

示された。

F. 健康危険情報

本年度はヒトの細胞を用いた実験やヒトに対する移植実験は行っておらず、健康上問題となる点は存在しない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fukuda K Regeneration of cardiomyocytes from bone marrow stem cells and application to cell transplantation therapy. *Stem Cell Therapy for Autoimmune Disease*, pp39-48, 2004, edited by Richard K. Burt and Alberto Marmont. (Landes Bioscience, USA)
2. Shinsuke Yuasa, Keiichi Fukuda, Yuichi Tomita, Jun Fujita, Masaki Ieda, Satoko Tahara, Yuji Itabashi, Takashi Yagi, Haruko Kawaguchi, Yasuyo Hisaka, Satoshi Ogawa Cardiomyocytes undergo cells division following myocardial infarction is a spatially and temporally restricted event in rats. *Mol Cell Biochem*. 259:177-181, 2004
3. Yasuyo Hisaka, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda, Kensuke Kimura, Isao Shibuya, Haruko Kawaguchi, Toshikazu Nakamura, Hidezo Mori, Koji Kimura, Naoto Fukuyama, Kenichiro Kosai, Satoshi Ogawa. Powerful and controllable angiogenesis by using gene-modified cells expressing human hepatocyte growth factor and thymidine kinase. *J Am Coll Cardiol* 43(10): 1915-1922, 2004
4. Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, Kensuke Kimura, Yasuyo Hisaka, Haruko Kawaguchi, Kouji Shimoda, Eiko Takeshita, Hideyuki Okano, Yukiko Kurihara, Hiroki Kurihara, Junji Ishida, Akiyoshi Fukamizu, Linda Salamone, Howard J. Federoff, Satoshi Ogawa. Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression. *J Clin Invest* 113(6): 876-884, 2004
5. Eiichi Takahashi, Keiichi Fukuda, Shunichiro Miyoshi, Mitsushige Murata, Takahiro Kato, Makoto Ita, Tsutomu Tanabe, Satoshi Ogawa. LIF activates cardiac L-type Ca^{2+} channels via phosphorylation of serine 1829 in the rabbit Cav1.2 subunit. *Circ Res*. 94(9):1242-1248, 2004
6. Naoichiro Hattan, Haruko Kawaguchi, Kiyoshi Ando, Eriko Kuwabara, Jun Fujita, Mitsushige Murata, Makoto Suematsu, Hidezo Mori, Keiichi Fukuda. Purified cardiomyocytes from bone marrow mesenchymal stem cells produce stable intracardiac grafts in mice. *Cardiovasc Res* 65:334-344, 2005
7. Keiichi Fukuda. Regenerative medicine for cardiomyocyte. *Jap Med Ass J*. 47(4): 328-332, 2004
8. Kawada H, Fujita J, Matsuzaki Y, Tsuma M, Miyatake H, Muguruma Y, Itabashi Y, Ogawa S, Hotta T, Okano H, Ando K, Fukuda K. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood* 104(12):3581-3587, 2004
9. Tamamori-Adachi M, Hayashida K, Nobori K, Kawwuchi J, Omizu C, Kamura T, Fukuda K, Ogawa S, Nakayama K, Kitajima S: Skp2 promotes cell proliferation of rat neonatal cardiomyocytes induced by nuclear expression of cyclin D1 and cdk4: Evidence for impaired degradation by skp2-dependent pathway. *J Biol Chem* 279(48):50429-36, 2004
10. Yuji Itabashi, Shunichiro Miyoshi, Kojiro Tanimoto, Shinsuke Yuasa, Jun Fujita, Haruko Kawaguchi, Tatsuya

Shimizu, Teruo Okano, Keiichi Fukuda, Satoshi Ogawa. A novel method for manufacturing cardiac cell-sheets using fibrin-polymer-coated dishes and its application for electrophysiological studies by optical mapping. *Artifi organs*. 29(2):95-103, 2005

11. Kentaro Hayashida, Jun Fujita, Yoshiko Miyake, Hiroshi Kawada, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Keisuke Matsumura, Yuji Itabashi, Kiyoshi Ando, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda. Bone marrow derived cells contribute to pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension. *CHEST (in press)* 2005
 12. Fukuda K. Current status of myocardial regeneration and cell transplantation. *Future Cardiology (in press)* 2005
 13. 福田恵一。「再生医療」先端医療シリーズ 28. 心臓病 心臓病の最新医療。5-9. 永井良三他編集。先端医療技術研究所。2004年。
 14. 福田恵一。『心筋幹細胞』予防医学事典。松島綱治、酒井敏行、石川昌、稲寺秀邦編。朝倉書店。2005年 (in press)。
 15. 林田健太郎、福田恵一。『循環器疾患における再生療法：心筋細胞の再生』*The Circulation Frontier* 2004年8巻1号18-25。
 16. 真鍋知宏、福田恵一。外科領域における再生医療の現況と展望：6.心筋細胞の新生、再生医療の現況と展望。日本外科学会雑誌。105巻8号, 454-458, 2004年。
 17. 藤田淳、福田恵一。動き出す心筋創生：骨髄細胞からの心筋再生。分子心血管病。5巻3号, 233-238, 2004年。
 18. 川口治子、福田恵一。再生医療による心臓病治療の最前線—基礎と臨床—：心筋の細胞治療。Cardiovascular Med-Surg. 6号3巻, 327-334, 2004年。
 19. 福田恵一。骨髄幹細胞を用いた筋組織再生：心筋細胞の再生。Molecular Medicine 41巻3号, 344-349, 2004年。
 20. 福田恵一。骨髄幹細胞由来の再生心筋細胞の特徴と機能解析。Jap J Electrocardiology supplement3 24, S3-3-14, 2004年。
 21. 福田恵一。心筋再生と細胞移植の現状。循環器科。56巻4号, 385-392, 2005年。
 22. 福田恵一。Melvin L. Marcus Young Investigator Awards in Cardiovascular Disease. AHA ハイライト 2004。2005年(in press)。
 23. 福田恵一。G-CSFによる骨髄筋前駆細胞の動員。Medical Science Digest 31巻2号, 38-40, 2005年。
 24. 下地顕一郎、福田恵一。心筋の再生。分子リウマチ。1巻4号, 313-317, 2004年。
 25. 板橋裕史、福田恵一。間葉系幹細胞を用いた心筋再生。血液フロンティア。15巻2号, 237-242, 2005年。
- ##### 2. 学会発表
1. Keiichi Fukuda. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. Myocardial Ischemia Symposium. "Cardiac Regeneration" Korea University, Seoul, Korea. 2004. 10. 29 (招聘講演)
 2. Keiichi Fukuda. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. The 4th International Mesenchymal Stem Cell Meeting. New Orleans, USA. 2004. 10. 15 (招聘講演)
 3. Keiichi Fukuda. Lesson from GFP-transgenic mouse: What is the origin for regenerated cardiomyocytes: What is the origin for regenerated cardiomyocytes. The 9th International Congress of Cardiothoracic and Vascular

- Anesthesia. 2004.9.9 Hotel Nikko Tokyo, Japan. (招聘講演)
4. Keiichi Fukuda. Lesson from GFP-transgenic mouse: What is the origin for regenerated cardiomyocytes: What is the origin for regenerated cardiomyocytes. The 18th World Congress for International Society for Heart Research. 2004.8.8 Brisbane, Australia. (招聘講演)
 5. Keiichi Fukuda. Lesson from GFP-transgenic mouse: What is the origin for regenerated cardiomyocytes. International Symposium for Heart Research in Europe. 2004.6.7 Dresden, Germany. (招聘講演)
 6. Hisayo Fujita, Sayu Omori, Mariko Hida, Keiichi Fukuda, Michio Nagata, Midaori Awazu. Cyclic Stretch Induces Apoptosis via ERK and p38 in a Ureteric Bud Cell Line. American Society of Nephrology 37th Annual Meeting. 2004. 10. 27-11.1, Missouri, USA
 7. Masaki Ieda, Yasuyo Hisaka, Jun Fujita, Keiichi Fukuda. Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression. Keystone symposia. 2004. 3. 8-12, Colorado, USA
 8. Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Mitsuyo Tsuma, Kiyoshi Ando, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Yuji Itabashi, Takashi Yagi, Kentaro Hayashida, Johbu Itoh, Tomomitsu Hotta, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda. G-CSF improves post-infarction heart failure by mobilizing bone marrow stem cells, but GM-CSF increases the mortality by deteriorating heart function in mice. Keystone conference molecular cardiovascular disease 2004. 3. 8-12, Colorado, USA
 9. Kensuke Kimura, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda, Haruko Kawaguchi, Kazuto Yamazaki, Satoshi Ogawa. Chamber specific augmentation of endothelin-1 by pulmonary hypertension induces overexpression of NGF and right ventricular hyperinnervation in vivo American Heart Association. 76th Scientific Meeting. 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
 10. Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Kentaro Kinjo, Yumi Matsuzaki, Yuji Itabashi, Masatoyo Yoshioka, Shinsuke Yuasa, Kentaro Hayashida, Tomohiro Manabe, Keisuke Matsumura, Haruko Kawaguchi, Jin Endo, Masaki Ieda, Yasuyo Hisaka, Takashi Yagi, Hideaki Kanazawa, Mitsugu Yata, Kenichiro Shimoji, Mitsuyo Tsuma, Hiroko Miyatake, Yukari Muguruma, Hideyuki Okano, Tomomitsu Hotta, Kiyoshi Ando, Keiichi Fukuda. The origin of bone marrow-derived cardiomyocytes is nonhematopoietic: Possible contribution of mesenchymal stem cells. American Heart Association. 76th Scientific Meeting. 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
 11. Yuji Itabashi, Shunichiro Miyoshi, Haruko Kawaguchi, Yasuyo Hisaka, Jun Fujita, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Satoru Miyatake, Takashi Yagi, Kentaro Hayashida, Keisuke Matsumura, Yuko Togane, Hideaki Kanki, Masaki Ieda, Mitsushige Murata, Tomohiro Manabe, Akira Furuta, Kojiro Tanimoto, Keiichi Fukuda. A novel and simple method for manufacturing a myocardial cell sheet using polymerized fibrin-coated dishes. American Heart Association. 76th Scientific Meeting. 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
 12. Kentaro Hayashida, Jun Fujita, Yoshiko Miyake, Hiroshi Kawada, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Keisuke Matsumura, Yuji Itabashi, Kiyoshi Ando, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda. Bone marrow-derived cell contribute to pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension. American Heart Association. 平成 16 年 9 月 15 日
 - 76th Scientific Meeting. 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
 13. 吉岡正豊, 福田恵一, 岡田保典, 潮見隆之, 開祐司, 宿南知沙, 家田真樹, 田原聡子, 服部文幸, 藤田淳, 真鍋智弘, 板橋祐司, 八木崇, 湯浅慎介, 木下正嘉, 林田健太郎, 松村圭祐, 川口治子, 久下康代, 小川聡: 血管新生抑制因子 chondromodulin-1 の胎仔・成獣心臓における発現. 第 68 回日本循環器学会学術集会、2004 年 3 月、東京フォーラム
 14. Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, Kensuke Kimura, Yasuyo Hisaka, Haruko Kawaguchi, Yukiko Kurihara, Hiroki Kurihara, Satoshi Ogawa. Endothelin-1 disruption decreases cardiac sympathetic innervation by downregulation of NGF. The 67th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Hakata, Japan 第 68 回日本循環器学会学術集会、2004 年 3 月 27-29 日、東京フォーラム
 15. Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Yumi Matsuzaki, Yuji Itabashi, Shinsuke Yuasa, Tomohiro Manabe, Takashi Yagi, Masaki Ieda, Kentaro Hayashida, Masatoyo Yoshioka, Keisuke Matsumura, Yasuyo Hisaka, Mitsuyo Tsuma, Tomomitsu Hotta, Hideyuki Okano, Kiyoshi Ando, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda. Bone marrow-derived regenerated cardiomyocytes after myocardial infarction were not originated from hematopoietic stem cells 第 68 回日本循環器学会学術集会、2004 年 3 月 27-29 日、東京フォーラム
 16. Yuji Itabashi, Shunichiro Miyoshi, Haruko Kawaguchi, Shinsuke Yuasa, Jun Fujita, Kojiro Tanimoto, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, Keiichi Fukuda, Satoshi Ogawa. Novel technique for fabricating myocardial cell sheet using polymerized fibrin-coated dishes. 第 68 回日本循環器学会学術集会、2004 年 3 月 29 日、東京フォーラム
 17. Miyatake Satoru, Kawaguchi Haruko, Watanabe Kikuko, Ohmiya Yoshihiro, Hori Shingo, Ieda Masaki, Fujita Jun, Manabe Tomohiro, Yuasa Shinsuke, Hisaka Yasuyo, Fukuda Keiichi. A Novel Prostaglandin E Synthase, mPGES-2, is Involved in Pressure Overload-induced Cardiac Hypertrophy in Rats. 第 68 回日本循環器学会学術集会、2004 年 3 月 29 日、東京フォーラム
 18. Yuji Itabashi, S Miyoshi, T Shimizu, S Yuasa, J Fujita, K Tanimoto, A Furuta, T Okano, H Mitamura, K Fukuda, S Ogawa. Direct demonstration of the electrical uncoupling of cardiac- and skeletal- myocyte cell sheets by optical mapping 第 68 回日本循環器学会学術集会、2004 年 3 月、東京フォーラム
 19. Yasuyo Hisaka, Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Masaki Ieda, Takashi Yagi, Haruko Kawaguchi, Kiyoshi Ando, Keiichi Fukuda. G-CSF and HGF: Combination of vasculogenesis and angiogenesis synergistically improves murine hind limb ischemia 第 68 回日本循環器学会学術集会、2004 年 3 月、東京フォーラム
- H. 研究成果による特許権等の知的財産権の取得状況
1. 「細胞シートを作製するための支持体をコーティングするための組成物、細胞シート作製用支持体及び細胞シートの製造方法」国内 出願中 (特願 2003-328340、平成 15 年 9 月 19 日) (PCT 国際出願、平成 16 年 3 月 25 日、PCT・JP2004/004161)
 2. 「多能性幹細胞の増殖方法」国内出願中 (特願 2004-1043428) 平成 16 年 3 月 23 日
 3. 「心筋細胞濃縮方法」国内出願中

分担研究報告書

組織工学による血管増生心筋組織の構築ならびにその移植による冠血管床の再生：

血管内皮前駆細胞用いた細胞シートの作製

分担研究者 浅原 孝之 東海大学医学部再生医療科学 教授

研究要旨 虚血性心疾患患者を対象とした血管・心筋再生療法において、虚血部位に機能的な心筋組織を再生するためにシート状の血管又は心筋細胞を重層化した三次元組織再構築により豊富な血管床を再構築する必要がある。本研究において、温度感受性培養皿を用いて自己末梢血由来血管内皮前駆細胞 (EPC) シートを開発した。

A. 研究目的

虚血性心疾患患者を対象とした心・血管再生療法の三次元組織構築において自己末梢血由来血管内皮前駆細胞(EPC)細胞シートの開発を目的とした。

B. 研究方法

1) 温度感受性培養皿；温度応答性高分子ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)(PIPAAm)を電子線にて培養皿表面へおよそ30nmの厚さで共有結合させた温度応答性培養皿を作成した。(32℃を境とした親水、疎水の変化により細胞の接着、脱着の制御が可能であり、密に細胞を培養した場合には、細胞間接着が維持されるためシート状の細胞の回収が可能である。

2) ヒト末梢血由来EPCシートの作成：①温度応答性培養皿において、100%FBS及び100%ヒト血漿を37℃、24時間コーティングした。②フィブロネクチンコート初代培養用プライマリア 6 well培養皿にヒト末梢血由来単離単核球(1x10⁷個/皿)を播種し1週間培養した。③100%FBS又は100%ヒト血漿にて一昼夜コーティングした温度応答性培養皿上に、EDTA添加PBSにて回収した接着細胞(5x10⁵個/皿)を播種した。

3) EPCシートの評価；アセチルLDL-DiIの取り込み及びUEA-1 lectin染色による内皮系細胞：②のシートの形態を示した細胞のAc-LDLの取り込みとUEA-1 lectin染色を観察した。

(倫理面への配慮)

東海大学における「医の倫理委員会」の承認

を得た。

C. 研究結果

1) ヒト末梢血由来単核球からのシートの作成：ヒト末梢血由来単離単核球を、温度応答性培養皿上に 1×10^7 個ずつ播種し1週間培養した。培養後、どちらのコーティングディッシュも接着している細胞は少なく、シートの作成は困難であった。

2) ヒト末梢血由来EPCからのシートの作成：培養EPCの温度感受性培養皿への播種直後から細胞の伸展、分化が認められ、特にヒト血漿コーティングにおいては紡錘形のEPCの間を分化したEPCが取り囲み、ディッシュ上に細胞が一面に接着した。EPCが接着したディッシュを 20°C の CO_2 インキュベーター内に1時間放置後、EPCは細胞-細胞間接着を保持した状態でディッシュから剥離した。境界不明瞭に伸展した、分化した細胞の間にアセチルLDL-Diiの取り込み及びFITC標識UEA-I lectinに染色されたEPC細胞シートが確認できた。

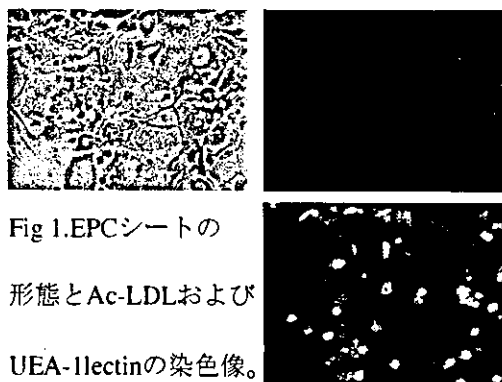


Fig 1.EPCシートの
形態とAc-LDLおよび
UEA-Ilectinの染色像。

D. 考察および結論

EPC細胞移植による重症下肢虚血患者及び心

筋梗塞患者への治療応用において、従来行われている単離した細胞の直接注入に関しては、移植位置の制御が困難であること、流出・壊死により細胞が損失することなどの新たな課題が生じている。今回、EPCをシート状にすることにより、より少ない細胞数で限局した部分に血管を誘導できる可能性を示した。EPCの供給源を検討することにより、今後シートの機能強化が可能と示唆される。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

論文発表

1. Iwami Y, Masuda H, Asahara T. Endothelial progenitor cells: past, state of the art, and future. *J Cell Mol Med.* 2004;8(4):488-97.
2. M Ii, T Asahara, D.W. Losordo et al. Endothelial progenitor cells are rapidly recruited to myocardium and mediate protective effect of ischemic preconditioning via "imported" nitric oxide synthase activity. *Circ.* 2004 (in press).
3. Kusano KF, T Asahara, D.W. Losordo et al. Sonic Hedgehog Induces Arteriogenesis in Diabetic Vasa Nervorum and Restores Function in Diabetic Neuropathy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24(11):2102-2107.
4. Masuda H, T Asahara. Endothelial progenitor cells for neovascularization in tissue regeneration. *Cardiovasc Res.* 2003;58(2):390-398.
5. Yamaguchi J, Masuda H, T Asahara et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation.* 2003;107(9):1322-1328.

学会発表

1. Regeneration of Heart Muscle by Stem Cell and Gene Therapy "Gene Manipulation for the

Enhancement of Stem Cell Therapy”

2. Franqui Symposium Brussels “Link between angiogenesis and neurogenesis: implication for development, disease and treatment.”
3. 30th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, Barcelona, Spain “Regenerative therapy with stem cells”
4. 第3回日本再生医療学会総会 “成体多能性幹細胞の展開”
5. 第68回日本循環器学会総会・学術集会 “Angiogenesis and Regeneration Medicine in Cardiovascular Medicine”
6. 第104回日本外科学会定期学術集会 “幹細胞生物学の血管医学への応用”
7. Cardiovascular Cell and Gene Therapy Conference II, MA “Endothelial progenitor cells for vascular medicine”
8. Angioplasty Summit 2004, Korea “The Therapeutic Potential of Stimulated Endothelial Progenitor”
9. Vascular Biology Meeting, Germany “Stem cells growth factors and angiogenesis future treatment strategies”
10. XIIIth International Vascular Biology Meeting, Toronto “Vascular stem cell/cell transdifferentiation”
11. 日本炎症・再生医学会 “血管再生治療の現状”
12. XVIII World Congress International Society for Heart Research, Brisbane “Stem cell biology for vascular regeneration”
13. Twelfth pulmonary circulation conference, Colorado “Circulating Endothelial Cells in Vascular Repair”
14. Basic Concepts and Innovative Strategies in Heart Disease, Capri “Endothelial progenitor cell biology and therapeutic regeneration”
15. Ernst Shering Foundation +Riken Symposium, Kobe “Stem cell biology for vascular regeneration”

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

組織工学による血管増生心筋組織の構築ならびにその移植による冠血管床の再生：

心筋—内皮共培養細胞シートによる血管増生

分担研究者 清水 達也 東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 講師

研究要旨 重症心不全に対する新たな治療法として細胞から組織を再構築し移植する研究が始まっている。我々はシート状の心筋細胞を積層化することで3次元の心筋組織を再構築する独自の研究を展開してきた。しかしながら再生組織内において物質拡散による酸素・栄養の供給および老廃物の除去には限界があり再生可能な組織の厚さが制限される。そこでこの限界を克服するため再生組織内に十分な血管網を増生する必要がある。本研究では血管再生の細胞源となる内皮細胞を心筋細胞と共培養した細胞シートを重層化することで *in vitro* および *in vivo* において十分な血管網を伴った心筋組織が再生可能であることを示した。

A. 研究目的

これまでに温度降下処理のみで培養した細胞をシート状に回収できる温度応答性培養皿を用い心筋細胞シートを重層化することで同期して拍動する心筋組織の構築には成功している。しかしながら、虚血による厚みの限界が組織工学共通の新たな課題となっており、再生組織内にいかに血管網を組み入れるかが重要となってきている。そこで本研究では虚血の限界を克服するひとつの手段として内皮細胞と心筋細胞を共培養した細胞シートを用いることで血管網を伴った心筋組織が再生可能かどうかを検討した。

B. 研究方法

新生仔ラット心室から単離した細胞を自動磁気細胞分離装置を用い心筋細胞 (CD31陰性) と内皮細胞 (CD31陽性) に分画し、それぞれ温度応答性培養皿上で単独および共培養した。各細胞シートでの内皮細胞の挙動を蛍光染色にて確認した。次に温度降下処理により回収した共培養細胞シートを積層化し3次元培養を行った後、内皮細胞の3次元的な構造を共焦点顕微鏡を用いて観察した。さらにGFP陽性ラットから採取した細胞を用いて重層化共培養細胞シートを作成しヌードラット皮下組織

に移植、*in vivo*での血管網再生の有無を解析した。実験動物に関しては苦痛を伴わないよう正しく取り扱い、適切な麻酔を行って研究を行った。

C. 研究結果

心臓から採取した内皮細胞分画を温度応答性培養皿に培養したところ通常の内皮細胞と同様に敷石状の単層の内皮細胞が観察された。次に、心筋細胞と内皮細胞の分画を混和して共培養した場合は内皮細胞が円柱状に伸展・増殖するとともに網目構造を呈し、内皮細胞単独の場合と全く異なる挙動を示した。また共培養細胞シート単層の場合は内皮細胞が網目状になるもののその管状化は散見されるのみであった。一方、共培養細胞シートを積層化して3次元培養を行ったところ組織内において内皮細胞がより多く管状化していることが明らかとなった。さらに重層化した GFP 陽性共培養細胞シートをヌードラットに移植して1週間後の組織像を観察したところ再生心筋組織内にはグラフト由来 (GFP 陽性) の毛細血管網が十分に再構築されており、一部のグラフト由来の血管が宿主組織内にも伸展し宿主の血管と接合していることが示された。

D. 考察

今回の研究において心筋細胞と内皮細胞を共培養しさらにそれを3次元化することにより *in vitro*において生体と類似の血管網を再生組

織内に再構築することを可能とした。これは *in vitro*において共培養細胞シート重層化の技術を用い①血管のもとになる細胞②心筋細胞から分泌されると考えられる血管増殖因子などのサイトカイン③3次元的な培養環境を整えることにより初めて実現したものと考えられる。また再生組織に関しては移植後宿主からの血管新生を期待するのが一般的であり、増殖因子やその遺伝子導入も試みられているが、今回グラフト由来の内皮細胞が移植後の再生組織内の血管網をすべて再構築していたことは今後の組織工学における組織内血管増生にむけて *in vitro*であらかじめ血管網を再構築しておくという新たなアプローチの有用性を示すものである。

E. 結論

血管内皮細胞との共培養細胞シートを用いた組織再生の技術は虚血に伴う再生組織厚の限界を克服する可能性があり心筋組織のみならず他臓器も含めた今後の再生医療に大きく貢献するものと考ええる。

研究協力者

関根秀一 (東京女子医科大学)

関谷佐智子 (東京女子医科大学)

磯井由紀 (東京女子医科大学)

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

論文発表

1. 清水達也, 岡野光夫. 細胞シート工学を利用した組織再構築 Bio Clinica 19(10), 74-78(2004)
2. 清水達也, 岡野光夫. 血管再生医学Overview. 血管医学 5(6);535-536(2004)
3. 清水達也. 組織工学における血管新生. 血管医学 5(6);569-575(2004)
4. Shimizu T, Sekine H, Isoi Y, Yamato M, Kikuchi A, Okano T, Cell sheet technology for myocardial tissue engineering. Cardiovascular Regeneration Therapies Using Tissue Engineering Approaches, Edited by H. Mori and H. Matsuda 45-52(2004).
4. 第4回埼玉西部地区HCN研究会 特別講演 清水達也. 重症心不全に対する再生医療 2004. 6. 16 所沢
5. 第16回小児腎臓病漢方研究会 指定講演清水達也. 細胞シート工学による組織再生 2004. 7. 1 熊本
6. 第7回日本組織工学会 シンポジウム4「循環器」清水達也. Myocardial Tissue Engineeringの現状と未来 2004. 7. 2 東京
7. XVIII World Congress International Society for Heart Research Shimizu T, Okano T, Myocardial Tissue Reconstruction by Cell Sheet Techonology 2004. 8. 7-10 Brisbane
8. ESC Congress 2004: Symposium Cardiac Tissue Engineering In Heart Failure, Ready for Prime Time? Shimizu T. Pulsatile tissue grafts: getting rid of old scaffolds 2004. 8. 28-9. 1 Munich
9. 第7回移植遺伝子工学研究会 シンポジウム“臓器工学におけるトランスレーショナル・リサーチ” 清水達也. 心筋組織再生の現状と未 2004. 9. 26 岡山
10. 第8回日本心不全学会学術集会 シンポジウム Shimizu T. Neovascularization in Myocardial Tissue Engineering 2004. 10. 2 岐阜
11. 第42回日本人工臓器学会大会 シンポジウム 清水達也. 人工材料を用いた置換型臓器開発と細胞を用いた再生型臓器開発の連携と融合 2004. 10. 6 東京

学会発表

1. 第4回Cardiovascular Frontier conference 特別講演 清水達也. 細胞シート工学による組織再構築. 2004. 4. 10 東京
2. 7th World Biomaterials Congress. Shimizu T, Isoi Y, Sekine H, Yamato M, Kikuchi A, Okano T. Bioengineered vascularized myocardial tissue by multi-step transplantation of layered cell sheets 2004. 5. 17-21 Sydney
3. Regenerate 2004 Tissue Engineering the Human Body Shimizu T. Myocardial Tissue Reconstruction by Cell Sheet Engineering. 2004. 6. 9-12 Seattle

12. 国立身体障害者リハビリテーションセンター創立25周年記念 シンポジウム 清水達也. 細胞シート工学による組織再構築 2004. 11. 13 東京
13. International Society for Heart Research (ISHR) The 21st Annual Meeting of the Japanese Section Shimizu T, Okano T. Myocardial tissue regeneration by cell sheet technology 2004. 11. 23-25 山梨

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
N.Nagaya, N.Fukuyama, Y.Tabata, H.Mori	Potential of Regenerative Therapy by Non-Viral Vector, Gelatin Hydrogel, 他 19 編	H Mori, H Matsuda	Cardiovascular Regeneration Therapies Using Tissue Engineering Approaches	Springer	東京	2005	1-238
Keiichi Fukuda	Regeneration of cardiomyocytes from bone marrow stem cells and application to cell transplantation therapy.	edited by Richard K. Burdett and Alberto Marmont	Stem Cell Therapy for Autoimmune Diseases	Landes Bioscience	USA	2004	39-48
福田恵一	再生医学による心臓病治療	永井良三 他	先端医療シリーズ28 心臓病 心臓病の最新医療	先端医療技術研究所	東京	2004	5-9
福田恵一	心筋幹細胞	松島綱治、 酒井敏行、 石川昌、 稲寺秀邦	予防医学事典	朝倉書店	東京	2005年	in press

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
E.Sato, Y.Hayasi, R.Germer, K.Murakami, Y.Kooriyama, E.Tanaka, H.Mori, et al.	Weakly ionized plasma flash x-ray generator and its distinctive characteristics	SPIE	5196	383-392	2004
E.Sato, Y.Hayasi, H.Mori, T.Kawai, T.Ichimaru, et al.	Quasi-monochromatic polycapillary imaging utilizing a computed radiography system	SPIE	5196	412-420	2004

N.Nagaya, S.Kyotani, M.Uematsu, K.Ueno, H.Oya,---, <u>H.Mori</u> , et al	Effects of adrenomedullin inhalation on hemodynamics and exercise capacity in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension	Circulation	109	351-356	2004
N.Tokunaga, N.Nagaya, M.Shirai, E.Tanaka, H.Ishibashi-Ueda, M.Harada-Shiba, --- -- , <u>H.Mori</u>	Adrenomedullin gene transfer induces therapeutic angiogenesis in a rabbit model of chronic hind limb ischemia - Benefits of nonviral vector, gelatin	Circulation	109	526-531	2004
T.Akiyama, T.Yamazaki, <u>H.Mori</u> , K.Sunagawa	Simultaneous monitoring of acetylcholine and catecholamine release in the in vivo rat adrenal medulla	Neurochemistry International	44	497-503	2004
T.Pang, T.Hisamitsu, <u>H.Mori</u> , M.Shigekawa, S.Wakabayashi	Role of calcineurin B homologous protein in pH regulation by the Na ⁺ /H ⁺ exchanger 1: Tightly bound Ca ²⁺ ions as important structural elements	Biochemistry	43	3628-3636	2004
T.Fujii, T.Yamazaki, T.Akiyama, S.Sano, <u>Mori</u> <u>H.</u>	In vivo assessment of catechol O-methyltransferase activity in rabbit skeletal muscle	Auton Neurosci	30;111(2)	140-143	2004
T.Akiyama, T.Yamazaki, <u>Mori H.</u> , Sunagawa K.	Effects of Ca ²⁺ channel antagonists on acetylcholine and catecholamine releases in the in vivo rat adrenal medulla	Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.	287(1)	R161-166	2004
E.Sato,Y.Hayasi, R.Gemer,E.Tanaka, <u>H.Mori</u> , et al.	Portable x-ray generator utilizing a cerium-target radiation tube for Angiography	J.Electron Spectroscopy and Related Phenomena	137-140	699-704	2004
E.Sato,Y.Hayasi, R.Gemer,E.Tanaka, <u>H.Mori</u> , et al.	Quasi-monochromatic parallel radiography utilizing a computed radiography system	J.Electron Spectroscopy and Related Phenomena	137-140	705-711	2004
E.Sato,Y.Hayasi, R.Gemer,E.Tanaka, <u>H.Mori</u> , et al.	Sharp characteristic x-ray irradiation from weakly ionized linear plasma	J.Electron Spectroscopy and Related Phenomena	137-140	713-720	2004
J.T.Pearson, M.Shirai, H.Ito, N.Tokunaga, H.Tsuchimochi, N.Nishiura , D.O.Schwenke,--- <u>H</u> <u>Mori</u> ,et al.	In Situ Measurements of Cross-bridge Dynamics and Lattice Spacing in Rat Hearts by X-Ray Diffraction. Sensitivity to Regional Ischemia	Circulation	109	2983-2986	2004
T.Fujii, T.Yamazaki, T.Akiyama, S.Sano, <u>H.Mori</u> .	Extraneuronal enzymatic degradation of myocardial interstitial norepinephrine in the ischemic region	Cardiovasc.Rec.	64	125-131	2004

H.Asanuma, T.Minamino, S.Sanada, S.Takashima, H.Ogita,--- <u>H.Mori</u> , et al.	Beta-adrenoceptor blocker carve- dilol provides cardioprotection via an adenosine-dependent mechanism in ischemic canine hearts	Circulation	8;109(22)	2773-2779	2004
H.Asanuma, S.Sanada, A.Ogai, T.Minamino, S.Takashima,--- <u>H.Mori</u> , et al.	Methotrexate and MX-68, a new derivative of methotrexate, limit in- farct size via adenosine-dependent mechanisms in canine hearts	J Cardiovasc Pharmacol.	Apr;43(4)	574-579	2004
E.Sato, M.Sagae, E.Tanaka, Y.Hayashi, R.Germer, <u>H.Mori</u> , et al.	Quasi-monochromatic flash x-ray generator utilizing disk-cathode molybdenum tube	Jpn J Appl Phys	43	7324-7328	2004
M.Sagae, E.Sato, Y.Hayasi, E.Tanaka, <u>H.Mori</u> , et al.	Monochromatic polycapillary imaging utilizing a computed ra- diography system	Jpn J Med Phys	24	78-85	2004
S.Sanada, H.Asanuma, T.Minamino, K.Node, S.Takashima,--- <u>H.Mori</u> , et al.	Optimal windows of statin use for immediate infarct limitation 5'- nucleotidase as another downstream molecule of phosphatidylinositol 3- kinase	Circulation	110	2143-2149	2004
N.Nagaya, T.Fujii, T.Iwase, H.Ohgushi, T.Itoh, M.Uematsu, M.Yamagishi, H.Mori,et al.	Intravenous administration of mes enchymal stem cells improves ca rdiac function in rats with acute myocardial infarction through ang iogenesis and myogenesis	Am J Physiol Heart Circ Physiol	287	H2670- H2676	2004
H.Kitagawa, T.Yamazaki, T.Akiyama, M.Sugimachi, <u>H.Mori</u>	Myoglobin release in early stage of cardiac ischemia and its enh ancement by reperfusion				2004 (su bmit ted)
E.Sato, et al.	Demonstration of enhanced K-ed ge angiography using a cerium t arget x-ray generator	Med. Phys.	Vol31-11	3017-3021	2004
E.Sato, et al.	Compact monochromatic flash x-ray generator utilizing a disk-cathode molybdenum tube	Med. Phys.	Vol.32-1	49-54	2005
E.Sato, et al.	Intense monochromatic x-ray irra- diation from weakly ionized linear copper plasma	SPIE			2004 (ac- cept)
N.Nagaya, K.Kangawa, T.Itoh, T.I wase, S.Murakami, . . . <u>H.M</u> <u>ori</u> , et al.	Transplantation of mesenchymal s tem cells improves cardiac funct ion by concomitant myogen esis and angiogenesis in a rat model of dilated cardio myopathy	Circulation			

N.Nagaya, T.Fujii, T.Ito h, T.Iwase, S.Murakami, M.Uematsu, H.Mori, et al.	Intravenous administration of mesenchymal stem cells ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats	Circulation			
T.Kawada, T.Yamazaki, T.Akiyama, M.Li, H.A riumi, H.Mori, et al.	Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial norepinephrine release via bradycardia	AJP			
T.Kawada, T.Yamazaki, T.Akiyama, T.Shishido, H.Mori, et al.	Myocardial interstitial choline and glutamate levels during acute myocardial ischemia and local ouabain administration				
H.Kitagawa, T.Yamazaki, T.Akiyama, M.Sugimachi, K.Sunagawa, H.Mori	Microdialysis separately monitors myocardial interstitial myoglobin during ischemic and reperfusion periods	Circulation			
S.Takeda, T.Igarashi, Y.Oishi, H. Mori	Crystal structure of the N-terminal domain of human cardiac troponin C in complex with trifluoperazine	Circ Res			
T.Fujii, N.Nagaya, T.Iw ase, S.Murakami, Y.Miyahara, K.Nishigami, H.Ishibashi-Ueda, M Shrai, T Itoh, K.Ishino, S.Sano, K.Ka ngawa, H.Mori	Adrenomedullin enhances herapeutic potency of bone marrow transplantation for myocardial infarction in rats	AJP			2004
M.Sagae, E.Sato, E.Tan aka, Y.Hayashi, H.Mori, T.Kawai, T.Ichimar, S.Sato, K.Takayama, H. Ido	Quasi-Monochromatic X-Ray Generator Utilizing Graphite Cathode Diode with Transmission-Type Molybdenum Target	Japan Journal of Applied Physics	Vol.44-1	446-449	2005
K.Nishida, M.Yamato, Y.Hayashida, K.Watana be,N.Maeda, H.Watanab e, S.Nagai, A.Kikuchi, Y.Tano and T.Okano	Functionnal bioengineered corneal epithelial sheet grafts from corneal stem cellsexpanded ex vivo on a temperature-responsive cell culture surface.	Transplantation	77(3)	379-385	2004
K.Itoga, M.Yamato J.Kobayashi,A.Kikuchi And T.Okano	Cell micropatterning usingphotopolymerization with aliquid crystal device commercial projector.	Biomaterials	25	2047-2053	2004

Y.Tsuda, A.Kikuchi M.Yamato, Ysakurai M.Umezu and T.Okano	Control of cell adhesion and detachment using temperature and thermo-responsive copolymer grafted culture surfaces.	L.Biomed.Mater. Res.	69A(1)	70-78	2004
M.Ebara, M.Yamato T.Aoyagi, A.Kikuchi K. Sakurai and T.Okano	Temperature Responsive cell culture surfaces enable "On-Off" affinity control between cell integrins and RGDS ligands.	Biomacromolecules	5(2)	505-510	2004
Y.Shiyoyanagi, M.Yamato Y.Yamazaki, H.Tomoda T.Okano	Urothelium regeneration using viable cultured cell sheets grafted on demucosalized gastric flaps.	BJU Int	93	1069-1075	2004
K.Itoga, M.Yamato, J.Kobayashi, A.Kikuchi and T.Okano	Micropatterned surfaces prepared using a liquid crystal projector-modified photopolymerization device and microfluidics.	J.Biomed Mater. Res.	69A(3)	391-397	2004
Y.Akiyama, A.Kikuchi M.Yamato and T.Okano	Ultrathin poly(<i>N</i> -isopropylacrylamide) grafted layer on polystyrene surfaces for cell adhesion/detachment control.	Langmuir	20	5506-5511	2004
K.Watanabe, K.Nishida M.Yamato, T.Umemoto, T.Sumida, K.Yamamoto N.Maeda, H.Watanabe, T.Okano and Y.Tano	Human limbal epithelium contains side population cell expressing the ATP-binding cassette transporter ABCG2.	FEBS Letters	565	6-10	2004
M.Ebara, M.Yamato, T. Aoyagi, A.Kikuchi K.Sakai and T.Okano	Immobilization of cell-adhesive peptides to temperature-responsive surfaces facilitates both serum-free cell adhesion and non-invasive cell harvest.	Tissue Engineering	10(7)	1125-35	2004
K.Nishida, M.Yamato, Y.Hayashida, K.Watanabe K.Yamamoto, E.Adachi, S.Nagai, A.Kikuchi, N.Maeda, H.Watanabe, T.Okano and Y.Tano	Corneal reconstruction with tissue engineered cell sheets composed of autologous oral epithelium.	N.Engl.J.Med.	351(12)	1187-1196	2004
M.Ebara, M.Yamato, S.Nagai, T.Aoyagi, A. Kikuchi, K.Sakai, and T.Okano	Incorporation of new carboxylate functionalized co-monomers to temperature-responsive polymer-grafted cell surfaces.	Surface Science	570	134-141	2004
清水達也, 岡野光夫	細胞シート工学を応用した組織再構築	Bio Clinica	19(10)	74-78	2004
A.Kikuchi and T.Okano	Regeneration of tissues and organs-New technique opens up new possibilities for regenerative medicine through control of interaction of polymers with water.	Nitto Denko Technical Report 85	42	44-48	2004

A.Kikuchi and T.Okano	Nanostructured designs biomedical materials: applications of cell sheet engineering to functional regenerative tissue and organs.	J.Control Rel.	101(1-3)	69-84	2004
岡野光夫	細胞シート工学を基盤とする再生医療	核医学技術	24(4)	324-325	2004
大和雅之, 岡野光夫	再生医学研究の現状と将来展望 : 消化器組織構築のバイオマテリアル	Frontiers in Gastroenterology	9(1)	62-68	2004
岡野光夫	巻頭言 : バイオマテリアル-新しい生命科学の基盤テクノロジー	バイオマテリアル-生体材料	22(1)	3-4	2004
岡野光夫, 大和雅之	Newsフラッシュ-生理活性因子で移植用組織を培養 定着しやすい細胞シート作製へ 成功率高い再生医療技術を実現	ナノテク専門ニュースレター日経・先端技術	227	1-2	2004
菊池明彦, 岡野光夫	生命・特別寄稿 : 生体組織を再生する-高分子と水の相互作用制御が拓く再生医療の新手法	日東電工技報	42(1)	44-48	2004
岡野光夫	再生医療の現状と展望	関東脳SPEC研究会記録集	11	26-35	2004
大和雅之, 岡野光夫	細胞シート工学	Medical Science Digest	30(12)	2-3	2004
清水達也, 岡野光夫	血管再生医工学	血管医学	5(6)	7-8	2004
Y.Tsuda, A.Kikuchi, M.Yamato, A.Nakao, Y.Sakurai, M.Umezu, and T.Okano	The use of patterned dual thermo responsive surfaces for the collective recovery as co-cultured cell sheets.	Biomaterials	26(14)	1885-93	2005
清水達也, 大和雅之, 岡野光夫	細胞シートから心筋をつくる	日経サイエンス	35(2)	50	2005
Shinsuke Yuasa, Keiichi Fukuda, et al.	Cardiomyocytes undergo cells division following myocardial infarction is a spatially and temporally restricted event in rats.	Mol Cell Biochem	259	177-181	2004
Yasuyo Hisaka, Keiichi Fukuda, et al.	Powerful and controllable angiogenesis by using gene-modified cells expressing human hepatocyte growth factor and thymidine kinase.	J Am Coll Cardiol	43(10)	1915-1922	2004

Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, et al.	Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression.	J Clin Invest	113(6)	876-884	2004
Eiichi Takahashi, Keiichi Fukuda, et al.	LIF activates cardiac L-type Ca ²⁺ channels via phosphorylation of serine 1829 in the rabbit Cav1.2 subunit.	Circ Res	94(9)	1242-1248	2004
Naoichiro Hattori, Haruko Kawaguchi, Keiichi Fukuda, et al.	Purified cardiomyocytes from bone marrow mesenchymal stem cells produce stable intracardiac grafts in mice.	Cardiovasc Res	65	334-344	2005
Keiichi Fukuda	Regenerative medicine for cardiomyocytes.	Jap Med Ass J.	47(7)	328-332	2004
Hiroshi Kawada, Jun Fujita, Keiichi Fukuda, et al.	Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction.	Blood	104(12)	3581-3587	2004
Mimi Tamamori-Adachi, Kentaro Hayashida, Keiichi Fukuda, et al.	Down-regulation of p27 ^{Kip1} promotes cell proliferation of rat neonatal cardiomyocytes induced by nuclear expression of cyclin D1 and CDK4.	J Biol Chem	279(48)	50429-50436	2004
Yuji Itabashi, Keiichi Fukuda, et al.	A new method for manufacturing cardiac cell-sheets using fibrin-coated dishes and its electrophysiological studies by optical mapping.	Artif Organs	29(2)	95-103	2005
Kentaro Hayashida, Keiichi Fukuda, et al.	Bone marrow derived cells contribute to pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension.	CHEST	in press		2005
Keiichi Fukuda	Current status of myocardial regeneration and cell transplantation.	Future Cardiology	in press		2005
林田健太郎、福田恵一	循環器疾患における再生療法：心筋細胞の再生	The Circulation Frontier	8 (1)	18-25	2004

真鍋知宏、福田恵一	外科領域における再生医療の現況と展望：6.心筋細胞の新生、再生療法の現況と展望	日本外科学会雑誌	105(8)	454-458	2004
藤田淳、福田恵一	動き出す心筋創生：骨髄細胞からの心筋再生	分子心血管病	5(3)	233-238	2004
川口治子、福田恵一	再生医療による心臓病治療の最前線－基礎と臨床－：心筋の細胞治療	Cardiovascular Med-Surg	6(3)	327-334	2004
福田恵一	骨髄幹細胞を用いた筋組織再生：心筋細胞の再生	Molecular Medicine	41(3)	344-349	2004
福田恵一	骨髄幹細胞由来の再生心筋細胞の特徴と機能解析	Jap J Electrocardiology	supplement 3 24	S3-3-14	2004
福田恵一	心筋再生と細胞移植の現状	循環器科	56(4)	385-392	2005
福田恵一	Melvin L. Marcus Young Investigator Awards in Cardiovascular Disease	AHAハイライト	2004	in press	2005
福田恵一	G-CSFによる骨髄筋前駆細胞の動員	Medical Science Digest.	31(2)	38-40	2005
下地顕一郎、福田恵一	心筋の再生	分子リウマチ	1(4)	313-317	2004
板橋裕史、福田恵一	間葉系幹細胞を用いた心筋再生	血液フロンティア	15(2)	237-242	2005
Iwami Y, Asahara T.	Endothelial progenitor cells: Past, state of the art, and Future.	J Cell Mol. Med.	8 (4)	488-97	2004
M Ii, T Asahara.	Endothelial progenitor cells are rapidly recruited to myocardium and mediate protective effect of ischemic preconditioning via "imported" nitric oxide synthase activity.	Circulation			2004 (in press)
Kusano KF, T Asahara	Sonic Hedgehog Induces Arteriogenesis in Diabetic Vasa Nervorum and Restores Function in Diabetic Neuropathy.	Arterioscler. Thromb Vasc. Biol.	24 (11)	2102-2107	2004

Masuda H, T Asahara	Endothelial progenitor cells for neovascularization in tissue regeneration.	Cardiovasc Res.	58 (2)	390-398	2003
Ymamaguchi J, T Asahara	Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization.	Circulation	107 (9)	1322-1328	2003
清水達也	特集・新しい医工連携： 組織工学の心血管病への応用	分子心血管病	5(1)	58-64	2004

Cardiovascular Regeneration Therapies Using Tissue Engineering Approaches

The fact that the cardiovascular system transports oxygen and nutrients to all parts of the body makes any threat to it well being a serious hazard to organs, tissues, and cells. This concise text from the editors of the importance of research and cardiovascular regeneration and therefore of this collection containing the latest developments in the field.

With input from many of the leading researchers and practitioners, this book describes techniques for therapeutic management of ischemic diseases and examines the current approaches to angiogenic, exogenous, cardiovascular stem cell, and tissue engineering tools. The present clinical research using bone marrow-derived mononuclear cell therapy for infarcted coronary disorders are also covered. This body of work will be a valuable resource for professionals in the fields of cardiovascular surgery, regenerative medicine, and tissue engineering.

H. Mori
H. Matsuda (Eds.)

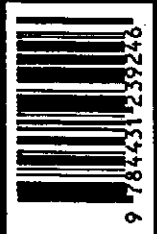


Cardiovascular Regeneration Therapies
Using Tissue Engineering Approaches

H. Mori • H. Matsuda (Eds.) Cardiovascular Regeneration Therapies Using Tissue Engineering Approaches

 Springer

ISBN 4-431-23924-5



springer.jp/med.com

Contents

Preface..... V

Chapter 1: VASCULAR PRECURSOR CELLS AND THEIR POTENTIATION

EPC and Their Potentiation by Adenovirus Gene Delivery Iwaguro H and Asahara T	3
Potentiation of Regenerative Therapy by Non-Viral Vector, Gelatin Hydrogel Nagaya N, Fukuyama N, Tabata Y, Mori H	17
Regeneration of Myocardium Using Bone Marrow Cells Tomita S and Nakatani T	31

Chapter 2: DEVELOPMENT OF MYOCARDIAL SHEETS AND THEIR CELL SOURCES

Cell Sheet Technology for Myocardial Tissue Engineering Shimizu T, Sekine H, Isoi Y, Yamato M, Kikuchi A, Okano T	45
Myocardial Regeneration Therapy with Tissue Implantation of Autologous Myoblast Sheets for Severe Impaired Heart Failure Sawa Y, Memori I, and Matsuda H	53
Cardiovascular Cell Differentiation from ES Cells Yamashita J.....	67

Chapter 3: HYBRID TISSUES

Preparation and Recellularization of Tissue-Engineered Bioscaffold for Heart Valve Replacement Fujisato T, Minamoto K, Yamazaki S, Meng Y, Niwaya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S	83
---	----