

## 0.025%シクロスポリン点眼(アルファシクロデキストリン 溶解)の家兎角膜移植での免疫抑制効果

高野 俊之, 小林 千博, Alba R.M., 金井 淳

順天堂大学医学部眼科学教室

### 要 約

アルファシクロデキストリン ( $\alpha$ -CD) を溶解剤として用いた 0.025%シクロスポリン (CYA) 点眼による家兎眼 CYA 透過濃度, 家兎角膜交換移植での免疫抑制効果について検討した。0.025%CYA 点眼後の角膜での CYA 透過濃度は, 4,133 ng/g であり, 前房水, 血清では検出限界以下であった。家兎角膜交換移植後より 100 日間 CYA 点眼した群は, 全例 (10/10) 移植片は透明性を保った。角膜交換移植後, 拒絶反応の早期の時点から CYA 点眼を開始した場合でも, 免疫反応を抑制消失することがわかった。これらの結果より,  $\alpha$ -CD 溶解 0.025%CYA 点眼は, 油性基剤に溶解した CYA 点眼に比べて 5~10 倍の CYA 角膜透過濃度を示し, また, 角膜移植において, 優れた免疫抑制効果のあることが示された。(日眼会誌 96:834-840, 1992)

キーワード: 0.025%シクロスポリン点眼, アルファシクロデキストリン, 眼透過濃度, 角膜交換移植, 免疫抑制効果

## The Immunosuppressive Effects of 0.025% Cyclosporin Eye Drops in Alpha Cyclodextrin on Rabbit Corneal Allografts

Toshiyuki Takano, Chihiro Kobayashi, R.M. Alba and Atsushi Kanai

*Department of Ophthalmology, Juntendo University School of Medicine*

### Abstract

We reported the ocular penetration of cyclosporin (CYA) and the immunosuppressive effect of rabbit corneal allograft using 0.025% CYA eye drops in alpha-cyclodextrin ( $\alpha$ -CD). Local application using 0.025% CYA in  $\alpha$ -CD showed the concentration of 4,133 ng/gr in the cornea, but no detectable levels in aqueous humor and serum. All eyes (10/10) in the CYA eye drop group remained clear for 100 days after corneal allografting. CYA eye drops halted and suppressed the corneal allograft's immune reaction when the treatment was begun early in the initial phase of rejection. These results indicate that 0.025% CYA eye drops in  $\alpha$ -CD penetrate the cornea 5 to 10 times more than CYA eye drops in lipophilic vehicles. Furthermore, they are extremely effective in suppressing the immune reaction of corneal grafts. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 96:834-840, 1992)

Key words: 0.025% cyclosporin eye drop, Alpha-cyclodextrin, Ocular penetration, Corneal allograft, Immunosuppressive effect

別刷請求先: 113 文京区本郷3-1-3 順天堂大学医学部眼科学教室 高野 俊之  
(平成3年8月19日受付, 平成4年2月27日改訂受理)

Reprint requests to: Toshiyuki Takano, M.D. Department of Ophthalmology, Juntendo University School of Medicine, 3-1-3 Hongo, Bunkyo-ku 113, Japan

(Received August 19, 1991 and accepted in revised form February 27, 1992)

## I 緒 言

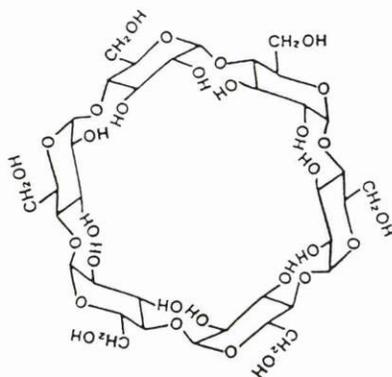
シクロスポリン(cyclosporinまたはciclosporin, 以下CYAと略す)は, 強い免疫抑制効果を有し, 心臓, 腎臓, 肝臓移植等の臓器移植に優れた成績が示されている<sup>1)</sup>. 角膜移植への点眼投与では, 1980年, Shepherdらが2%CYA点眼剤(オリーブ油溶解)を用いた報告以来, CYAをオリーブ油やヒマン油に溶解した点眼剤にて, その免疫抑制効果が示されている<sup>2)~4)</sup>. CYAは水に溶けにくいので, 油性の溶解剤に溶かして点眼剤として用いなければならない. また, 角膜上皮と内皮は親油性であり, 角膜実質は親水性という, その特殊構造のため難水溶性のCYAは上皮内に貯溜し, 角膜実質組織への移行が非常に悪い. しかも油性のため眼刺激症状が強く, 落花生油やオリーブ油で溶解したCYA点眼において, 眼瞼皮膚障害を認めた報告もなされている<sup>3)5)</sup>. さらに, 溶解剤であるオリーブ油のみの点眼でも眼に対して, 免疫反応を生じる可能性も示唆されている<sup>6)</sup>.

著者ら<sup>7)8)</sup>は既に, 各種溶解剤を用いて, CYAの角膜透過性について検討し, アルファシクロデキストリン(以下 $\alpha$ -CDと略す)で溶解したCYA点眼剤が低濃度かつ最も角膜透過性の良いことを報告した. この溶解剤として用いた $\alpha$ -CDは, 環状オリゴ糖を呈し, 疎水性の化合物, 即ちCYAを取り込むことにより包接複合体を形成する. そして外側部は水酸基を多数有し親水性を示すため, 難水溶性物質であるCYAの可溶化が可能となった<sup>9)</sup>. 今回著者らは, 0.025%CYA点眼剤( $\alpha$ -CD溶解)を用いて, 家兎眼各組織へのCYAの透過性, 眼刺激症状, 及び家兎角膜移植での拒絶反応抑制効果について検討したので, その結果をここに報告する.

## II 実験方法

シクロスポリン溶解剤として,  $\alpha$ -CD(セルベックス $\alpha$ -CD<sup>®</sup>, 日本食品加工)を用いた.  $\alpha$ -CDは, 分子式 $C_{36}H_{60}O_{30}$ , 分子量973. 化学構造は図1に示すごとくである. これにCYAを溶解し, 0.025%シクロスポリン点眼液として用いた. 溶解濃度の決定に際しては, まず溶解剤である $\alpha$ -CD各々の濃度での家兎角膜に対する障害の有無を組織学的に判定しその濃度を決め, その後に, CYAの溶解濃度を決定した<sup>7)</sup>

実験方法は, まず5匹の正常白色家兎右眼に0.025%CYA点眼液50 $\mu$ lを30分ごとに10回点眼し



分子量 973

図1 アルファシクロデキストリンの化学構造. 低極性の空洞構造を有し, 種々の物質を取り込み包接複合体を形成する.

た, 最終点眼終了30分後にDraize法に従って評点化を行い, Kay and Calandraの分類法<sup>10)</sup>に基づき, 家兎眼への眼刺激にたいする肉眼的所見を評価, 判定した. その後直ちにベントバルビタールナトリウム(ネンブタール<sup>®</sup>)過剰静脈麻酔にて致死させ, 眼球を摘出した. 眼球を十分に水洗後, 角膜, 強膜, 虹彩, 毛様体+脈絡膜, 房水及び網膜の各組織を分離, 採取して, radio immuno assay (RIA)法<sup>11)</sup>により眼組織中のCYA濃度を測定した(検出限界は全組織とも20ng/g). すなわち, ホモジネイトした各組織試料にトレーサーとしてトリチウム化ジヒドロシクロスポリンとシクロスポリン抗血清を混合して, 2時間インキュベートする. 反応終了後, 活性炭を加えて遠心分離し, その上清液を液体シンチレーションカウンターにて放射能測定してシクロスポリン濃度を得た. ただし, 難水溶性のCYAは, 角膜上皮にpoolingするため, 眼球摘出時にスパーテルにて, 角結膜上皮を剝離除去しこれを検体とした.

次に, 白色家兎における角膜移植後の免疫抑制効果について検討した. 実験方法は, 20匹の白色家兎眼に7mmのトレパンを用いて角膜交換移植を行い, 8-0バーজনシルクにて角膜縫合し, 2週間後に抜糸した. 1群10匹には, 0.025%CYA点眼を, 他の10匹には対照として $\alpha$ -CD溶解液のみの点眼液を, 術直後から1日4回投与し, 100日間観察を行った. 術後2週間は散瞳剤と抗生剤の点眼を併用した. なお, 薬剤効果の判定に験者の主観の入り込むことを避けるため, マスク法(盲検法)にて行った. 移植後100日間透明治癒

した9匹9眼の眼組織についても、CYA濃度を測定し、その一部を走査電子顕微鏡にて角膜内皮を観察した。

さらに、白色家兎7匹を用いて角膜移植を行い、角膜上皮層の rejection line をトリパンプルー染色で観察し、拒絶免疫反応の発症を確認した時点から0.025%CYA点眼を1日4回投与した。7眼中5眼は移植片角膜周辺部に rejection line が観察された比較的初期の段階から点眼を開始し、残りの2眼は移植片角膜の約2/3以上 rejection line が進んだ時期から点眼を開始し、0.025%CYA点眼による免疫抑制効果に

ついて比較検討した。

### III 結 果

#### 1. 頻回点眼刺激性試験

0.025%CYA 頻回点眼群は、すべて角膜の浮腫混濁は認めず、眼脂が少数にみられた。スコア平均1.2にて、Kay and Calandra の分類<sup>10)</sup>では、“Practically non-irritating”と判定された。対照として生理食塩液を頻回点眼した群は、極く軽度の眼脂貯留が認められたのみで、“Nonirritating”の範疇に入った(表1)。

表1 眼刺激性判定試験-Draize 法

| 点眼剤    |          | $\alpha$ -CD+0.025% CYA<br>(40 mg/ml) |       |       |       |       | 対 照<br>(生理食塩液) |       |       |       |        |
|--------|----------|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|-------|-------|-------|--------|
| 眼組織    | 所 見      | No. 1                                 | No. 2 | No. 3 | No. 4 | No. 5 | No. 6          | No. 7 | No. 8 | No. 9 | No. 10 |
| 角 膜    | 混濁度      | 0                                     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0              | 0     | 0     | 0     | 0      |
|        | 混濁範囲     | 0                                     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0              | 0     | 0     | 0     | 0      |
| 虹 彩    | 浮腫, 対光反射 | 0                                     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0              | 0     | 0     | 0     | 0      |
| 結 膜    | 発 赤      | 0                                     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0              | 0     | 0     | 0     | 0      |
|        | 浮 腫      | 0                                     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0              | 0     | 0     | 0     | 0      |
|        | 眼 脂      | 0                                     | 0     | 1     | 1     | 1     | 1              | 0     | 0     | 0     | 0      |
| スコア 平均 |          | 1.2                                   |       |       |       |       | 0.4            |       |       |       |        |
| 判 定    |          | Practically nonirritating             |       |       |       |       | Nonirritating  |       |       |       |        |

[Kay & Calandra 法]

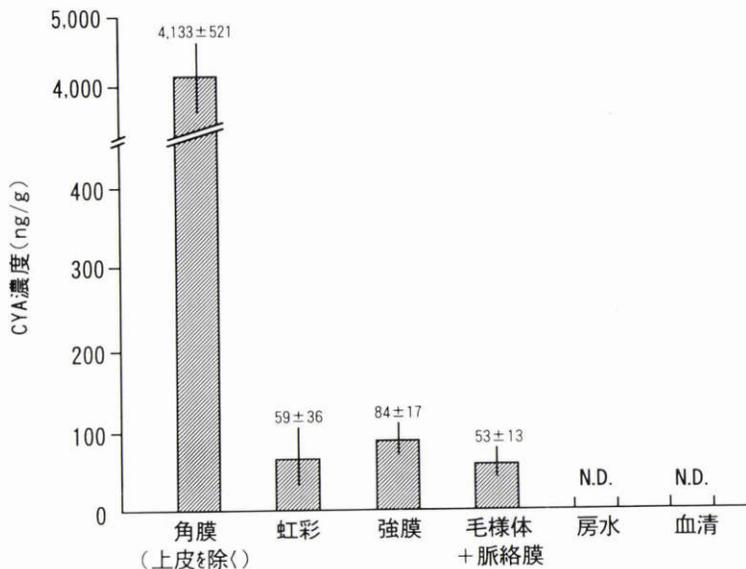


図2 正常家兎眼にたいして、0.025%CYA 頻回点眼 (30分毎10回) 後の眼組織内 CYA 透過濃度を示す。バーは平均値±標準誤差 (n=3) を示す。

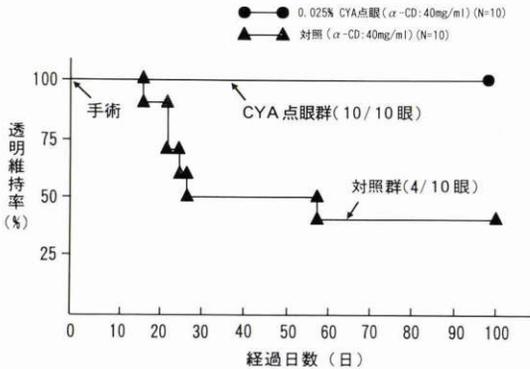


図3 家兎角膜交換移植での移植片透明維持率。角膜移植後より、0.025%CYA 点眼を開始した群は、全例、100 日間の観察において透明性を維持した。

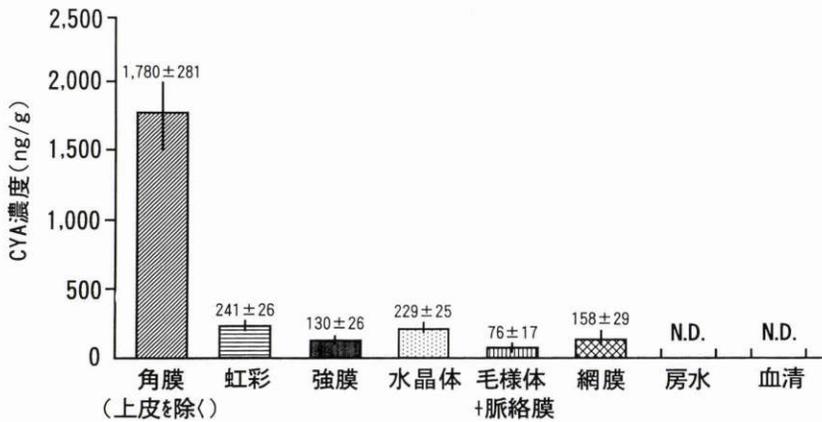


図4 角膜交換移植後、0.025%CYA 点眼を長期間使用した場合の (平均 116 ± 7 日、1 日 4 回点眼)、眼組織内 CYA 透過濃度を示す。バーは平均値 ± 標準誤差 (n = 9、ただし水晶体、毛様体 + 脈絡膜、網膜では n = 5) を示す。

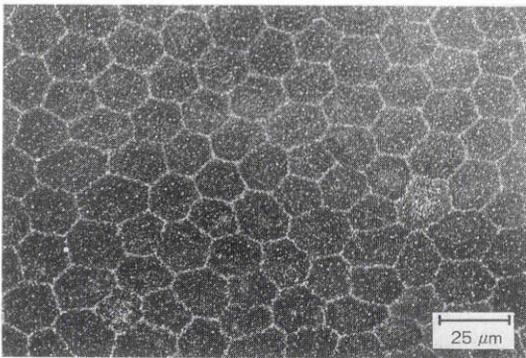


図5 角膜交換移植後、100 日間、0.025%CYA 点眼して透明性を維持した角膜移植片の角膜内皮細胞を示す。(×600)

2. 頻回点眼後の CYA 眼組織内移行について

角膜への CYA 濃度は、 $4,133 \pm 521$  ng/g、虹彩は、 $59 \pm 36$  ng/g、強膜では、 $84 \pm 17$  ng/g、毛様体 + 脈絡膜においては、 $53 \pm 13$  ng/g であった。房水及び血清中では、検出限界以下であった (図2)。

3. 角膜移植後の CYA 点眼による免疫抑制効果

1) 角膜交換移植後、免疫反応抑制効果：角膜交換移植後 100 日間の観察において、CYA 点眼群では、この期間中全例拒絶反応は出現せず、移植片透明維持率は、10 眼中 10 眼 (100%) が透明であった。一方、対照群では 10 眼中 6 眼 (60%) に拒絶反応が発症し、CYA 点眼群の方が有意に ( $p < 0.01$ ) 免疫反応抑制効果が認められた (図3)。ここで角膜移植後、0.025%CYA 点眼を 1 日 4 回開始してから投与後 100 日以上経過した

(平均 116 ± 7 日)、9 匹の家兎眼において、最終日の点眼終了 3 ~ 4 時間後に、各組織試料を調製し、RIA 法にて眼組織中の CYA 濃度を測定した。角膜では、 $1,780 \pm 281$  ng/g、虹彩  $241 \pm 26$  ng/g、強膜  $130 \pm 26$  ng/g、毛様体 + 脈絡膜  $76 \pm 17$  ng/g、房水及び血清は、検出限界以下であった (図4)。さらに、これらの角膜内皮について走査型電子顕微鏡で観察したところ、異常は認められなかった (図5)。

2) 角膜移植後拒絶反応発症時、CYA 点眼による拒絶反応消失効果：拒絶反応の初期段階であった 5 眼は、CYA 点眼を開始することによって数日後には rejection line は消失して角膜移植片は透明性を維持し、また血管の消褪傾向も認められた (表2の No.

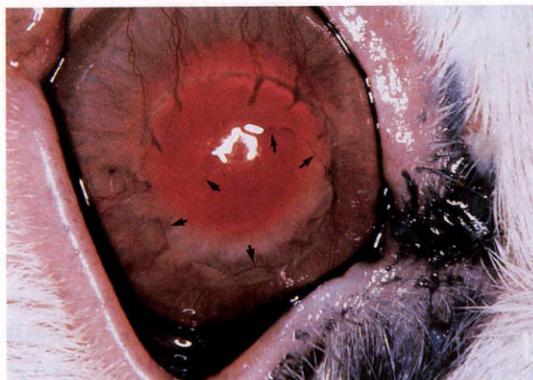


図6 角膜交換移植後、18日目にrejection line (矢印)が認められ、この時点から0.025%CYA点眼を開始した。(症例 No. 4)

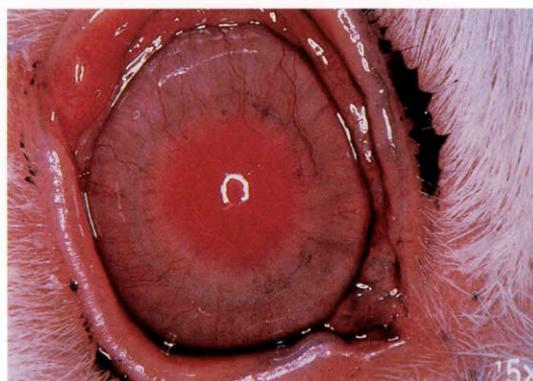


図7 0.025%CYA点眼を開始して19日目、rejection lineは消失し、新生血管も消褪した。(症例 No. 4)

1~5, 図6, 図7). 一方、拒絶反応が進行した2眼では、CYA点眼を開始したにもかかわらず、rejection lineは進行し、移植片は血管侵入の増強とともに混濁した(表2のNo. 6, 7). なお、CYA点眼で免疫反応を抑えることができた5眼において、点眼中止後の拒絶反応再発を観察期間平均60日間で調べた結果、5眼中2眼に中止後11日目と36日目に血管侵入の増強とともに、再度、拒絶反応が認められた。

#### IV 考 按

1. 眼組織内へのCYA透過性と眼刺激性について  
CYAの眼局所投与方法として、球結膜下注射、眼軟膏、点眼等の方法がある。しかし、CYAは水に溶けにくいのために、眼局所投与方法として用いた場合、角膜への

表2 家兎角膜移植後、免疫反応(rejection line)発症時、0.025%CYA点眼投与による拒絶反応消失効果。

| No. | 免疫反応発症までの期間 | 角膜所見(上皮層のRejection line) | CYA点眼日数 | 結果 |
|-----|-------------|--------------------------|---------|----|
| 1   | 24日         |                          | 16日     | 透明 |
| 2   | 28日         |                          | 16日     | 透明 |
| 3   | 20日         |                          | 17日     | 透明 |
| 4   | 18日         |                          | 19日     | 透明 |
| 5   | 24日         |                          | 16日     | 透明 |
| 6   | 24日         |                          | 4日      | 混濁 |
| 7   | 59日         |                          | 19日     | 混濁 |

No. 1~5は、rejection lineが移植片角膜周辺部に観察された拒絶反応の初期段階の時点より、点眼を開始した。No. 6~7は、移植片角膜の2/3以上rejection lineが進行した時点より点眼を開始した。

浸透が悪く、その効果を高めるためには高濃度のCYAが必要である。Mostellerら<sup>12)</sup>は、家兎眼に羊毛脂とワセリンで溶解した10%CYA眼軟膏を投与し、RIA法にて角膜のCYA透過濃度が900 ng/gであったと報告しており、Wiederholtら<sup>13)</sup>は、ヒマン油溶解2%CYA点眼にて角膜では、900~1,400 ng/gのCYA透過濃度を示した。さらに、Ben Ezraら<sup>14)</sup>は、家兎眼にオリーブ油溶解2%CYA点眼を10日間、1日3回投与後、角膜でのCYA透過濃度は、80~100 ng/gであり、20 mg/kg/日のCYAを家兎に10日間で投与したあとの血中CYA値は400 ng/gで、眼組織では測定限界以下であったと報告している。今著者らが行った実験では、 $\alpha$ -CD溶解0.025%CYA点眼後(30分毎10回点眼後30分後に摘出)のRIA値は、今までの報告に較べて点眼剤のCYA濃度が100分の1以下であるのに対し、角膜では、4,133 ng/gと5~10倍のCYA浸透度を示した。さらに、角膜移植後、0.025%CYA点眼液を1日4回点眼し100日経過した眼組織中のCYA透過濃度は、角膜1,780 ng/g、強膜130 ng/g、虹彩241 ng/g、血清は測定限界以下であった。即ち、Kaswanら<sup>15)</sup>が前部ぶどう膜での有効CYA濃度を50~200 ng/gと推定していることから、長期投与においても前眼部に有効なCYA濃度を安定して保って

いると思われる。ところで、三島ら<sup>16)</sup>は家兎を用いた生体内での角膜透過性の測定において、角膜透過の barrier の大部分が角膜上皮にあると報告している。故に、今回の実験においては、眼球摘出後、角膜上皮を剝離除去してから CYA の RIA 値を計測しており、従来の報告に較べてより正確な CYA 角膜透過度を示していると思われる。 $\alpha$ -CD を溶媒として用いることにより CYA の角膜への透過性がより良好となることが著者らの実験によって示されたが、点眼剤として用いる場合、眼への刺激性と角膜組織への障害性の有無も重要な問題点となる。今回施行した Draize test による頻回点眼での眼刺激性判定試験では、Practically non-irritating と判定され、眼刺激に対して安全性が確認された。組織学的には角膜上皮の micro-villi がわずかに減少するのみであり<sup>7)</sup>、角膜移植後の長期点眼においても、角膜内皮細胞に対する障害は認められなかった。さらに、溶媒として用いたシクロデキストリンは環状構造をもつオリゴ糖で人体にたいして無毒であり<sup>9)</sup>、組織に対して免疫学的な応答を誘発するとは考えにくい。これらの事実より、 $\alpha$ -CD 溶解 0.025%CYA 点眼は家兎眼に対する障害について、ほとんど問題がないと思われた。

## 2. CYA 点眼による免疫抑制効果について

家兎交換角膜移植拒絶反応にたいする CYA 点眼の抑制効果は、今までに種々の報告がなされているが、濃度や溶解剤及び CYA が水に溶けにくい等の問題から一定の評価を得るに至っていない。Williams ら<sup>17)</sup>は、家兎角膜移植において、1%CYA 点眼(オリーブ油溶解)とステロイド点眼で比較したところ、CYA 点眼はステロイド点眼より免疫抑制効果が劣り、その理由として CYA は油性のため角膜への浸透性が悪いことによるとしている。Chen ら<sup>18)</sup>は、オリーブ油溶解 CYA 点眼 (10 mg/g) と CYA 含有 (4 mg) collagen shields との比較において、拒絶反応早期からの使用により、移植後 120 日の観察において、点眼では 20%、collagen shields では、90%の移植片生着を認めたと報告しており、CYA を点眼剤として用いることの限界を示している。一方、Hunter ら<sup>3)</sup>は、落花生油溶解 1% CYA 点眼にて、また Foets ら<sup>4)</sup>は、オリーブ油溶解 1%CYA 点眼にて非点眼群に比べて家兎移植眼の生着延長効果を認めている。今回、著者らの用いた  $\alpha$ -CD 溶解 0.025%CYA 点眼では、移植直後より点眼を開始し、100 日間の観察にて 100%の家兎角膜移植眼の生着をみた。また、拒絶反応初期より CYA 点眼を開始した

場合、免疫反応である rejection line は消失し、角膜移植片は透明性を維持した。しかし、拒絶反応が進行してから CYA 点眼を開始した例では、移植片は混濁し免疫反応の抑制は認められなかった。さらに CYA 点眼にて早期の拒絶反応を抑えることができた例において、点眼を中止した場合、5 眼中 2 眼が 40 日以内に拒絶反応の再発をみた。CYA の作用機序として、リンフォカインの m-RNA 転写レベルでの阻害によってリンフォカインの産生が抑制されることにあるとしており、IL-2 によって誘導されたヘルパー T 細胞および細胞障害性 T 細胞の増殖反応に対しては、抑制効果がない。即ち、CYA は、いったん刺激され活性化を受けた T 細胞の増殖は抑制しないとされている<sup>19)</sup>。これらの事実から、CYA 点眼を角膜移植に用いる場合、少なくとも拒絶反応が出現しても、早期の段階で点眼を開始することが必要であり、できれば移植直後より点眼を開始して、拒絶反応の最も起こり易い移植後 6 か月間の点眼を続けることが望ましいと思われる。以上の点より、角膜移植に対する CYA 点眼の使用に際して、特に血管侵入のある例や再移植例などは、長期間に亘ることが予想される。以上、本実験の結果より、低濃度かつ角膜にたいして浸透性に優れ、眼組織及び全身にたいして障害の少ない、 $\alpha$ -CD 溶解 0.025%CYA 点眼は、今後臨床応用も可能であると思われた。

本論文の要旨の一部は、第 8 回日本眼薬理学会(1988 年)において高野が、第 93 回日本眼科学会総会(1989 年)にて金井が報告した。また本研究の一部は、文部省科学研究費一般研究(C)免疫抑制剤眼局所投与による角膜移植後の免疫抑制効果の研究(金井 淳、課題番号:02670795、平成 2 年、3 年)によるものである。

## 文 献

- 1) Calne RT, Rolles K, White DJG, et al: Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreas and 2 livers. *Lancet* ii: 1033-1036, 1979.
- 2) Shepherd WFI, Coster DJ, Chin Fook T, et al: Effect of cyclosporin A on the survival of corneal grafts in rabbits. *Br J Ophthalmol* 64: 148-153, 1980.
- 3) Hunter PA, Garner A, Wilhelmus KR, et al: Corneal graft rejection: A new rabbit model and cyclosporin-A. *Br J Ophthalmol* 66: 292-302, 1982.
- 4) Foets B, Missotten T, Vanderveeren P, et al: Prolonged survival of allogeneic corneal grafts

- in rabbits treated with topically applied cyclosporin A: Systemic absorption and local immunosuppressive effect. *Br J Ophthalmol* 69: 600-603, 1985.
- 5) **BenEzra D, Brodsky M, Cohen E, et al:** Cyclosporine eyedrops for the treatment of severe vernal keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 101: 278-282, 1986.
  - 6) **Versura P, Cellini M, Zucchini PG, et al:** Ultrastructural and immunohistochemical study on the effect of topical cyclosporin A in the rabbit eye. *Cornea* 8: 81-89, 1989.
  - 7) **Kanai A, Alba RM, Takano T, et al:** The effect on the cornea of alpha cyclodextrin vehicle for cyclosporin eye drops. *Transplant Proc* 21: 3150-3152, 1989.
  - 8) **Alba RM, 金井 淳, 高野俊之, et al:** The effect on the cornea of various vehicles for cyclosporin eye drops. *眼紀* 40: 902-908, 1989.
  - 9) 小宮山真: シクロデキストリン化学の新展開. *科学* 59: 105-112, 1989.
  - 10) 小川俊太郎, 松田弘幸: 眼刺激性判定試験, Draize法とその周辺. *薬局* 20: 329-342, 1969.
  - 11) **Donatsch P, Abisch E, Homberger M, et al:** A radioimmunoassay to measure cyclosporin A in plasma and serum samples. *J Immunoassay* 2: 19-32, 1981.
  - 12) **Mosteller MW, Gebhardt BM, Hamilton AM, et al:** Penetration of topical cyclosporine into the rabbit cornea, aqueous humor, and serum. *Arch Ophthalmol* 103: 101-102, 1985.
  - 13) **Wiederholt M, Schulz W, Hoffmann F, et al:** Pharmacokinetic of topical cyclosporin A in the rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 519-524, 1986.
  - 14) **BenEzra D, Maftzir G:** Ocular penetration of cyclosporin A. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31: 1362-1366, 1990.
  - 15) **Kaswan RL:** Intraocular penetration of topically applied Cyclosporine. *Transplant Proc* 20: 650-655, 1988.
  - 16) 三島清一, 服部英二, 山内秀泰: 生体内での角膜透過性の測定. *日眼会誌* 75: 198-203, 1972.
  - 17) **Williams KA, Grutzmacher RD, Coster DJ, et al:** A comparison of the effect of topical cyclosporine and topical steroid on rabbit corneal allograft rejection. *Transplantation* 39: 242-244, 1985.
  - 18) **Chen YF, Gebhardt BM, Reidy JJ, et al:** Cyclosporine-containing collagen shields suppress corneal allograft rejection. *Am J Ophthalmol* 109: 132-137, 1990.
  - 19) **Herold KC, Lancki DW, Moldwin RL, et al:** Immunosuppressive effects of cyclosporin A on cloned T cells. *J Immunol* 136: 1315-1321, 1986.