1989년 Arai⁴⁾, Kuroki¹⁰⁾ 등이 동종이식후 생존기간이 상당히 연장되어 향후 인간의 적용이 기대되리라고 하였다. 이와같이, 동종이식과 면역억제제에 대한 연구는 1960년대부터 여러학자들에 의해 간헐적으로 시도된 이후 꾸준히 발전되면서 최근부터 강력한 면역억제제의 개발로 동종이식후 생존기간이 연장되고, 그 부작용이 감소되는 등 좋은 결과를 보여주면서 매우 활성화되고 있다.

이식수술영역에서 면역억제제는 수술결과의 성공에서 수술의 기법보다 중요한 역할을 하는 요소인데 반해 지난 40여년간 서서히 발전되어 면역억제제의 수와 다양성이 제한되었고, 그 효과와 치료적용이 매우 적은 상태이다.

과거 50년대의 cortisone이나 azathioprine, anti-T cell Abs 등의 약제에서 70년대 Cyclosporin A가 미생물의 발효에서 추출되어 다량 생산이 가능해지고 그 면역억제기능에 대한 분자생물학적 기전과 면역세포인 T세포에 대한 효과가 이해되면서 본격적으로 면역억제제에 대한 연구가 발전되고 임상에 적용되어 많은 환자가 혜택을 받고 생명을 연장하고 있다. 이후 80년대에 Cyclosporin A보다 강력한 효과를 지닌 FK-506, Rapamycin 등의 약제가 합성되어 동물실험과 함께 임상적으로도 활발히 사용되고 있는데 그 작용기전은 말초림파구의 동종항원자극에 의한 비대증식으로 발생한 숙주와 이식간의 반응을 억제하고 림파구 증식으로 T, B세포의 유사분열자극을 억제하여 진행중인 거부반

응을 정지시키면서 만성거부반응과 동반되는 이식부의 혈관질환등을 예방시켜준다^{5,10,11,12)}.

이와같이 약리작용과 그 표적세포에 대한 반대사작용의 효과등이 연구되면서 Deoxyspequalin^{5,13)}, Mycophenolic acid, Brequinar Sodium 등의 새로운 약제가 소개되었고 그 효과가 강력해지고 안전성이 뛰어나며 부작용이 더욱 감소되어 최근 4-5년 사이에 임상적용이 다양해지고 있어 완벽한 보증을 없지만 거부반응의 치료나 예방에 표준치료법이 조심스럽게 제시되고 있는 실정이다. 또한, 새로운 약제의 작용기전과 그 효과, 독성 등이 잘 알려지면서 세포막에서 핵으로 표식을 전달하여 세포 증식을 하는 생화학적 경로의 서로 다른 부위에 작용하는 면역억제제들을 소량씩 병합투여하여 면역세포에 대한 생화학적 효과 및 약리작용이 더욱 상승시키고 그 부작용을 감소시키며 독성을 최소화 할 수 있는 안전하고 합리적인 치료법이 개발중에 있는 상태이다⁵⁾.

FK-506은 *Streptomyces tsukubaensis*에서 추출한 새로운 면역억제제로서 시험관내에서나 생체내에서 다양하게 그 특성이 관찰되었고, 이의 면역억제효과는 심한 독성없이 종래의 Cyclosporin A보다 100배정도 강력한 면역억제기능을 가지고 있으면서 치사량도 1/10정도로 낮은 보다 안전하고 효과가 높아 동종이식등에 대성공을 이룩한 획기적인 약물이며^{14,15,16)} 현재 인간의 간 동종이식후 임상에 사용하여 Cyclosporin A보다 뛰어난 치료효과를 보여주고 있다. 최근 분자생물학이 발전하면서 이의 구조, 약리작용의 기전 및 효과가 정확하게 알려져 그 기능이 Cyclosporin A와 비슷한데 T세포의 활성화에 의한 CD4⁺에 강력한 억제작용을 하고 interleukin-2 (IL-2) 과 여러가지 세포성장요소를 포함한 cytokines 및 interferon- γ 등의 분비를 억제한다. 또한, 동종이식후 투여하여 거부반응을 일으키는 T세포의 증식과 G0에서 G1으로 되는 세대교체등을 억제하고 T세포에 IL-2 receptor의 표현을 방해한다. 독성 및 부작용으로는 체중감소, 진전, 감각 이상, 부전심어증 등의 신경학적 부작용, 감염, 신독성 등이 있다^{5,11,12,17,18,19)}. 한편, Rapamycin은 *Streptomyces hygroscopicus*에서 추출되었으며 FK-506과 비슷한 macrolide lactone구조를 가지고 강력한 면역억제작용을 하여 개, 돼지 등의 동물의 동종이식생존기간을 최대한 연장시킬 수 있는 약

제이다. 이의 작용기전을 IL-2생산을 억제하는 것이 아니라 세포수여부에 IL-2와 같은 성장 요소의 결합을 방해하며 G1에서 S로 진행되는 T세포의 진행 및 활성화를 억제한다. FK-506과 비교하여 Rapamycin은 DNA합성에 필요한 효소의 작용을 간접적으로 차단하여 DNA합성을 방해하여 T면역세포의 증식을 억제한다. 이 약제에 의한 독성은 체중감소, 급성 신피사와 같은 신독성, 및 폐혈증이 나타날 수 있다^{5,11,12,17,20}.

동종이식후 나타나는 혈액소견은 1989년 Walter 등¹³이 대식세포에 의존한 임파구의 기능이 억제되어 임파구, 단핵세포 및 다형핵백혈구 등 말초혈액의 모든 세포가 감소되고 적혈구용적율도 감소된 소견을 보인다고 발표하였다.

면역억제제의 투여방법은 경구 또는 피하 및 복강내주사가 동물실험에서 주로 이용되는데 Cyclosporin A의 경우에는 복강내주사가 경구보다 더욱 안전하고 효과도 월등하였다. FK-506이나 Rapamycin은 Cyclosporin A보다 투여방법에 관계없이 강력한 효과를 지닌 약제로써 이들 두약제의 용량과 투여방법에 대하여 정확한 비교는 할 수 없지만 두 약 모두 경구보다 복강내 투여가 더욱 면역억제 기능이 탁월함을 알 수 있었다. 따라서, 향후 강력한 면역억제제의 부작용없이 이식기관의 장기간 생존을 위하여 여러약제의 병합투여, 용량의 조절 및 투여 조절방법에 관하여 더욱 연구되어야 한다.

동종이식시 이식된 복합조직의 거부반응 소견은 많은 연구가 발표되었듯이 조직의 강한 항원성에 의한 조직내 lymphocyte의 침윤과 퇴행성 변화 및 괴사 등이 일어나는데 특히 혈관내막에 강한 항원성으로써 이식술후 약 2주정도에 혈관의 혈전 형성 및 퇴행성 괴사 등이 나타난다. 또한, 근육, 골막, 골세포 및 연골세포 모두 혈관순상으로 인한 점차적으로 lymphocyte, mononeuclear 세포 등이 증식되고 퇴행성 변화 및 괴사가 일어난다. 면역억제제로 치료를 한 경우에는 피부나 골수의 소견은 치료를 안한 군과 같이 강한 항원성이 나타나 특히 피부에서 퇴행성 괴사가 나타난다고 보고하였다. 그러나, 저자의 경우 보다 강력한 면역억제제를 사용한 치료군에서는 퇴행성괴사보다는 모두 피부의 위축 및 섬유조직의 증식으로 심한 반흔성 구축현상만 일어났다. 그리고, 근육이나 골수의 소견은 부분적으로 결

제조적으로 대치되었고, 조직내 lymphocyte의 침윤은 심하지 않은 소견이며 혈관 근육 골세포 및 연골 세포 등은 잘 보존되어 있었으며 특히 장기간 관찰된 이식부의 골유합이 잘 형성된 것을 볼 수 있었다^{4,10,14}.

이상에서 이식된 족부피부는 동종이식수술후 거부반응의 관찰시 지표가 될 수 있으며, 이식된 다른 복합조직은 시간이 지남에 따라 또한 각 조직의 항원성에 따라 정상상태를 유지할 수 있겠다. 동종이식의 생존기간을 부작용이 없이 효과적으로 최대한 연장시키기 위해 여러 면역억제방법이 고안되고 있는데 운동이나 감각기능의 변화없이 안전하고 강력한 치료 모델과 방법이 제세됨으로 향후 임상에 적용하여 많은 환자가 혜택을 받을 수 있는 시대가 오기를 기대하는 바이다.

결 론

새로운 면역억제제인 FK-506과 Rapamycin을 이용한 쥐후지부의 동종이식시 생존기간의 연장 및 조직의 형태학적, 조직학적 변화에 대하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 면역억제제를 사용한 군이 조절군보다 거부반응을 환원시켜 장기간 생존하였으며, 약제의 사용방법이 경구투여보다 복강내 주사한 군에서, 면역억제제는 FK-506보다 Rapamycin을 투여한 군에서 모두 오랫동안 생존하였다. 따라서, Rapamycin을 복강내 주사한 군이 가장 강력한 면역억제기능을 한 것으로 사료된다.

2. 약제에 의한 생존기간 변화는 조절군에서는 평균 11±1일 생존하였고, Rapamycin을 경구로 3mg/kg/day씩 투여한 군에서는 평균 43.7±8.5일, Rapamycin을 동량을 복강내주사한 군에서는 평균 136.8±23.1일간을 생존하였으며, FK-506 12mg/kg/day을 경구투여한 군은 평균 35.2±8.4일, 복강내주사한 군에서는 평균 116.8±15.5일간 정도의 장기간 생존을 하였다. 따라서, Rapamycin 3mg/kg/day을 복강내 주사한 군에서 가장 생존율이 높은 것으로 나타났다.

3. 형태학적 변화에서 거부반응의 육안적 소견으로는 피부의 부종, 포진, 가피, 궤양 및 괴사 등으로 관찰하였으며, 조직학적 변화는 대퇴동맥문합부

의 혈관내막 및 외막의 비후와 주위에 neutrophil, lymphocyte 등이 침윤되었고, 퇴행성 변화가 특히 동맥보다 정맥에서 심하게 나타나는 소견을 보였다. 한편, 치료군에서는 혈관의 내외막주위에 lymphocyte의 침윤이 있었고, 정상조직들이 정도의 차이에 따라 결체조직이 증가되고 섬유화현상으로 인한 심한 연부조직 구축현상과 피부나 여러조직의 위축등을 관찰할 수 있었다.

REFERENCES

- 1) Hewitt CW, Black KS, Fraser LA : Cyclosporine A (CyA) is superior to prior donor-specific blood (DSB) transfusion for the extensive prolongation of rat limb allograft survival, *Transplant Proc* 15:514, 1983.
- 2) Press BHJ, Sibley PK, Shons AR : Modification of experimental limb allograft rejection with cyclosporine and prednisone : A preliminary report, *Transplant Proc* 15:3057, 1983.
- 3) Fritz WD, Swartz WM, Rose S : Limb allografts in rats immunosuppressed with cyclosporin A, *Ann Surg* 199:211, 1984.
- 4) Arai K, Hotokebuchi T, Miyahara H, Arita C : Prolonged limb allograft survival with short-term treatment with FK-506 in rats. *Transplant Proc* 21:3191, 1989.
- 5) Morris RE : In vivo immunopharmacology of the macrolides FK-506 and rapamycin : Toward the era of rational immunosuppressive drug discovery, development, and use. *Transplant Proc* 23:2722, 1991.
- 6) Schwind JV : Homotransplantation of extremities by parabiosis. *Ann NY Acad Sci* 99:933, 1962.
- 7) Goldwyn RM, Beach PM, Feldman D : Canine limb homotransplantation. *Plast Reconstr Surg* 37:184, 1966.
- 8) Doi K : Homotransplantation of limbs in rats. *Plast Reconstr Surg* 64:613, 1979.
- 9) Kuroki H, Ikuta Y, Akiyama M : Experimental studies of vascularized allogeneic limb transplantation in the rat using a new immunosuppressive agent, FK-506 : Morphological and immunological analysis. *Transplant Proc* 21:3187, 1989.
- 10) Dupont FJ, Strauch M, Koprak S, Melino M, Sigal NH : Distinct mechanism of suppression of murine T cell activation by the related macrolides FK-506 and rapamycin. *J Immunol* 144:251, 1990.
- 11) Thomson AW : The immunosuppressive macrolides FK-506 and rapamycin. *Immunol Lett.* 29:105, 1991.
- 12) Henderson DJ, Naya I, Bundick RV, Smith GM, Schmidt JA : Comparison of the effects of FK-506, cyclosporin A and rapamycin on IL-2 production. *Immunology.* 73:316, 1991.
- 13) Walter P, Menger MD, Thies J, Wolf B : Prolongation of graft survival in allogeneic limb transplantation by 15-deoxyspergualin. *Transplant Proc* 21:3186, 1989.
- 14) Kino T, Hatanaka H, Hashimoto M, Nishiyama M, Goto T : FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces*. I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. *J Antibio(Tokyo)* 40:1249, 1987.
- 15) Kino T, Hatanaka H, Miyata S, Inamura N : FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces*. II. Immunosuppressive effect of FK-506 in vitro. *J Antibiot(Tokyo)* 40:1256, 1987.
- 16) Sawada S, Suzuki G, Kawase Y, Takaku F : Novel immunosuppressive agent FK-506. In vitro effects on the cloned T cell activation. *J Immunol* 139:1797, 1987.
- 17) Morris RE, Wu J, Shorthouse R : A study of the contrasting effects of cyclosporine, FK-506, and rapamycin on the suppression of allograft rejection. *Transplant Proc* 22:1638, 1990.
- 18) Markus PM, Cai X, Selvaggi G, Starzl TE : The effect of cyclosporine, rapamycin and FK-506 the survival following allogeneic bone marrow transplantation. *Transplant Proc* 23:3232, 1991.
- 19) Ochiai T, Nakajima K, Nagata M, Suzuki T, Asano T : Effect of a new immunosuppressive agent, FK-506, on heterotopic cardiac allotransplantation in the rat. *Transplant Proc* 19:1284, 1987.
- 20) Calne RY, Collier DSJ, Lim S, Pollard S, Samaan A : Rapamycin for immunosuppression in organ allografting. *Lancet* ii:227, 1989.