

遺伝子導入による血管新生の抑制療法に関する研究

分担研究者 上野 光 産業医科大学教授

研究要旨

癌細胞は自ら血管新生因子を産生し腫瘍内血管新生を促進して栄養補給路を確保しながら腫瘍として成長する。この腫瘍血管新生を抑制できれば効率的な癌の退縮が達成される可能性が高い。昨年度、可溶性 VEGF 受容体遺伝子を筋肉内に導入することで、遠隔地皮下に移植したヒト由来がん細胞による腫瘍の発育を抑制することに複数の腫瘍で成功した。しかし無効の腫瘍が存在した。VEGF とは異なる血管新生因子の抑制が必要であるとの仮説を今年度は検証した。可溶性 FGF 受容体を導入すると、可溶性 VEGF 受容体無効の腫瘍が退縮した。両者を併用するとある種の腫瘍では腫瘍発育抑制に相加効果が観察された。抗血管新生分子群の併用によりさらに広範な癌に有効な戦略に発展する可能性が示された。

A. 研究目的

癌の成育には血管新生を誘導し栄養補給路を確保する必要がある。この腫瘍血管新生を抑制できれば効率的な癌の退縮が達成される可能性が高い。また癌以外にも糖尿病性網膜症など病的血管新生が病態の主体である疾患も存在する。血管新生を制御することで新しい治療戦略となりうるか否かその方法の確立と検証を行うことを目的とする。

B. 研究方法

血管新生因子である VEGF (Vascular endothelial growth factor) 受容体および FGF (Fibroblast growth factor) I 型受容体 (FGF-1 および FGF-2 に結合する) の細胞外領域のみに免疫グロブリンの Fc 部分を融合させたキメラ体を作成しアデノウイルスベクターに組み込んだ

(AdVEGF-ExR, AdFGF-ExR)。ヒト肺癌および膵臓癌由来の 15 種の癌細胞を準備した。ヌードマウス皮下にがん細胞を移植し生着後、大腿筋肉内あるいは腹腔内に AdVEGF-ExR あるいは AdFGF-ExR、あるいはその両者を注入した。コントロールとして β -galactosidase 発現ウイルス(AdLacZ)あるいは生食水注射群を用いた。腫瘍成育を経時的に観察した。腫瘍は組織学的に検討した。腫瘍内血管新生は第 VIII 因子発現細胞を免疫染色で、あるいは腫瘍内ヘモグロビン量を測定し評価した。

C. 研究結果

1. がん細胞培養上清中および細胞分画中の VEGF および FGF-2 を ELISA 法で測定した。測定した 11 種すべて

の癌細胞で VEGF が産生・分泌されていた。6 種のがん細胞で FGF-2 の産生を認めたが、FGF-2 の大部分は細胞質中に留まっていた。

2. 可溶性 FGF 受容体は FGF-2 に結合し、その作用を特異的に抑制できることを *in vitro*, *in vivo* 両方の系で確認した (可溶性 VEGF 受容体については昨年度に確認済み)。

3. がん細胞のヌードマウス皮下での造腫瘍能を検定すると、AdVEGF-ExR で腫瘍発育が全く抑制されない 2 種の腫瘍 (H460 および A549) 発育は AdFGF-ExR 導入によりほぼ完全に抑制された。腫瘍組織内では血管新生の抑制と癌細胞のアポトーシス亢進が観察された。

4. 可溶性 VEGF 受容体と可溶性 FGF 受容体を併用すると、3 種の腫瘍で、それぞれの単独使用に比べて腫瘍発育は相加的に抑制された。

5. H157 細胞による腫瘍は可溶性 VEGF 受容体あるいは可溶性 FGF 受容体のどちらか一方の単独使用で、腫瘍形成が完全に抑制された。

6. 可溶性 VEGF 受容体と可溶性 FGF 受容体を併用すると、観察した 11 種のがん細胞による腫瘍のすべてで有意な発育抑制効果を認めた。

D. 考察

11 種の癌細胞すべてが VEGF を産生し、半数が FGF-2 を産生していた。腫瘍血管新生に必要な血管新生因子はがん細胞自身が産生しているらしい。FGF-2 は分泌シグナルを持たないことが知ら

れているが、本研究でも FGF-2 の大部分は細胞質中に存在した。がん細胞が FGF-2 を産生しているか否かは細胞質分画を測定する必要がある。可溶性 VEGF 受容体が無効な腫瘍では VEGF 以外の血管新生因子に依存しているのではないかとの仮説を検証したが、FGF に依存していることが判明した。ある種の腫瘍では VEGF と FGF の両者を使って腫瘍血管新生を行っていることも判明した。さらにある種の腫瘍では VEGF と FGF がそれぞれ代償できない必須の働きをしていることも観察された。

E. 結論

腫瘍に依って腫瘍内血管新生に用いる血管新生因子が異なること、また複数の血管新生因子に依存する腫瘍が存在することが明らかとなった。複数の抗腫瘍血管新生分子群を併用することによって、i) より広範な癌種で有効となる、ii) 単独使用よりも抑制効果が増強する場合があること、が判明した。今年度の成果はより実用的な戦略開発に貢献できたと考える。

F. 研究発表

1. 学会発表

上野 光

可溶性血管新生因子受容体を用いた
抗腫瘍血管新生療法

第 5 回 がん分子標的治療研究会総会

小川 聡、北野 正剛、上野 光

可溶性血管新生因子受容体遺伝子導入
による腫瘍退縮

(FGF と VEGF に対する各可溶型受容体の
併用による血管新生抑制療法)

第60回 日本癌学会総会

2. 論文発表

Ogawa T, Takayama K, Takakura N,
Kitano S, Ueno H. Anti-tumor
angiogenesis therapy using soluble
receptors: enhanced inhibition of
tumor growth when soluble FGF receptor
are used with soluble VEGF receptor.

Submitted.

上野 光

抗腫瘍血管新生療法

- 可溶型血管新生因子受容体を

用いた癌の遺伝子治療

医学と薬学(自然科学社)

45 巻 5 号 736-742, 2001

上野 光

抗腫瘍血管新生療法

- 可溶型血管新生因子受容体を用いた癌の

遺伝子治療

分子がん治療(先端医学社)

2 巻 2 号 125-130, 2001

細胞移植による血管新生療法に関する研究

（分担研究者） 松原弘明 関西医科大学 第二内科・心臓血管病センター助教授

研究要旨：骨髄単核球中には内皮前駆細胞が存在する。45 例の ASO 患者虚血下肢と 1 例の狭心症患者に骨髄単核球移植の筋肉内投与による血管新生治療を行った。45 人中 31 人で下肢の血圧が 1 月後には 10mmHg 以上上昇し、トレッドミル歩行距離は約 2.9 倍以上増加し、下肢の疼痛は 45 人中 39 人で消失した。胸痛は消失し EF は増加した。重大な副作用はなく、骨髄単核球細胞移植は安全な血行再建医療と考えられる。

A. 研究目的

骨髄単核球中には内皮前駆細胞(EPC)に分化可能な血管芽細胞が存在する。大動物実験より骨髄単核球の虚血臓器（下肢・心筋）への自家移植は高率に側副血管形成を誘導した。移植骨髄単核球は血管内皮増殖因子を豊富に分泌した。これら基礎データをもとに関西医科大学・久留米大・自治医大と共同で“自家骨髄単核球移植による末梢性血管疾患・虚血性心疾患への血管新生治療”を実施した。研究目的はこれら症例において、骨髄細胞移植の血管再生医療としての有効性・安全性を確認することである。

B. 研究方法

末梢性血管疾患の適用は内科的・外科的血行再建術の困難な安静時疼痛の存在する Fontaine 分類 III-IV 症例である。全身麻酔下に患者腸骨より骨髄液（約 400mL）を採取し、骨髄単核球細胞を 1%Hes (dextran)を用いて高率に回収した（87%回収率）。分離・濃縮された骨髄単核球細胞を虚血下肢腓腹筋内に筋肉内注射（ 1×10^8 細胞 x 40 箇所）を行なった。評価方法は 1) 経皮的組織酸素分圧 (TcO₂, mmHg)、

2) 皮膚温（サーモグラフィー）、3) Laser Doppler 血流計、4) Air plethymography、5) ABPI (ankle-brachial index)、6) 血管造影 (DSA)、7) 自覚症状を基準に解析した。

人権および利益の保護

説明文書にて発生する合併症・効能・不利益・利益を説明し、患者みずからの意志にて細胞移植医療を希望する場合のみ施行する。実施中に医療中断の意志が表明された際には即座に中止する。マスメディアからは可能な限り隔離し患者さん本人の意志を尊重し、臨床成績発表の際にも最大限に人権保護に努める。

C. 研究結果

2000 年 6 月より、2002 年 2 月 1 日までに 45 人の虚血下肢に対して自己骨髄細胞移植を実施した。対照には生理食塩水と末梢血単核球を用いた。全身麻酔下で自家骨髄液約 500CC を採取したのち骨髄単核球を分離し、約 10 億個の細胞を虚血肢の筋肉内 40 箇所に分割注入した。45 人中 31 人で下肢の血圧が 1 月後には 10mmHg 以上上昇し、トレッ

ドミル歩行距離は約 2.9 倍以上増加し、下肢の疼痛は 45 人中 39 人で消失した。虚血部潰瘍の治癒は 18 人中 11 人でみられた。腓腹筋注射部位の炎症・浮腫は認めず、血中の VEGF・FGF 濃度、単核球細胞数は変化しなかった。骨髓単核球細胞には骨髓間葉系・造血系幹細胞から分化する心筋幹細胞も含まれる。家畜ブタを用いて慢性虚血心筋を作製し、NOGA3 次元解析により冬眠虚血部位を同定しカテーテルを用いて細胞移植をおこなった。骨髓単核球移植群全例 (n=7) で心機能改善・虚血域の縮小がみられた。昨年 12 月 19 日に実施された難治性狭心症患者 (これまで CABG 2 回、PTCA 5 回、CCS class 3) への MIDCAB での左室側壁 hibernation 部位への骨髓単核球移植 (10⁸ 個) では、6 週間後には狭心痛の著明改善 (CCS class 3 から 1、ニトログリセリン 1 日 10 錠から 0 錠)、心筋虚血部の壁運動改善 (NOGA electromechanical mapping での hibernation (赤色: akinesis) から正常壁運動 (紫色) への改善、心筋シンチでのストレス負荷時の虚血改善、心機能改善 (EF 42% から 53%) が見られた。毎週施行した Holter ECG では心室性不整脈の出現、CPK-MB, Troponin の異常高値 (1 週間以内に正常化) など見られず、7 週間後退院した。

D. 考察

動物基礎実験での成績が十分に臨床症例に反映された。国際的には初めての臨床試験である。ASO・狭心症に対する骨髓単核球移植は血行再建術として安全で有効な血管再生医療と考えられる。Multicenter, randomized, double-blind 研究が今後必要である。

E. 結論

ASO で下肢疼痛・運動機能抑制だけでなく、切断を余儀なくされる症例は本邦には約 10 万人存在すると考えられる。これら患者さん方には有効で安全な血管再生治療と考えられる。

F. 研究発表

論文発表:

1) 正木浩哉、松原弘明、他 2 人。閉塞性動脈硬化症、日本臨床、第 59 巻・1 号・141-146

2) Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, Masaki H, Mori Y, Iba O, Tateishi E, Kosaki A, Shintani S, Murohara T, Imaizumi T, Iwasaka T. Implantation of Autologous Bone Marrow Cells into Ischemic Myocardium Enhances Collateral Perfusion and Regional Function via Side-Supply of Angioblasts, Angiogenic Ligands and Cytokines.

Circulation 2001;104: 1046-1052

3) Fujiyama S, Matsubara H, Mori Y, Masaki H, Tsutsumi Y, Shibasaki Y, Kitabayashi I, Uchiyama Y, Iba S, Iwasaka T. Angiotensin AT1 and AT2 Receptors Differentially Regulate Angiopoietin 2 Expression and VEGF Expression and Angiogenesis by Modulating Heparin Binding EGF-Mediated EGF Receptor Transactivation Circ Res, 2001;88:22-29

4) 松原弘明、正木浩哉、他 2 人。心血管系の再生医療-細胞移植による血管再生治療への臨床応用 - 内科、87 巻、6 号、1337-1342

> 学会発表: 2001 年 American Heart Association (アナハイム・米国)

Tateishi E, Shintani S, Murohara T, et al. Efficacy and safety of therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow cell implantation for critical limb ischemia.

G. 知的所有権の出願・取得状況

平成 12 年 12 月 4 日 特許出願「骨髓単核球細胞の分離、濃縮方法及び血管再生剤」

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Mitani H, Ishizawa H, Aizawa T, Ohno M, Usui M, Suzuki T, Amaki T, Mori I, Nakamura Y, Sato M, Nangaku M, Hirata Y, Nagai R	Angiotensin II downregulates renal expression of anti-aging gene, klotho, and klotho gene transfer ameliorates angiotensin II-induced renal damage.	Hypertension	in press		
Fukino K, Suzuki T, Saito Y, Shindo T, Amaki T, Kurabayashi M, Nagai R	Regulation of Angiogenesis by the Aging Suppressor Gene klotho	Biochem Biophys Res Commun	in press		
Sata M, Saiura A, Kunisata A, Okada S, Hirata Y, Tokuhisa T, Hirai H, Makuuchi M, Nagai R	Hematopoietic stem cells differentiate into vascular progenitor cells that contribute to atherosclerosis	Nature Med	in press		
Oyama Y, Akuzawa N, Nagai R, Kurabayashi M.	PPAR γ ligand inhibits osteopontin gene expression through interference with binding of nuclear factors to A/T-rich sequence in THP-1 cells.	Circ Res	90	348-355	2002
Maeno T, Tanaka T, Sando Y, Suga T, Maeno Y, Nakagawa J, Hosono T, Sato M, Akiyama H, Kishi S, Nagai R, Kurabayashi M.	Stimulation of vascular endothelial growth factor gene transcription by all trans retinoic acid through Sp1 and Sp3 sites in human bronchioloalveolar carcinoma cells.	Am J Respir Cell Mol Biol.	26	246-253	2002
Aizawa T, Ishizaka N, Usui S, Ohashi N, Ohno M, Nagai R.	Angiotensin II and catecholamines increase plasma levels of 8-epi-prostaglandin F(2 α) with different pressor dependencies in rats.	Hypertension	39	49-154	2002
Ishizaka N, Aizawa T, Ohno M, Usui Si S, Mori I, Tang SS, Ingelfinger JR, Kimura S, Nagai R.	Regulation and localization of HSP70 and HSP25 in the kidney of rats undergoing long-term administration of angiotensin II.	Hypertension	39	122-128	2002
Ishizaka N, Aizawa T, Yamazaki I, Usui S, Mori I, Kurokawa K, Tang SS, Ingelfinger JR, Ohno M, Nagai R.	Abnormal iron deposition in renal cells in the rat with chronic angiotensin II administration.	Lab Invest	82	87-96	2002
Sato M, Tanaka T, Maeno T, Sando Y, Suga T, Maeno Y, Sato H, Nagai R, Kurabayashi M.	Inducible expression of endothelial PAS domain protein-1 by hypoxia in human lung adenocarcinoma A549 cells. Role of Src family kinases-dependent pathway.	Am J Respir Cell Mol Biol	26	127-134	2002
Iwasaki T, Iwasaki T, Aihara Y, Kanda T, Oriuchi N, Endo K, Katoh H, Suzuki T, Nagai R	Immunoscintigraphy of aortic dissection with ^{99m} Tc-labeled murine anti-smooth muscle myosin monoclonal antibody in rats	J Nucl Med	42	130-137	2001
Saiura A, Sata M, Hirata Y, Nagai R, Makuuchi M	Circulating smooth muscle progenitor cells contribute to atherosclerosis.	Nature Med	7	382-383	2001
Ogata T, Nagai R, Kurabayashi M, Hoshino Y, Sekiguchi K, Kowase K, Akuzawa A, Ishikawa S, Takeyoshi I, Morishita Y	Inducible expression of basic transcription factor binding protein 2 plays a potential role in the development of the allograft vascular disease.	J Heart Lung Transplant	20	228	2001

Morita H, Kurihara H, Imai Y, Sugiyama T, Hamada C, Sakai E, Mori M, Nagai R	Lack of association between the platelet glycoprotein Ia C807T gene polymorphism and myocardial infarction in Japanese: An approach entailing melting curve analysis with specific fluorescent hybridization probes.	Thromb Haemost	85	226-230	2001
Nakajima A, Wada K, Miki H, Kubota N, Nakajima N, Terauchi Y, Ohnishi S, Saubermann LJ, Kadowaki T, Blumberg RS, Nagai R, Matsuhashi N	Endogenous PPAR γ mediates anti-inflammatory activity in murine ischemia-reperfusion injury.	Gastroenterology	120	460-469	2001
Sekiguchi K, Kurabayashi M, Oyama Y, Aihara Y, Tanaka T, Sakamoto H, Hoshino Y, Kanda T, Yokoyama T, Shimomura Y, Iijima H, Ohyama Y, Nagai R	Homeobox protein hex induces SMemb/Nonmuscle myosin heavy chain-B gene expression through the cAMP-responsive element.	Circ Res	88	52-28	2001
Kanai H, Tanaka T, Aihara Y, Takeda Si, Kawabata M, Miyazono K, Nagai R, Kurabayashi M	Transforming growth factor- β /Smads signaling induces transcription of the cell type-restricted ankyrin repeat protein CARP gene through CAGA motif in vascular smooth muscle cells	Circ Res	88	30-36	2001
Morita H, Kurihara H, Yoshida S, Saito Y, Shindo T, Oh-hashii Y, Kurihara Y, Yazaki Y, Nagai R	Diet-induced hyperhomocysteinemia exacerbates neointima formation in rat carotid arteries after balloon injury.	Circulation	103	133-139	2001
Nagai R, Suzuki T, Aizawa K, Miyamoto S, Amaki T, Kawai-Kowase K, Sekiguchi KI, Kurabayashi M.	Phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells: dissection of transcriptional regulatory mechanisms.	Ann N Y Acad Sci	947	56-66	2001
Yamagishi T, Saito Y, Nakamura T, Takeda S, Kanai H, Sumino H, Kuro-o M, Nabeshima Y, Kurabayashi M, Nagai R.	Troglitazone improves endothelial function and augments renal klotho mRNA expression in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats with multiple atherogenic risk factors.	Hypertens Res	24	705-9	2001
Mababe N, Kawaguchi H, Chikuda H, Miyaura C, Inada M, Nagai R, Nabeshima Y, Nakamura K, Sinclair A, Scheuermann R, Kuro-o M.	Connection between B lymphocyte and osteoclast differentiation pathways.	J Immunol	167	2625-31	2001

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	号	ページ	年
Ohara et al	Adenovirus-mediated ex vivo gene transfer of basic fibroblast growth factor for therapeutic angiogenesis.	Gene Therapy	8	827-845	2001
宮田哲郎ら	血管の再生医療	呼吸と循環	50	377-383	2002
宮田哲郎ら	Adenovirus vector を用いた bFGF 遺伝子の ex vivo 導入による血管新生治療	脈管学		印刷中	2002

書籍

なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Zou Y, Nagai R, Yamazaki T.	Urotensin II induces ertrophic responses in cultured cardiomyocytes from neonatal rats.	FEBS Lett	508	57-60	2001

書籍

なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Saiura, A., Sata, M., Hirata, Y., Nagai, R., Makuuchi, M.	Circulating smooth muscle progenitor cells contribute to atherosclerosis.	<i>Nature Medicine.</i>	7	382-383	2001
Sata, M., Luo, Z., Walsh, K.	Fas ligand overexpression on allograft endothelium inhibits inflammatory cell infiltration and transplant-associated intimal hyperplasia.	<i>J. Immunol.</i>	66:	6964-6971.	2001
Nishimatsu, H., Suzuki, E., Nagata, D., Moriyama, N., Satonaka, H., Walsh, K., Sata, M., Kangawa, K., Matsuo, H., Goto, A., Kitamura, T., Hirata, Y.	Adrenomedullin induces endothelium-dependent vasorelaxation via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent pathway in rat aorta.	<i>Circ. Res.</i>	89:	63-70.	2001
Sata, M., Nishimatsu, H., Suzuki, E., Sugiura, S., Yoshizumi, M., Ouchi, Y., Hirata, Y., Nagai, R.	Endothelial nitric oxide synthase is essential for the HMG-CoA reductase inhibitor cerivastatin to promote collateral growth in response to ischemia	<i>FASEB J.</i>	15:	2530-2532.	2001
Sata, M., Sugiura, S., Yoshizumi, M., Ouchi, Y., Hirata, Y., Nagai, R.	Acute and chronic smooth muscle cell apoptosis after mechanical vascular injury can occur independently of the Fas-death pathway.	<i>Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.</i>	21	1733-1737	2001
Saiura, A., Sata, M., Hirata, Y., Nagai, R., Makuuchi, M.	Tranilast inhibits transplant-associated coronary arteriosclerosis in a murine model of cardiac transplantation.	<i>Eur. J. Pharmacol.</i>	433	163-168	2001
Sata, M., Saiura, A., Kunisato, A., Tojo, A., Okada, S., Tokuhisa, T., Hirai, H., Makuuchi, M., Hirata, Y., Nagai, R.	Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis.	<i>Nature Medicine.</i>		in press.	2002
Nishimatsu, H., Hirata, Y., Shindo, T., Kurihara, H., Kakoki, M., Nagata, D., Hayakawa, H., Satonaka, H., Sata, M., Tojo, A., Suzuki, E., Kangawa, K., Matsuo, H., Kitamura, T., Nagai, R.	Role of endogenous adrenomedullin in the regulation of vascular tone and ischemic renal injury. studies on transgenic/knockout mice of adrenomedullin gene.	<i>Circ. Res.</i>		in press	2002
Sata, M., Hirata, Y., Nagai, R.	Role of Fas/FasL interaction in ischemia-induced collateral vessel growth.	<i>Hypertension Research</i>		in press.	2002

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Morishita R, Sakaki M, Yamamoto K, Iguchi S, Aoki M, Yamasaki K, Matsumoto K, Nakamura T, Lawn R, Ogihara T, Kaneda Y.	Impairment of collateral formation in Lp(a) transgenic mice: therapeutic angiogenesis induced by human hepatocyte growth factor gene.	Circulation (in press)			2001
Taniyama Y, Morishita R, Hiraoka K, Aoki M, Nakagami H, Yamasaki K, Matsumoto K, Nakamura T, Kaneda Y, Ogihara T.	Therapeutic angiogenesis induced by human hepatocyte growth factor gene in rat diabetic hind limb ischemia model: molecular mechanisms of delayed angiogenesis in diabetes.	Circulation	104	2344 1 2350	2001
Taniyama Y, Tachibana K, Hiraoka K, Aoki M, Yamamoto S, Matsumoto K, Nakamura T, Ogihara T, Kaneda Y, Morishita R.	Development of safe and efficient novel non-viral gene transfer using ultrasound: enhancement of transfection efficiency of naked plasmid DNA in skeletal muscle.	Gene Therapy (in press)			2001
Taniyama Y, Tachibana K, Hiraoka K, Namba T, Yamasaki K, Hashiya N, Aoki M, Ogihara T, Kaneda Y, Morishita R.	Local delivery of plasmid DNA into rat carotid artery using ultrasound.	Circulation (in press)			2001

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Sasaki K, Murohara T, Ikeda H, Sugaya T, Shimada T, Shintani S, Imaizumi T.	Evidence for the importance of angiotensin II type 1 receptor in ischemia-induced angiogenesis.	J. Clin. Invest	109(5)	603-611	2002
Murohara T	Therapeutic vasculogenesis using human cord blood-derived endothelial progenitors.	Trends Cardiovasc Med.	11(8)	303-307	2001
Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, Masaki H, Mori Y, Iba O, Tateishi E, Kosaki A, Shintani S, Murohara T, Imaizumi T, Iwasaka T.	Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines.	Circulation	104(9)	1046-1052	2001
Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, Sasaki Ki, Shimada T, Oike Y, Imaizumi T.	Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction.	Circulation	103(23)	2776-2779	2001
Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Sasaki K, Duan J, Imaizumi T.	Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation.	Circulation	103(6)	897-903	2001

別紙 2

発表者誌名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
上野 光	抗腫瘍血管新生療法 - 可溶性血管新生因子受容体を用いた癌の遺伝子治療	医学と薬学 (自然科学社)	45 巻 5 号	736-742	2001

別紙 3

雑誌

1) 正木浩哉、松原弘明、岩坂壽二。閉塞性動脈硬化症、日本臨床、第 59 巻・1 号・141-146

2) Kamihata H, ***Matsubara H***, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, Masaki H, Mori Y, Iba O, Tateishi E, Kosaki A, Shintani S, Murohara T, Imaizumi T, Iwasaka T. Implantation of Autologous Bone Marrow Cells into Ischemic Myocardium Enhances Collateral Perfusion and Regional Function via Side-Supply of Angioblasts, Angiogenic Ligands and Cytokines.

Circulation 2001;104: 1046-1052

3) Fujiyama S, ***Matsubara H***, Mori Y, Masaki H, Tsutsumi Y, Shibasaki Y, Kitabayashi I, Uchiyama Y, Iba S, Iwasaka T. Angiotensin AT1 and AT2 Receptors Differentially Regulate Angiopoietin 2 Expression and VEGF Expression and Angiogenesis by Modulating Heparin Binding EGF-Mediated EGF Receptor Transactivation ***Circ Res, 2001;88:22-29***

4) 松原弘明、正木浩哉、他 2 人。心血管系の再生医療-細胞移植による血管再生治療への臨床応用- 内科、87 巻、6 号、1337-1342