

生体リズムと投薬タイミングに実証される 時間治療の展望

大戸 茂弘

九州大学大学院薬学研究院医療薬科学専攻臨床薬学講座薬物動態学分野

生体には体内時計が存在し、その本体は視神経が交差する視交叉上核（SCN）に位置し、時計遺伝子により制御されている。この機構により多くの生体機能や疾患症状に24時間周期のサーカディアンリズムが認められる。近年、医薬品適正使用の向上を目指し、投薬時刻により薬の効果が大きく異なることがわかってきた（時間薬理学：chronopharmacology）。また、医薬品の添付文書などに服薬時刻が明示され、時間を考慮した製剤も臨床応用されるに至っている。しかし、時間治療のさらなる振興を図るには、これまで蓄積された時間薬理学的所見を体系化していく必要がある。このような背景から、我々は細胞レベルの周期性を考慮した投薬設計、新規副作用（生体の恒常性の破綻）を克服するための投薬設計の構築および至適投薬タイミングの設計を容易にする生体リズム操作方法の開発などを目的とした研究を行っているので紹介する。薬物療法の最終ゴールが治療の個別化であるとすれば、個々の生体リズムにマッチした投薬設計を構築することが必要不可欠といえる。

はじめに

近年、医薬品適正使用の向上を目指し、薬物治療の個別化を指向した研究が活発に行われている。これまで薬物動態の個体差に関する研究は、薬物濃度に着目した研究が中心であった。しかしながら、分子生物学的手法の急速な発展により個体間の変動に着目した遺伝子診断や薬物代謝酵素の多型性に関する研究が活発に行われ、薬物動態の個体差に着目した投薬設計は確立されつつある。また21世紀は薬物治療のテーラーメイドの時代に突入するものと思われる。したがって、医薬品適正使用のさらなる充実を図るには、個体間変動のみならず個体内変動に着目した研究の充実は必至である。こうした状況の中で、投薬時刻により薬の効き方が大きく異なることがわかってきた（時間薬理学：Chronopharmacology）¹⁾。また薬の効き方を決定する薬の体内での動き方や薬に対する生体の感じ方も生体リズムの影響を受ける。最近では、医薬品の添付文書などに服薬時刻が明示されるようになってきた。しかしながら、抗腫瘍薬を含む多くの薬物に関しては治療応用されるに至っていない。その理由として薬効や薬物動態の日周リズムの制御機構が明らかにされていない点

と蓄積された時間薬理学的所見が整理、体系化されておらず臨床現場に役立つ形に整備されていない点あげられる。このような状況の中で我々は、「薬物活性の日周リズム：薬力学的側面および薬物動態学的側面からの機序解明」の研究に力を注いできた²⁾。これらの中から抗腫瘍薬を中心にいくつかの研究内容について紹介する。

(1) 生体リズムの制御機構

生体には、体内時計が存在し、種々の生体リズムを制御している。その本体は、視神経が交差する視交叉上核（suprachiasmatic nucleus, SCN）に位置している^{3,4)}。体内時計の発振周期は、24時間ではなく、ヒトの場合約24.2-25.1時間である。環境サイクルのない、いわゆる恒常環境下での約1日の変動リズムを「概日リズム」という。このような変動を24時間のサイクルに合わせることを「同調」といい、光が最も強力な作用を示す。また、体内時計が発する概日リズム振動のことを「発振」という。その信号が例えば松果体のメラトニン分泌を調節するような機構を「出力」という。これらの機構はSCNの時計遺伝子により制御されているが、その遺伝子は中

枢のみならず末梢組織でも発現し、ローカル時計として機能している¹⁰⁾。このことはSCNが中心時計として働き、他の部位に発現している時計遺伝子はローカル時計として働き、SCNから何らかの情報（ホルモン、神経機能）が他の臓器の機能をコントロールしていると考えられる¹⁰⁻¹³⁾。すなわち、生体は体内時計の階層構造をうまく利用し、生体のホメオスタシス機構を維持している。

(2) 時間薬理学

2-1. 生体リズムと疾患

起床時に副腎皮質ホルモン（コルチゾール）の急激な上昇により、我々は眠りからさめて行動できるように身体の体制が準備される。引き続き交感神経の活動が活発になり、眠りに付く頃には副交感神経の活動が活発になる。またホルモン分泌や神経活動の日周リズムと関連して様々な疾患に日周リズムが認められる¹⁴⁾。例えば、高血圧症患者では、一日の中で血圧が最高に達する夕方頃に高血圧症状を示す。血圧の日周リズムとも関連して、クモ膜下出血や脳梗塞の発症頻度は、時間により大きく変化する。コレステロールの生合成は夜間に高まる。喘息発作による呼吸困難の増加および最大気流量の低下は深夜に起こる。消化性潰瘍時の胃酸分泌増加は夜間に起こる。歯などの痛みは夜間から早朝に発現する。以上のように喘息、高血圧、高脂血症、内分泌疾患などでは、症状が悪化する時間帯が決まっており、投薬タイミングを設定することが比較的容易である。一方、病型が多岐にわたり一律に疾患症状の日周リズムを規定できない場合もある。また、睡眠障害などのいわゆる生体リズム障害は、生体リズムが変容していることが問題となる。

2-2. 生体リズムと薬物活性リズム

疾患症状や生体機能に日周リズムが存在するため添付文書などに至適投薬時刻が記載されている代表的医薬品として気管支喘息治療薬、降圧薬、高脂血症治療薬、副腎皮質ホルモン、利尿薬、消化性潰瘍治療薬、睡眠薬などがある。一方で、疾患症状の日周リズムの存在の有無にかかわらず多くの薬物の効果、副作用および薬物動態が、投薬時刻により異なることが知られている。その機序としてレセプター機能、神経伝達物質などの生体の感受性や吸収、分布、代謝、排泄などの薬物動態の日周リズムが関与している。薬物動態の日周リズムは、吸収、分布、代謝、排泄の時間的变化により生じる¹⁵⁾。経口投与

時の薬物吸収過程は、薬の物理化学的性質、生体膜の面積と構造、胃内通過時間および消化管のpH、運動および血流量などの要因により支配されている。これらの要因には日周リズムが認められ、薬物吸収リズムの機序であると考えられる。薬物は血中蛋白（アルブミンやグロブリン）と結合するため、血中蛋白濃度や薬物蛋白結合率に影響を及ぼす血中遊離脂肪酸などの生体内物質の日周リズムにより遊離型の薬物濃度が変動し、その結果薬物の組織への移行性が変化することが考えられる。薬物の肝代謝は、一般に肝酵素活性および肝血流量により制御されている。両者ともに日周リズムを示し、薬物代謝の日周リズムの機序として考えられる。最近、遺伝子型と薬物代謝の表現型との関連が活発に研究されている。薬物代謝の表現型から評価して、代謝が亢進している群と低下している群の二群間で、デブリソキンの代謝能が昼間低下することが明かにされている¹⁶⁾。このように、遺伝子型毎に薬物代謝能の日周リズムを比較検討することにより、個体間変動を減少させ、個体内変動をより正確に評価できるものとする。多くの薬物が腎臓を介して排泄される。糸球体ろ過、腎血流量、尿のpHおよび尿細管の再吸収は、活動期に高まる有意な日周リズムを示す。これが主として腎から未変化体として排泄される親水性薬物の排泄の日周リズムの機序と考えられる。

(3) 薬物活性日周リズムの機序解明と生体リズムマーカーの探索。

一般に抗腫瘍薬の効果は、薬物動態、薬力学および癌細胞の感受性により規定される。また感受性は、癌細胞の増殖状態、細胞周期によって異なることが知られている。一方、抗腫瘍薬の薬物治療において、癌細胞に対し抗腫瘍効果を最大にする点と正常細胞に対し毒性を最小にする点が重要である。抗腫瘍薬の共通した副作用として骨髄抑制があり、その他頻度の高い副作用として消化管障害がある。すなわち、活発に増殖を繰り返している骨髄細胞や消化管細胞は抗腫瘍薬による副作用の標的臓器となりうる。健康人の骨髄細胞のDNA合成能には、活動期に高値を、休息期に低値を示す有意な日周リズムが認められる¹⁷⁻¹⁹⁾。同様の所見は、直腸粘膜細胞でも認められる。一方、癌細胞のDNA合成能にも日周リズムが認められる。すなわち、生体内では抗腫瘍薬に対する細胞の感受性が時間と共に変化していることが推察される。生体の感受性の側面から細胞動態（細胞周期や標的酵素の動き）の日周リズムが、正常細胞

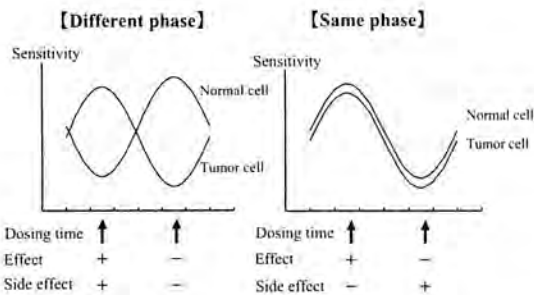


図1. 抗腫瘍薬の時間薬物治療の指針

胞と癌細胞との間で同じか異なるか（リズムの位相が同じか異なるか）が重要である（図1）。位相が異なる場合は正常細胞の感受性が低く、癌細胞の感受性が高い時刻に投薬することが望ましい。位相が同じ場合は、薬物を用い細胞動態を制御することにより細胞種間に位相の差異を見いだすことも可能である。一般にmRNAの発現はS期の直前あるいは前半に高まり、その後DNA合成と共にタンパク合成能が高まる。期特異性薬剤の作用機序としては、DNA、RNAおよびタンパク合成阻害や紡錘系形成阻害などが知られており、細胞分裂の中で特定の期（S期、M期）に有効である。実際ヒト白血病細胞（HL-60）を対象に、細胞培養系で、S期特異性薬剤であるメトトレキサート（MTX）の抗腫瘍効果は、S期の細胞の割合が増加する時間帯に増強し、減少する時間帯に減弱する^{20,21)}。その機序として薬力学的側面より、標的酵素であるジヒドロ葉酸還元酵素（DHFR）の活性およびそのmRNAの時間的変化が関与している。

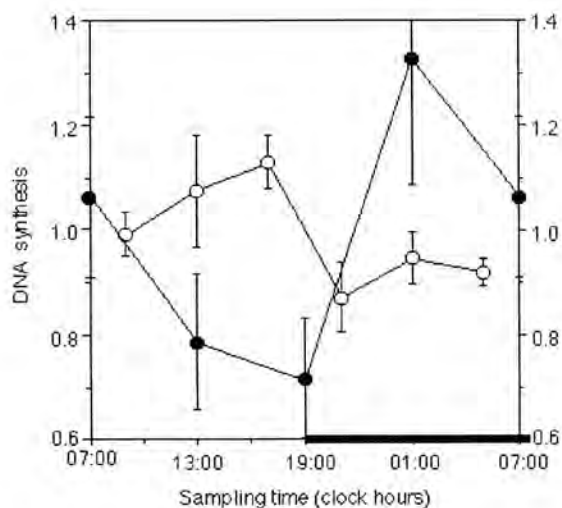


図2. colon-26細胞および骨髄細胞のDNA合成の日周リズム。●: colon-26; ○: 骨髄細胞 (N=6, mean ± s.e.)

マウスを対象としたI型トポイソメラーゼの選択的阻害剤である塩酸イリノテカン（CPT-11）投薬後の体重減少は、活動期後半から休息期前半の投薬で最大となり、休息期後半の投薬で最小となる²²⁾。CPT-11投薬後の白血球減少は、休息期投薬で最大となり、活動期前半投薬で最小となる。この機序としてCPT-11の標的酵素であるI型トポイソメラーゼ活性の時間的変化が一部関与している。一方、footpadにcolon26を移植したマウスにおいて、CPT-11の抗腫瘍効果は、毒性が減弱する時間帯（19：00）の投薬で増強し、毒性が増強する時間帯（07:00）の投薬で減弱する。DNA合成能の日周リズムには、正常骨髄細胞と移植した腫瘍細胞との間で約12時間の位相の差が認められる（図2）。これが効果と毒性のリズムの位相差に関与しているものと思われる。またCPT-11投薬後のCPT-11および主活性代謝物であるSN-38の血中濃度にも投薬時刻による差異が認められる。血中エステラーゼ活性には活動期に高値を示す日周リズムが認められ、これがCPT-11からSN-38への代謝の時間的変化に関与しているものと思われる。その他、受容体を介して作用を発揮するインターフェロン（IFN）の抗ウイルス作用および抗腫瘍作用、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の白血球増加作用も投薬時刻により異なる。その機序としてレセプターの日周リズムが関与している^{23,24)}。現在、標的細胞のDNA合成能、標的酵素、レセプター機能および薬物動態の日周リズムの成因を時計遺伝子など周期的に変動する因子の中から探索している。

(4) 新規副作用（生体の恒常性の破綻）とそれを回避するための投与方法。

生体リズムは、健康を保持・増進させる上でも重要な役割を果たしている。生体リズムの破綻が不眠や胃腸障害などを引き起こし、持続的に続くと精神疾患などの慢性の疾患を生じることもしばしばない。一方、薬物治療中に睡眠・覚醒のサイクル、コチゾール、体温などの生体リズムが変容することが注目され始めている。

IFNは腫瘍および慢性肝炎治療などに幅広く使用されているが、重要な副作用としてリズム障害と関連の深いうつ状態、不眠、自殺などが報告されている³⁰⁻³³⁾。IFN非投与時には、ヒトにおいてリンパ球数は08:00時頃に最低となり、22:00時頃に最高となるが、コチゾール濃度は08:00時頃に最高となり、22:00時頃に最低となる。これらのリズムはIFNを08:00時頃に連日投与するとリンパ球数は低値を維持

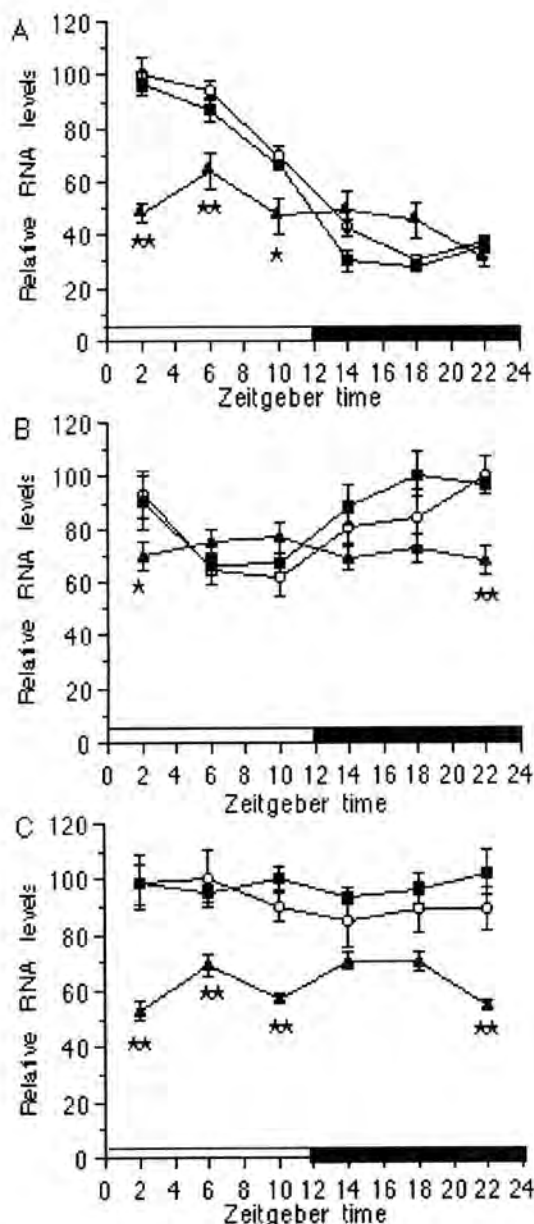


図3. SCNの時計遺伝子 mRNA 発現に及ぼす IFN 投薬時刻の影響^{32,33)}。明暗周期 (明期 (休息期) : 07:00-19:00、暗期 (活動期) : 19:00-07:00) 条件下で飼育した ICR 雄性マウスを対象に IFN (2MIU/kg, sc) を 07:00 あるいは 19:00 のいずれかに 6 日間連続投与した。A:Per1, B:Bmal1, C:Clock, ■:07:00 (ZT0) 投薬, ▲:19:00 (ZT12) 投薬, ○:saline 投薬, **:P<0.01, *:P<0.05, 相当する時刻のコントロール群との比較 (N=6, mean±s.e.)

し、コーチゾール濃度は高値を維持する。すなわち正常なリンパ球数とコーチゾール濃度の逆相関関係は崩れリズムは消失する。一方、IFN を 22:00 時頃に隔日投与すると正常に維持される。以上の結果は、IFN を夜間に投与し、かつ隔日に投与することが生体リズムを崩さない理想的な投与方法であることを

示している。しかしながら、IFN の生体リズム障害の機序については明らかにされていない。そこで、マウスを対象に、体内時計の本体である視交叉上核の時計遺伝子の日周リズムが薬物投与中に如何に変容するかを明らかにすること、および時計遺伝子の日周リズム障害を克服するための至適投薬設計を構築することを目的に以下の検討を行った³²⁻³⁴⁾。

マウスを対象として、IFN による生体リズムの障害が末梢のみならず SCN でも認められることを明らかにした (図 3)。薬物非投与時には SCN の Per1、Per2、Per3 mRNA 発現量はそれぞれ明期 (休息期) 前半、後半、中間に最高値を示す。一方、IFN の連続投与によりそれらのリズムの振幅は顕著に低下する。Per 遺伝子の転写促進因子である Clock および Bmal1 の mRNA も抑制される。また光刺激による Per 遺伝子の誘導も障害される。薬物非投与時には肝臓や副腎における Per1 mRNA は SCN と比べ数時間遅れて最高値を示す。一方、IFN 投薬によりリズムは障害される。行動や体温のリズムは暗期に高値を示すが、IFN 投薬によりその振幅は顕著に低下する。IFN は末梢でリンパ球を活性化させたり、抗腫瘍効果を示すとともに、中枢性の副作用を示す。従って、IFN は中枢と末梢の両方に作用すると考えられる。SCN を電氣的に破壊することにより末梢のリズムは障害される。一方、環境を操作することにより行動リズムを変容させた場合、SCN のリズムは必ずしも変化しない。そのため IFN の末梢での作用が SCN の機能障害の機序であるとは考えがたい。また IFN がそのレセプターを介して誘導する interferon stimulated gene factor (ISGF) は SCN でも強く発現しており IFN の SCN での直接作用を指示する所見である。IFN による時計機能障害は活動期前半の投薬で認められるが、休息期前半の投薬では認められない。この結果は上記ヒトでの所見と類似している。また SCN における IFN レセプターには活動期に高値を示す有意なリズムが存在するため、時計機能障害の投薬時刻による差の機序として考えられる。このような現象は他の薬物でも認められるため IFN 以外の薬物に関しても生体のホメオスタシス機構を維持しながら治療していくことが、副作用、合併症の防止という点で重要であろう。

(5) 生体リズム (生体内環境) を操作することによる新規時間治療法の開発。

生体リズムは、生活パターン、治療状況、疾患の症状など様々な要因により影響される^{35,36)}。そのた

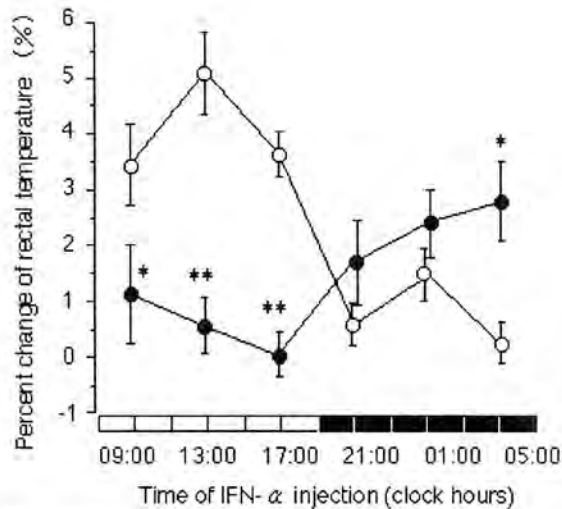


図4. IFN- α (10 MIU/kg, iv) 投薬後0.5時間目における直腸温の日周リズムに及ぼす摂食条件の影響³⁷⁾. ○: 自由摂食; ●: 時間制限摂食 (摂食時間帯 09:00-17:00). **:P<0.01, *:P<0.05, 相当する時刻の自由摂食群との比較 (N=8-10, mean \pm s.e.)

めリズムの位相が前進したり後退する。また振幅が小さくなり消失することもある。ヒトを対象とした研究で栄養液 (デキストリン、アミノ酸などの混液) の投与方法によりコーチゾールの日周リズムは大きく異なる³⁶⁾。通常の食事リズムにあわせて栄養液を昼間投与した場合、コーチゾールは朝最高値、夜最低値を示す有意な日周リズムを示す。一方、栄養液を夜間投与あるいは一日中連続投与した場合には、コーチゾールの日周リズムは変容する。生体リズムは個体内変動であるが、個体差が認められるため、時間治療において個体差を調整することが重要である。

マウスを対象にIFN- α の薬物活性の日周リズムに及ぼす摂食時間帯の影響について検討した³⁷⁾。自由摂食群における体温には明期に低値を、暗期に高値を示す有意な日周リズムが認められ、IFN- α による発熱作用は暗期投薬において軽減される (図4)。また、IFN- α の抗ウイルス作用の指標である 2'5' OAS 活性は発熱が軽減される 07:00 投薬時に高まる。一方、IFN- α による発熱および抗ウイルス作用ともに摂食時間帯を繰り返し操作することにより、自由摂食群におけるリズムと位相が逆転する。摂食時間帯を繰り返し操作することによりIFN- α の薬物活性の日周リズムが変化する機序として、IFN- α 薬物動態およびIFNレセプター発現量の日周リズムの変化が一部関与している。同様の所見は、バルプロ酸、テオフィリン、ゲンタマイシン、メトトレキサート、

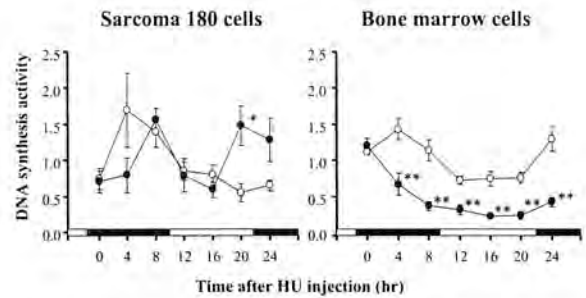


図5. ヒドロキシウレア (HU: 300 mg/kg, ip) あるいは生理食塩水を 09:00 投薬後の S-180 sarcoma 細胞 (左図) および骨髄細胞 (右図) における DNA 合成の日周リズム³⁹⁾. ○: saline 投薬; ●: ヒドロキシウレア投薬. **:P<0.01, *:P<0.05, 相当する時刻のコントロール群との比較 (N=6, mean \pm s.e.)

モルヒネ、漢方薬など多くの薬物で認められる³⁸⁾。

CPT-11の効果増強と副作用軽減を目的として細胞周期同調作用を有するヒドロキシウレア (HU) 併用時におけるCPT-11の至適投薬タイミングについて検討した³⁹⁾。CPT-11の抗腫瘍効果はHU投薬後20時間目併用群が最大となり単独投与と比較して有意に増強する。体重減少作用は0時間目併用群 (同時併用群) が最小であったが単独投与と差は認められない。薬物未処置時には、腫瘍および骨髄の細胞動態は類似しDNA合成能はともに休息期に高値を示し、活動期に低値を示す (図5)。HU投薬により骨髄細胞のDNA合成は抑制され、その作用は20時間以上持続する。しかし腫瘍細胞のDNA合成はHU投薬後一時的に抑制されるがすぐに回復する。更に薬物未処置時において低値を示した活動期後半のDNA合成能はHUによって高値を示すなど、そのリズムは変容する。CPT-11はS期特異的な抗腫瘍薬であるため、その殺細胞効果と標的細胞の細胞動態との間に関連性がみられる。以上のことから、摂食条件の繰り返し操作および細胞同調剤の投与により、種々の薬物の薬物活性日周リズムの位相を制御することが可能となる。これにより、生体リズムをモニターし至適投薬タイミングを設定する受動的な従来の時間治療に対し、生体リズムを操作することにより至適投薬タイミングを設定する能動的な時間治療が可能となる。

(6) 時間治療の今後の展開

この10数年の間にいくつかの薬物の添付文書に投薬時刻が明示されるに至っている。また時間薬理学的所見を考慮したDDSの開発も進み治療応用されるに至っている。一方、最近急速に発展した分野とし

て体内時計の分子機構をあげているが、今後の重要な課題は臨床応用である。そのため時計遺伝子に関する情報に基づき時間治療の今後の展開について紹介する。

睡眠障害の機序として時計遺伝子の変容が一部関与していると考えられるが、家族性睡眠相前進症候群 (familial advanced sleep phase syndrome: FASPS) における hPer2 リン酸化部位の突然変異が知られている¹⁰⁾。FASPS は常染色体優性の生体リズム異常であり、睡眠、体温、メラトニンの各周期が正常より4時間進んでいる「早起き」型を示す。FASPS 患者では、hPer2 のCKIε結合領域内でセリンがグリシンに置換した突然変異が見られる。このためCKIεによるhPer2のリン酸化低下が生じている。したがって、FASPS患者に睡眠行動の異常が発現するのは、生体リズムに影響を及ぼす時計遺伝子hPer2のミスセンス突然変異によると考えられる。このようにある種の時計遺伝子の変異により生体リズムが障害されることが明らかにされている。心筋梗塞の発症は朝にピークを示す日周リズムが認められる。心筋梗塞の発症に関与する線溶系の調節因子、プラスミノゲンアクチベーターインヒビターI (PAI-1) 遺伝子発現がE-boxを介して時計遺伝子により調節されている¹¹⁾。in vitroの系においてPAI-1は、CLOCKとBMAL2のヘテロダイマーのE-boxへの結合により転写活性化されるが、この活性化はPER2およびCRY1によって抑制される。このように疾患の日周リズムと密接に関連した遺伝子の日周リズムも時計遺伝子の制御下にある。またSCNや肝臓でリズム的に発現しているDbpは出力系の遺伝子であり、時計遺伝子により制御されている¹²⁾。肝臓におけるアルブミン遺伝子や数種のP450分子の転写はこの転写因子の制御下にあり、転写活性が概日リズムを示す¹³⁾。従って、Dbpの概日リズムが薬物動態の日周リズムの成因の一部であると考えられている。今後種々の薬物代謝酵素、レセプター機能などの日周リズムの成因を体内時計の分子機構の側面より解明することにより、生体リズムマーカーを抽出することも可能となるであろう。

生体リズムは、生活パターン、治療状況、疾患の症状など様々な要因により影響される。また種々の薬物が、体内時計に作用し、生体リズムの位相を変化させることが明らかにされつつある。光刺激は主観的暗期に特異的に体内時計の位相を変化させるが、多くの非光刺激は明期に作用して体内時計をリセットする。このような非光同調因子としては、制限給

餌、薬物などが知られている。例えば、セロトニン受容体 (5HT1A/5HT7) のアゴニストである8-OH DPATは行動リズムの位相を時刻依存的に変化させる¹⁴⁾。しかし、その位相反応曲線は光同調刺激によるものと180度位相が異なる。すなわち、8-OH DPATは主観的明期に投与したときのみ行動リズムの位相前進を誘導する。8-OH DPAT投与2時間後のSCNのPer1やPer2の発現パターンはコントロール群に比べ有意に減少する。この結果は非光同調時にもPer1発現と行動リズムの位相変化に関連があることを示している。また摂食条件を繰り返し操作することにより、末梢での時計遺伝子の日周リズムが摂食時間帯に応じて変化することが知られている¹⁵⁾。逆に薬物や摂食条件を操作することにより、生体リズムを調整したり、意図的に変化させることも可能である。今後、摂食条件の繰り返し操作や薬物による生体内環境を操作することによる積極的な時間治療の展開が期待される。

おわりに

実際の治療において、これまで蓄積された時間薬理学的所見を整理して体系化していくことが必要となる。すなわち、何を生体リズムの指標とすべきか、生体リズムの中でいつ投薬すべきか、を決定することが重要となる。そのためにも薬物活性の日周リズムを生理機能の日周リズムと関連づけて、時計遺伝子により如何に制御されているかを明らかにしていく必要がある。これらの点を考慮して、現在我々は時計遺伝子を基盤にした薬物代謝酵素、レセプター機能などの日周リズムの成因解明、生体の恒常性の破綻を克服するための投薬設計の構築、至適投薬タイミングの設計を容易にする生体リズム操作方法の開発などを目的とした研究を行っている。身近なところで、これまで経験的に行われている1日2回あるいは3回均等分割する投薬設計を、生体リズムを考慮して治療効果が望まれる時間帯に高用量、不必要な時間帯には投与量を減量するといった試みだけでも医薬品適正使用の向上につながるのではないだろうか。多くの生体機能や疾患に日周リズムが認められるため、個々の生体リズムにマッチした投薬タイミング、投与方法、製剤の工夫が望まれる。薬物療法の最終ゴールが治療の個別化であるとすれば、個々の生体リズムにマッチした至適投薬設計を構築することが必要不可欠といえよう。

参考文献

- 1) Ohdo S: 時間薬理学, pp.51-64, 朝倉書店 (2001)
- 2) Ohdo S, Watanabe H, Ogawa N, Yoshiyama Y, Sugiyama T: *Eur J Pharmacol.* 293: 281-285 (1995)
- 3) Watanabe H, Ohdo S, Ishikawa M, Ogawa N: *J Pharmacol Exp Ther.* 263 (3) : 1036-1045 (1992)
- 4) Viyoch J, Ohdo S, Yukawa E, Higuchi S: *J Pharmacol Exp Ther.* 298 (3) : 964-969 (2001)
- 5) Yoshiyama Y, Nishikawa S, Sugiyama T, Kobayashi T, Shimada H, Tomonaga F, Ohdo S, Ogawa N, Nakano S: *Antimicrob Agents Chemother.* 37 (9) : 2042-2043 (1993)
- 6) Ohdo S, Ogawa N, Song JG: *Eur J Pharmacol.* 293: 151-157 (1995)
- 7) Jin X, Shearman LP, Weaver DR, Zylka MJ, De Vries GJ, Reppert SM: *Cell* 96: 57-68 (1999)
- 8) Okamura H, Yamaguchi S, Yagita K: *Cell Tissue Res.* 309: 47-56 (2002)
- 9) Moore RY, Eichler VB: *Brain Res.* 42: 201-206 (1972)
- 10) Sakamoto K, Nagase T, Fukui H, Horikawa K, Okada T, Tanaka H, Sato K, Miyake Y, Ohara O, Kako K, Ishida N: *J Biol Chem.* 273: 27039-27042 (1998)
- 11) Silver R, LeSauter J, Tresco PA, Lehman MN: *Nature* 382: 810-813 (1996)
- 12) Ueyama T, Krout KE, Nguyen XV, Karpitskiy V, Kollert A, Mettenleiter TC, Loewy AD: *Nature Neurosci.* 2: 1051-1053 (1999)
- 13) Shigeyoshi Y, Taguchi K, Yamamoto S, Takekida S, Yan L, Tei H, Moriya T, Shibata S, Loros JJ, Dunlap JC, Okamura H: *Cell* 91: 1043-1053 (1997)
- 14) Smolensky MH, Labrecque G: *Pharmaceutical News* 4: 10-16 (1997)
- 15) Bruguerolle B: *Clin Pharmacokinet.* 35: 83-94 (1998)
- 16) Shaw GL, Falk RT, Caporaso NE, Issaq HJ, Kase RG, Fox SD, Tucker MA: *J Nat Cancer Inst.* 82: 1573-1575 (1990)
- 17) Bjarnason GA, Hrushesky WJM: *Circadian Cancer Therapy*, pp 241-263, CRC Press Inc, Boca Raton, Ann Arbor, London and Tokyo (1994)
- 18) Levi F, Zidani R, Misset JL: *Lancet* 350: 681-686 (1997)
- 19) Hrushesky WJM, von Roemeling R, Sothorn RB: *Chronopharmacology: Cellular and Biochemical Interactions*, pp439-473, Marcel Dekker Inc, New York and Basel (1989)
- 20) Yamauchi A, Ohdo S, Aramaki H, Hayashida Y, Yukawa E, Higuchi S: *Jpn J Clin Pharmacol Ther.* 27 (1) : 289-290 (1996)
- 21) Ohdo S, Inoue K, Yukawa E, Higuchi S, Nakano S, Ogawa N: *Jpn J Pharmacol.* 75 : 283-290 (1997)
- 22) Ohdo S, Makinosumi T, Ishizaki T, Yukawa E, Higuchi S, Nakano S, Ogawa N: *J Pharmacol Exp Ther.* 283 (3) : 1383-1388 (1997)
- 23) Ohdo S, Arata N, Furukubo T, Yukawa E, Higuchi S, Nakano S, Ogawa N: *J Pharmacol Exp Ther.* 285 (1) : 242-246 (1998)
- 24) Koyanagi S, Ohdo S, Yukawa E, Higuchi S: *J Pharmacol Exp Ther.* 283 (1) : 259-264 (1997)
- 25) Ohdo S, Wang DS, Koyanagi S, Takane H, Inoue K, Aramaki H, Yukawa E, Higuchi S: *J Pharmacol Exp Ther.* 294 (2) : 488-493 (2000)
- 26) Takane H, Ohdo S, Yamada T, Yukawa E, Higuchi S: *J Pharmacol Exp Ther.* 294 (2) : 746-752 (2000)
- 27) Wang DS, Ohdo S, Koyanagi S, Takane H, Aramaki H, Yukawa E, Higuchi S: *Antimicrob Agents Chemother.* 45 (1) : 176-180 (2001)
- 28) Takane H, Ohdo S, Yamada T, Koyanagi S, Yukawa E, Higuchi S: *Life Sci.* 68 : 1449-1455 (2001)
- 29) Ohdo S, Grass GM, Lee VHL: *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 32 (10) : 2790-2798 (1991)
- 30) Abrams PG, McClamrock E, Foon KA: *New Engl J Med.* 312 : 443-444 (1985)
- 31) Bocci V: *Cancer Drug Deliv.* 2 : 313-316 (1985)
- 32) Ohdo S, Koyanagi S, Suyama H, Higuchi S, Aramaki H: *Nature Med.* 7 : 356-360 (2001)
- 33) Koyanagi S, Ohdo S: *Molecular Pharmacology* 62 (6) : 1393-1399 (2002)
- 34) Lundkvist GB, Robertson B, Mhlanga JDM, Rotenberg ME, Kristensson K: *NeuroReport* 9 : 1059-1063 (1998)

- 35) Duncan WC : Pharmacol Ther. 71 : 253-312 (1996)
- 36) Nishimura K, Kato H, Saito M : J Nutr Sci Vitaminol. 38 : 117-125 (1992)
- 37) Suyama H, Ohdo S, Yukawa E, Higuchi S, Koyanagi S : Jpn J Clin Pharmacol Ther. 32 (2) : 297S-298S (2001)
- 38) Ohdo S, Ogawa N, Nakano S, Higuchi S : J Pharmacol Exp Ther. 278 (1) : 74-81 (1996)
- 39) Akagi T, Ushinohama K, Kage Y, Ishizaki T, Makinosumi T, Yamauchi A, Inoue K, Yukawa E, Higuchi S, Ohdo S : Life Sci. 72 : 1183-1197 (2002)
- 40) Toh KL, Jones CR, He Y, Eide EJ, Hinz WA, Virshup DM, Ptacek LJ, Fu YH : Science 291 : 1040-1043 (2001)
- 41) Maemura K, de la Monte SM, Chin MT, Layne MD, Hsieh CM, Yet SF, Perrella MA, Lee ME : J Biol Chem. 275 : 36847-36851 (2000)
- 42) Ripperger JA, Shearman LP, Reppert SM, Schibler U : Genes Dev. 14 : 679-689 (2000)
- 43) Lavery DJ, Lopez-Molina L, Margueron R, Fleury-Olela F, Conquet F, Schibler U, Bonfils C : Mol Cell Biol. 19 : 6488-6499 (1999)
- 44) Horikawa K, Yokota S, Fuji K, Akiyama M, Moriya T, Okamura H, Shibata S : J Neurosci. 20 : 5867-5873 (2000)
- 45) Damiola F, Minh NL, Preitner N, Kornmann B, Fleury-Olela F, Schibler U : Genes Dev. 14 : 2950-2961 (2000)