

難治性循環器疾患の遺伝子治療に関する基盤研究

課題番号 H10—特別—015

平成 10 年度厚生科学研究費補助金  
(厚生科学特別研究事業)  
研究成果報告書

平成 11 年 3 月

研究代表者 森下 竜一  
(大阪大学医学部遺伝子治療学助教授)

難治性循環器疾患の遺伝子治療に関する基盤研究

（主任）研究者 森下 竜一 大阪大学医学部遺伝子治療学

難治性循環器疾患、特に閉塞性動脈硬化症に対する遺伝子治療について検討した。肝細胞増殖因子HGF遺伝子を筋肉内へ導入することにより、血管新生とそれに伴う血流増加をラット下肢虚血モデルで見出した。

A、研究目的

難治性循環器疾患、特に本年度は閉塞性動脈硬化症モデルをラット腸骨動脈の摘出により作成し、ヒトHGF遺伝子の筋肉内投与を行い、血管新生及び血流改善効果を調べた。また、ヒト臨床研究のため、ベクターによらないプラスミド単独での遺伝子発現効率も検討した。

B、研究方法

閉塞性動脈硬化症モデルはラット腸骨動脈の摘出により作成し、ヒトHGF遺伝子の筋肉内投与を行い、血管新生及び血流改善効果を調べた。遺伝子導入法として、HVJ-リポソーム法に加え、直接プラスミドDNAのみの投与も行い、発現効率を検討した。更に、ラット心筋梗塞モデルを作成し、心筋への遺伝子導入も検討した。

C、研究結果

閉塞性動脈硬化症に対する血管新生療法の有効性は、HVJ-リポソーム法を用いてヒトHGF遺伝子のラット筋肉内への導入により有意な血管新生が組織学的に確認された。それに伴い、レーザー血流計を用いて血流増加も確認された。プラスミドDNAのみの遺伝子導入は、HVJ-リポソーム法を用いる場合に比べて、発現効率は10倍以上低かったが、血管新生誘導は確認されたことから、臨床試験に用いることは可能であると考えられた。また、閉塞性動脈硬化症患者の病変血管では正常血管に比べ、内因性の血管壁HGFの減少が確認された（文献1）。

一方、HGF遺伝子導入は、心筋梗塞モデルでも著明な血管新生を誘導し、血流増加ももたらすことが確認された。また、血管新生に必須な転写因子ets-1の活性亢進も確

認された。

D、考察

ヒトHGF遺伝子導入は骨格筋及び心筋内で血管新生をもたらし、治療的血管新生療法として重要であることが明らかになった。本研究で示された閉塞性動脈硬化症の遺伝子治療は、安全性が高く臨床応用に有用であると考えられる。特に、閉塞性動脈硬化症の患者病変で内因性HGFが低下していることより、補充療法としてHGF遺伝子導入は病態生理学的に妥当であると考えられる。

E、結論

ヒトHGF遺伝子導入は骨格筋及び心筋内で血管新生をもたらし、治療的血管新生療法として重要であることが明らかになった。

F、研究発表

1、論文発表

1) Morishita R et al. Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as "cytokine supplement therapy" Hypertension (in press)

2) Morishita R. Lessons from human arteries: how to design a gene therapy strategy for treatment of cardiovascular disease. Circulation Research 1998;82:1349-1351

3) Ueki T et al. Nature Medicine 1999;5:226-230

G、知的所有権の取得情況

1. 特許取得

森下竜一他。HGF遺伝子からなる医薬（特許平8-58467、国際出願番号PCT/JP96/02359）

# 難治性循環器疾患の遺伝子治療に関する基盤研究

大阪大学大学院医学系研究科 遺伝子治療学 助教授 森下竜一

## 研究のまとめ

### 1) 血管拡張術後再狭窄に対する遺伝子治療

申請者らは、ハーバード大学Dzauらと共同で転写因子を生体内で直接制御するおとり型核酸医薬（デコイ）を開発した（Proc Natl Acad Sci 1995;92:5855-5859）。Dzauらは、転写因子E2Fをターゲットにしたデコイを用いてグラフト後再狭窄の遺伝子治療の臨床試験を開始し、既に50例に及ぶ患者で実施した。その結果、フェーズ1スタディとして安全性が高いことを明らかにし、良好な成果を報告している。申請者らも、E2Fデコイの有用性をブタ冠動脈バルーンモデルで検討し、ハイドロゲルカテーテルと組み合わせることで、ベクターを用いなくてもバルーン後再狭窄抑制が可能であることを明らかにした。既に、Dzauと共同で日本の実状に応じた血管拡張術後再狭窄のE2Fデコイを用いた遺伝子治療のプロトコルを作成した。E2Fデコイは、ハーバード大学が既にフェーズ1で安全性を確認したものを使用し、カテーテルもタフツ大学が臨床試験に用いているものを使用することで合意に達しており、日本における再狭窄に対するE2Fデコイを用いた遺伝子治療の臨床研究に関して本年中の開始を予定している。

更に、新しい再狭窄の遺伝子治療ストラテジーとしてヒトHGF遺伝子導入による内皮再生療法の可能性について検討した。その結果、導入後2週間で有意な内皮再生が促進され（対照群40%、HGF群80%）、新生内膜が抑制されることを明らかにした。また、HGF遺伝子導入により内皮再生された血管はアセチルコリンに対して血管拡張能を示し、血管拡張能がNO産生亢進による事も明らかにした。HGFによる内皮再生療法は、リモデリングに注目した新しいストラテジーとして注目されており、今後臨床応用に向けて大型動物での実験を進める予定である。

### 2) 閉塞性動脈硬化症の遺伝子治療

末梢性動脈疾患Peripheral Vascular Diseaseは、社会生活の欧米化に伴い急速に増加しつつある難治性循環器疾患である。末梢性動脈疾患の代表的疾患である閉塞性動脈硬化症は年間10万人前後と推定されているが、未だその予防・治療は満足できるものとなっておらず、プロスタグランジン製剤も欧米における大規模研究ではQOLの改善効果のみで下肢切断に至る長期予後は改善しないことが明らかにされている。申請者らは、このような難治性末梢性動脈疾患治療のために、肝細胞増殖因子（HGF）に注目している。肝細胞の最も強力な増殖因子であるHGFは、肝細胞のみならず様々な細胞に増殖作用を持つことや各種臓器において再生作用を持つことが報告され、多様な生物活性を示すことが明らかになってきた。

申請者らは、HGFがアポリポプロテイン（a）や組織プラスミノゲンアクチベーターなどと同じクリングル構造を持つことより、心血管系におけるHGFの機能解明を行ってきた。現在までに、1）HGFが平滑筋細胞に作用を持たない内皮特異的増殖因子であること（*J Hypertens* 1996;14:1067-1072; *Hypertension* 1996;28:409-413）、2）HGF系が血管平滑筋、内皮及び心筋細胞に存在すること（*Biochem Biophys Res Commun* 199;215:483-488; *Biochem Biophys Res Commun* 1996;220:539-545; *Hypertension* 1997;30:1448-1454）、3）局所HGF系がアンジオテンシンIIやTGF- $\beta$ によって負に調節され、プロスタグランディンによって正に調節されていること（*Diabetes* 1997;46:138-142; *Diabetologia* 1997;40:1053-1061; *Hypertension* 1997;30:1448-1454; *Hypertension* 1998;32:444-451）、4）高血糖性内皮傷害に局所HGFの産生低下が関係すること（*Diabetes* 1997;46:138-142; *Diabetologia* 1997;40:1053-1061）、5）虚血により血管壁HGF産生が低下し、内皮細胞のアポトーシスを誘導すること、6）腎局所HGF系も存在しており、メサンジウム細胞より分泌されるHGFが糸球体内内皮細胞や上皮細胞の増殖制御に関わっていること（*Kidney Inter* 1998）、7）血清HGF濃度は、高血圧患者で増加しており、血圧と正の相関を示し、合併症の診断に利用可能であること（*Hypertension* 1996;28:409-413; *Biochem Biophys Res Commun*; 1998;242:238-243, *Journal of Hypertension* 1998;16:2019-2026）、8）閉塞性動脈硬化症患者で血管局所HGF産生低下と血清HGF濃度増加が認められ、PVDの重症度判定に血清HGF濃度測定が有用であること、などを報告してきた。更に、ヒトHGF遺伝子のラット筋肉内への導入により有意な血管新生を組織学的に確認した。それに伴い血流増加も確認された。このことは、閉塞性動脈硬化症に対するHGF遺伝子導入による血管新生療法の有効性を示している。また、閉塞性動脈硬化症患者の病変血管では正常血管に比べ、内因性の血管壁HGFの減少が確認されており、HGF導入は補充療法として重要である。申請者は、これらの結果を元にヒトHGF遺伝子による末梢性動脈疾患の遺伝子治療を大阪大学遺伝子治療審査委員会に申請した。

### 3) 心筋梗塞の遺伝子治療

同様な治療的血管新生療法の有効性は、心筋梗塞においても証明された。ラット心臓へのHVJ-liposome法によるHGF遺伝子導入により、対照群に比しHGF mRNAとヒトHGFの発現亢進を認めた。又、ヒトHGFと交叉しないラット特異的抗体を用いた測定でラットHGFの有意な産生増加も認めた。HGF導入部位でPCNA陽性内皮細胞の増加を認め、内皮細胞の増殖を確認した。導入部位で転写調節因子ets-1の染色を認めた。HGF導入群で微小血管及び中小血管の増加を認め、有意な血流増加を確認した。一方、HGF遺伝子導入による血管新生作用は、心筋梗塞モデルでも確認された。これらの結果は、HGFによる血管新生が心筋梗塞の治療として有効であることを示しており、今後遺伝子治療の臨床試験を検討している。

#### 4) 動脈硬化症の遺伝子治療

動脈硬化の独立した危険因子であるが、有効な治療法が未だない高リポタンパク質(a) (=Lp(a))血症の遺伝子治療に関して検討した。高Lp(a)血症の動脈硬化を促進するメカニズムは、Lp(a)を構成するアポリポタンパク質(a)がプラスミノーゲンと極めて相同性が高いことによる。従って、選択的にアポリポタンパク質(a)を抑制することが出来れば、高Lp(a)血症の治療が可能になる。我々は従来アンチセンス技術を用いた選択的な遺伝子発現抑制を報告してきたが、アポリポタンパク質(a)とプラスミノーゲンを選別して発現抑制を行うことは、アンチセンス技術では困難であると考えられた。その理由として、アンチセンスオリゴを作製する場合に最も有効であることの多い翻訳開始点であるATG部位がアポリポタンパク質(a)とプラスミノーゲンでは100%相同性があるため、配列では区別できないことがあげられる。そこで、両者の相同性の違う部位を探したところ、クリングル4で70-80%の相違を見出した。しかし、この部位をアンチセンスオリゴで抑制することは困難であるため、リボザイムを用いることを考えた。

アポリポタンパク質(a)に対するリボザイムを作成し、アポリポタンパク質(a)及びプラスミノーゲンの遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。リボザイムはDNAとRNAのキメラを作り、ヌクレアーゼ耐性のリボザイムオリゴを用いた。アポリポタンパク質(a)に対するリボザイムの投与により、プラスミノーゲン発現は変化なく、アポリポタンパク質(a)の発現・産生のみが抑制された。アポリポタンパク質(a)遺伝子の導入された培養肝細胞培地の血管平滑筋細胞への添加は増殖は刺激したが、リボザイムの導入肝細胞培地では有意に増殖は減少していた。又、動物実験としてマウスに生体でヒトアポリポタンパク質(a)遺伝子を導入し、リボザイムの作用を検討した。アポリポタンパク質(a)遺伝子の導入されたマウス肝臓においても、リボザイムの作用は有効であった。このようにアポリポタンパク質(a)に対するリボザイムがプラスミノーゲンに影響を与えることなく、選択的にアポリポタンパク質(a)のみを抑制することが示され、動脈硬化、特に高Lp(a)血症の遺伝子治療が示唆された。リボザイムは、新しい遺伝子治療として有用であると考えられ、現在アポリポタンパク質(a)のトランスジェニック動物を用いて更に検討を進めている。

本研究に関連した英文原著 (1998-1999年)

Yo Y, **Morishita R**, Yamamoto K, Tomita N, Kida I, Hayashi S, Moriguchi A, Kato S, Matsumoto K, Nakamura T, Higaki J, Ogihara T. Actions of Hepatocyte Growth Factor as a Local Modulator in the Kidney: Potential Role in Pathogenesis of Renal Disease. **Kidney International** 1998;53:50-58.

Matsushita H, **Morishita R**, Kida I, Aoki M, Hayashi S, Tomita N, Yamamoto K, Moriguchi A, Noda A, Kaneda Y, Higaki J, Ogihara T. Inhibition of growth of human vascular smooth muscle cells by over-expression of p21 gene through induction of apoptosis. **Hypertension** 1998;31:493-498.

Matsumoto T, Komori K, Yonemitsu Y, **Morishita R**, Sueishi K, Kaneda Y, Sugimachi K. Hemagglutinating virus of Japan-liposome mediated gene transfer of endothelial cell nitric oxide synthase inhibits intimal hyperplasia of canine vein grafts under conditions of poor runoff. **Journal of Vascular Surgery** 1998;27:125-144.

**Morishita R**, Gibbons GH, Horiuchi M, Kaneda Y, Ogihara T, Dzau VJ. Role of AP-1 complex in angiotensin II-mediated transforming growth factor- $\beta$  expression and growth of smooth muscle cells: using decoy approach against AP-1 binding site. **Biochemical Biophysics Research Communication** 1998;243:361-367.

Hirano T, Fujimoto J, Ueki T, Yamamoto H, Iwasaki T, **Morishita R**, Sawa Y, Kaneda Y, Takahashi H, Okamoto E. Persistent gene expression in rat liver in vivo by repetitive transfections using HVJ-liposome. **Gene Therapy** 1998;5:459-464.

Ono S, Date I, Onoda K, Shiota T, Ohmoto T, Ninomiya Y, Asari S, **Morishita R**. Decoy administration of NF $\kappa$ B into the subarachnoid space for cerebral angiopathy. **Human Gene Therapy** 1998;9:1003-1011.

Suzuki J, Isobe M, **Morishita R**; Aoki M, Yamazaki S, Kaneda Y, Sawa Y, Matsuda H, Ogihara T, Horie S, Okubo Y, Sekiguchi M. Antisense Cdk2 kinase oligodeoxynucleotide inhibits ICAM-1 expression in murine cardiac allograft arteriopathy. **Transplantation Proceeding** 1998;30:89-90.  
Tomita N, **Morishita R**, Tomita S, Yamamoto K, Aoki M, Matsushita H, Hayashi S, Higaki J, Ogihara T. Transcription factor decoy for NF $\kappa$ B inhibits TNF- $\alpha$ -induced IL-6 and ICAM-1 expression in endothelial cells. **Journal of Hypertension** 1998;16:993-1000.

Isobe M, Suzuki J, **Morishita R**, Aoki M, Amano J, Kaneda Y, Sawa Y, Matsuda H, Ogihara T, Horie S, Okubo Y, Sekiguchi M. Downregulation of endothelin-1 expression in allograft coronary arteries after gene therapy targeting cdk2 kinase. **Transplantation Proceedings** 1998;30:1007-1008

Bai HZ, **Morishita R**, Kida I, Yamakawa T, Zhang WD, Aoki M, Matsushita H, Noda A, Nagai R, Kaneda Y, Higaki J, Ogihara T, Sawa Y, Matsuda H. Inhibition of intimal hyperplasia after vein grafting by in vivo transfer of human senescent cell-derived inhibitor-1 gene. **Gene Therapy** 1998;5:761-769.

**Morishita R**, Yamada S, Higaki J, Tomita N, Kida I, Aoki M, Moriguchi A, Hayashi S, Sakurabayashi I, Kaneda Y, Ogihara T. Conditioned medium from HepG2 cells transfected with human apolipoprotein (a) gene stimulates growth of human vascular smooth muscle cells: effects of over-expression of human apolipoprotein (a) gene. **Hypertension** 1998;32:215-222.

**Morishita R**, Yamamoto K, Yamada S, Matsushita H, Tomita N, Sakurabayashi I, Kaneda Y, Moriguchi A, Higaki J, Ogihara T. Stimulatory effect of lipoprotein (a) on proliferation of human mesangial cells: role of lipoprotein (a) in renal disease. **Biochemical Biophysics Research Communication** 1998;249:313-320

Nakano N, **Morishita R**, Moriguchi A, Nakamura Y, Hayashi S, Aoki M, Kida I, Matsumoto K, Nakamura T, Higaki J, Ogihara T. Negative regulation of local hepatocyte growth factor (HGF) expression by angiotensin II and transforming growth factor- $\beta$  in blood vessels: potential role of HGF in cardiovascular disease. **Hypertension** 1998;32:444-451

Yo Y, **Morishita R**, Nakamura S, Tomita N, Yamamoto K, Moriguchi A, Matsumoto K, Nakamura T, Higaki J, Ogihara T. Potential role of hepatocyte growth factor in the maintenance of renal structure: anti-apoptotic action of HGF on epithelial cells. **Kidney International** 1998;54:1128-1138

**Morishita R**, Yamada S, Yamamoto K, Tomita N, Kida I, Sakurabayashi I, Kikuchi A, Kaneda Y, Lawn R, Higaki J, Ogihara T. Novel therapeutic strategy for atherosclerosis: ribozyme oligonucleotides against apolipoprotein (a) selectively inhibit apolipoprotein (a), but not plasminogen, gene expression. **Circulation** 1998;98:1898-1904

Sawa Y, Kaneda Y, Bai HZ, Suzuki K, Fujimoto J, **Morishita R**, Matsuda H. Efficient transfer of oligonucleotides and plasmid DNA into the whole heart through the coronary artery. **Gene Therapy** 1998;5:1472-1480.

Kawamura I, **Morishita R**, Tomita N, Elizabeth L, Aketa M, Tsujimoto S, Manda T, Tomoi M, Kida I, Higakai J, Kaneda Y, Shimomura K, Ogihara T. Intratumoral injection of oligonucleotides to the NF $\kappa$ B binding site inhibits cachexia in a mouse tumor model. **Gene Therapy** 1999;6:91-97

Ueki T, Kaneda Y, Tsutsui H, Nakanishi K, Sawa Y, **Morishita R**, Matsumoto K, Nakamura T, Takahashi H, Oakamoto E, Fujimoto J. Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats. **Nature Medicine** 1999;5:226-230

**Morishita R**, Nakamura S, Hayashi S, Taniyama Y, Moriguchi A, Nagano T, Taiji M, Noguchi H, Takeshita S, Matsumoto K, Nakamura T, Higaki J, Ogihara T. Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as "cytokine supplement therapy" **Hypertension** (in press)

Nakamura S, Moriguchi A, **Morishita R**, Yamada K, Nishii T, Tomita N, Oishi M, Kaneda Y, Higaki J, Ogihara T. Activation of the brain angiotensin system by in vivo human angiotensin converting enzyme gene transfer in rats. **Hypertension** (in press).

Aoki M, **Morishita R**, Matsushita H, Hayashi S, Nakagami H, Yamamoto K, Moriguchi A, Kaneda Y, Higaki J, Ogihara T. Inhibition of the p53 tumor suppressor gene resulted in growth of human aortic vascular smooth muscle cells (VSMC): potential role of p53 in regulation of VSMC growth. **Hypertension** (in press)

Matsumoto K, **Morishita R**, Moriguchi A, Tomita N, Yo Y, Nishii T, Matsumoto K, Nakamura T, Higaki J, Ogihara T. Prevention of renal damage by angiotensin II blockade, accompanied by increased renal hepatocyte growth factor in experimental hypertensive rats. **Hypertension** (in press)

英文総説 (1998-1999年)

**Morishita R**, Ogihara T. In vivo evaluation of in vitro hypothesis using "gain or loss" of function: functional analysis of renin-angiotensin system. **American Journal of Hypertension** 1998;11:507-513.

**Morishita R**, Nakamura S, Hayashi S, Aoki M, Matsushita H, Tomita N, Yamamoto K, Moriguchi A, Higaki J, Ogihara T. Contribution of a vascular modulator, hepatocyte growth factor (HGF), to the pathogenesis of cardiovascular disease. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis** 1998;4:129-134..

**Morishita R**, Higaki J, Tomita N, Ogihara T. Application of transcription factor "decoy" strategy as means of gene therapy and study of gene expression in cardiovascular disease. **Circulation Research** 1998;82:1023-1028

**Morishita R**. Lessons from human arteries: how to design a gene therapy strategy for treatment of cardiovascular disease. (Editorial) **Circulation Research** 1998;82:1349-1351

**Morishita R**, Nakagami H, Taniyama Y, Matsushita H, Yamamoto K, Tomita N, Moriguchi A, Matsumoto K, Higaki J, Ogihara T. Oligonucleotide-based gene therapy for cardiovascular disease. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine** 1998;36:529-534

**Morishita R**, Aoki M, Nakagami H, Taniyama Y, Yamamoto K, Matsushita H, Matsumoto K, Higaki J, Kaneda Y, Ogihara T. Gene therapy for myocardial infarction: a real medicine in next millenium ? **Journal of Heart Failure** (in press)

**Morishita R**, Aoki M, Nakamura S, Nakagami H, Taniyama Y, Yamamoto K, Moriguchi A, Higaki J, Ogihara T, Kaneda Y. Gene therapy for cardiovascular disease: is gene therapy a real medicine in next millennium? **Proceeding of 3rd Green Cross International Symposium** (in press).

英文著書 (1998-1999年)

**Morishita R**, Aoki M, Matsushita H, Kaneda Y, Higaki J, Ogihara T. Gene therapy for myocardial infarction. **The Ischemic Heart** edited by Mochizuki S, Takeda N, Nagano M, Dhalla NS. Kluwer Academic Publishers, Boston, 1998. 531-550.

**Morishita R**, Aoki M, Matsumoto H, Hayashi S, Nakamura S, Nakano N, Nishii T, Yamamoto K, Tomita N, Moriguchi A, Ogihara T. Functional analysis of tissue renin-angiotensin System using "gain and loss of function" approaches: in vivo test of in vitro hypothesis. in "Angiotensin II receptor blockade: physiological and clinical implications" edited by Dhalla NS, Zahradka P, Dixon IMC, Beamish RE. Kluwer Academic Publishers, Boston, 1997. (in press)

19980047

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、下記の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

**「研究成果の刊行に関する一覧表」**

**Inhibition of growth of human vascular smooth muscle cells by overexpression of p21 gene through induction of apoptosis.**

Matsushita H, Morishita R, Kida I, Aoki M, Hayashi S, Tomita N, Yamamoto K, Moriguchi A, Noda A, Kaneda Y, Higaki J, Ogihara T.

Hypertension. 1998 Jan;31(1 Pt 2):493-8.

**Role of AP-1 complex in angiotensin II-mediated transforming growth factor-beta expression and growth of smooth muscle cells: using decoy approach against AP-1 binding site.**

Morishita R, Gibbons GH, Horiuchi M, Kaneda Y, Ogihara T, Dzau VJ.

Biochem Biophys Res Commun. 1998 Feb 13;243(2):361-7.

**Inhibition of intimal hyperplasia after vein grafting by in vivo transfer of human senescent cell-derived inhibitor-1 gene.**

Bai H, Morishita R, Kida I, Yamakawa T, Zhang W, Aoki M, Matsushita H, Noda A, Nagai R, Kaneda Y, Higaki J, Ogihara T, Sawa Y, Matsuda H.

Gene Ther. 1998 Jun;5(6):761-9.

**Novel therapeutic strategy for atherosclerosis: ribozyme oligonucleotides against apolipoprotein(a) selectively inhibit apolipoprotein(a) but not plasminogen gene expression.**

Morishita R, Yamada S, Yamamoto K, Tomita N, Kida I, Sakurabayashi I, Kikuchi A, Kaneda Y, Lawn R, Higaki J, Ogihara T.

Circulation. 1998 Nov 3;98(18):1898-904.

**Intratumoral injection of oligonucleotides to the NF kappa B binding site inhibits cachexia in a mouse tumor model.**

Kawamura I, Morishita R, Tomita N, Lacey E, Aketa M, Tsujimoto S, Manda T, Tomoi M, Kida I, Higaki J, Kaneda Y, Shimomura K, Ogihara T.  
Gene Ther. 1999 Jan;6(1):91-7.

**Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats.**

Ueki T, Kaneda Y, Tsutsui H, Nakanishi K, Sawa Y, Morishita R, Matsumoto K, Nakamura T, Takahashi H, Okamoto E, Fujimoto J.  
Nat Med. 1999 Feb;5(2):226-30.

**Application of transcription factor "decoy" strategy as means of gene therapy and study of gene expression in cardiovascular disease.**

Morishita R, Higaki J, Tomita N, Ogihara T.  
Circ Res. 1998 Jun 1;82(10):1023-8.

**Lessons from human arteries: how to design a gene therapy strategy for treatment of cardiovascular disease.**

Morishita R.  
Circ Res. 1998 Jun 29;82(12):1349-51.

**Oligonucleotide-based gene therapy for cardiovascular disease.**

Morishita R, Nakagami H, Taniyama Y, Matsushita H, Yamamoto K, Tomita N, Moriguchi A, Matsumoto K, Higaki J, Ogihara T.  
Clin Chem Lab Med. 1998 Aug;36(8):529-34.