

厚生労働科学研究費補助金

基礎研究成果の臨床応用推進 研究事業

「動脈硬化病変（再狭窄、不安定プラーク）に対する画期的血管内治療システムの創製— 霊長類モデル作製から臨床応用まで —
(H16-トランス-002)

平成 16 年度総括・分担研究報告書

主任研究者 江頭 健輔

平成 17 (2005) 年 4 月

厚生労働科学研究費補助金

基礎研究成果の臨床応用推進 研究事業

「動脈硬化病変（再狭窄、不安定プラーク）に対する画期的血管内治療システムの創製— 霊長類モデル作製から臨床応用まで —
(H16-トランス-002)

平成 16 年度総括・分担研究報告書

主任研究者 江頭 健輔

平成 17 (2005) 年 4 月

【目 次】

I. 研究組織	1
II. 総括・分担研究報告書	
1. 研究要旨（概要）	2
2. 研究の必要性ならびに目的	3
3. 期待される効果	4
4. 本研究における国内外の研究状況およびこの研究の独創的な点と特色	4
5. 研究計画の目標	5
6. 平成16年度の成果	7
7. 平成17年度以降の予定	11
8. 考察と将来構想	12
9. 健康危険情報	15
10. 研究発表	15
11. 知的財産権の出願・登録状況	15
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	16
IV. 研究成果の刊行物・別刷	22

【研究組織】

※主任研究者：

江頭 健輔 九州大学大学病院 循環器内科・講師

※分担研究者：

砂川 賢二 九州大学大学院医学研究院 循環器内科学・教授

米満 吉和 九州大学大学院医学研究院 病理病態学・助教授

市来 俊弘 九州大学大学病院 循環器内科・助手

北嶋 隆 (財) 神奈川科学技術アカデミー・研究員

野見山弘章 川澄化学工業(株) 研究開発部・研究員

糺本 芳郎 (有)プライメイト中国研究所・代表取締役

厚生労働科学研究費補助金
(基礎研究成果の臨床応用推進 研究事業)

【総括・分担研究報告書】

「動脈硬化病変（再狭窄、不安定プラーク）に対する画期的血管内治療システムの創製— 霊長類モデル作製から臨床応用まで —」(H16-トランス-002)

主任研究者 江頭 健輔
(九州大学 大学病院 循環器内科 講師)

1. 研究要旨（概要）

研究の必要性と目的：

冠インターベンション後再狭窄患者は国内だけで15万人以上、心筋梗塞の責任病変である不安定プラークを有する患者は100万人以上と推測される。したがって、この再狭窄・動脈硬化に対する Japan オリジナルの画期的次世代治療法の開発が急務である。炎症抑制や血管内皮再生を標的とした遺伝子・薬剤溶出型ステントは、これら活性化動脈硬化病変の血管内治療用手段として有望である。本研究の目的は、我々独自の研究成果を踏まえて、再狭窄抑制・プラーク不安定化抑制をもたらす次世代の国産遺伝子・薬剤溶出型ステントを創製し、臨床応用を目指して探索的臨床研究を実施することである。遺伝子・薬剤溶出型ステントをドラッグデリバリーシステムとしてとらえ再狭窄・動脈硬化病変の血管内治療用デバイスを開発する。

具体的目標：

1) 遺伝子・薬剤溶出型ステントの試作（九州大学、テルモ、川澄）、2) 霊長類（サル）などでの有効性試験（九州大学、プライメイト）、3) 毒性・安全性試験（九州大学、プライメイト）、4) 臨床研究の準備。3年目：探索的臨床研究の実施（九州大学）。

特色、独創性ならびに期待される研究成果：再狭窄・動脈硬化に対する画期的遺伝子・薬剤溶出型ステントを創製し、臨床応用を目指す。これらの動脈硬

化性疾患に対する画期的血管内治療法を提供する。目標が達成されれば、患者の QOL 改善、医療費の削減、適応拡大などがもたらされ厚生労働科学に対する貢献は極めて大きい。

2. 研究の必要性ならびに目的

冠動脈硬化性狭窄を拡張する冠インターベンションの有用性は確立し普及している（全世界で年間 150 万例、日本で 15 万例）。しかし、いったん拡張した血管内腔が再び狭くなる「再狭窄」が高率に発生することが医学的かつ医療経済的問題である。冠インターベンションの約 8 割以上がステント拡張術である。ステント内再狭窄が生じれば、心筋梗塞・狭心症が発症し、再インターベンションが必要となることが多ことから、ステント内再狭窄の予防法の確立が急務である。また、急性心筋梗塞・脳卒中の責任病変である不安定プラークに対する局所血管内治療法の開発も期待されている。

我々は独自に炎症抑制ならびに血管内皮細胞再生誘導が、このような活性化動脈硬化病変の新しい抑制対策になることを明らかにしてきた。血管炎症の主役である単球/マクロファージのケモカインである単球走化性促進因子

(monocyte chemoattractant protein-1、MCP-1) の機能を変異型 MCP-1 (7ND) を用いて抑制することによって再狭窄・動脈硬化が抑制されることを明らかにしてきた (特許公開 2002-284698)。また、再狭窄抑制因子にフィブロネクチンを結合させコラーゲン結合活性を有するハイブリッドポリペプチド (VEGF-FN、7ND-FN など) を作成し、血管再生を強力に誘導できることを明らかにした (特許公開 2002-60400)。さらに、生分解性

(bioabsorbable) ステントやナノカプセルを用いた遺伝子・薬剤の局所送達は血管内治療用のドラッグデリバリーシステム (DDS) として有望である。

本研究の目的は、我々独自の研究成果を踏まえて、再狭窄抑制・プラーク不安定化抑制をもたらす次世代の遺伝子・薬剤溶出型ステント (遺伝子・薬剤溶出型金属ステント、生分解性 bioabsorbable ステント) を創製し、臨床応用を目指すことである。具体的には以下の 3 点を目標とする。

- 霊長類（カニクイザル）を用いた再狭窄・動脈硬化モデルの作製
- 再狭窄抑制ならびに動脈硬化プラーク不安定化抑制（安定化促進）をもたらす遺伝子・薬剤溶出型ステントの開発
- 臨床応用を目指した探索的臨床研究（トランスレーショナルリサーチ）

3. 期待される効果

- 新たな治療法の確立：ステント内再狭窄に対する画期的次世代治療法が確立される。医学への貢献：再狭窄の発生機序における炎症や内皮再生の役割が臨床レベルで解明される。
- 国民・社会への貢献：冠インターベンションに用いられているステントの殆どは外国製である。本研究により国産ステントが登場することになれば、この分野で我が国が国際的リーダーシップを発揮できるようになるだけでなく、無駄な医療費の削減・適応拡大などがもたらされ、厚生労働科学に対する貢献は極めて大きい。

4. 本研究における国内外の研究状況およびこの研究の独創的な点と特色

- 薬剤コーティングステントの開発研究の状況：
冠インターベンションに用いられているステントの90%以上は外国製であり、薬剤（ラパマイシン）溶出型ステント（Cypher™など）は100%が外国製である。すなわち、我が国はこのステント開発分野において欧米から完全に遅れている。
- 研究の独創性（知的財産を含む）：
国内で事業化を目指して国産遺伝子、国産ステント、国産コーティング技術を組み合わせて開発研究を行っているのは申請者らのグループのみである。
7ND、NF-κB阻害薬、VEGF-FNに関する物質特許あるいは技術特許は出願した（特開2002-284698、特開2002-60400、特願2003-60506など）。本研究で得られた成果は、技術特許として出願可能である。生分解性ステントで得られた成果も技術特許として出願する。したがって、本研究によ

り独自の基本特許を有する画期的国産遺伝子・細胞溶出型ステントの開発が期待できる。

- 研究の特色と波及効果：
 - 本研究の特色は、申請者らの独自の研究成果を基盤にして次世代遺伝子・薬剤溶出型ステントの臨床応用を目指す独創的研究であることである。また、ステントやナノカプセルをドラッグデリバリーシステム（DDS）としてとらえ、血管病の局所治療法を創製することを目指すことも特記すべき特色である。
 - 再狭窄・動脈硬化性プラークが抑制できる遺伝子・薬剤溶出型ステントが実現すれば、国際競争力を持った画期的次世代治療法が確立されるだけでなく、日本が世界に大幅に遅れている血管内治療開発分野で我々は国際的リーダーシップを発揮できる。
 - 新規金属ステントや生分解性ステントの臨床応用が実現すれば、再狭窄だけでなく心筋梗塞・脳卒中の責任病変に対する全く新しい局所血管内治療が実現する。再狭窄の減少によって、関連医療費の削減、患者のQOL改善（入院・外来の減少）、などがもたらされる。また、従来のステントでは治療が困難であった病変あるいは患者（例、小血管径血管の狭窄、びまん性病変、多枝病変、糖尿病患者、左冠動脈主幹部、静脈グラフト狭窄など）に対するインターベンションが可能になり（適応拡大）、より多くの患者が恩恵を受けることになる。

5. 研究計画の目標

- 1) 遺伝子・薬剤溶出型ステントの試作（平成16－17年度、担当：九州大学、テルモ、川澄）
- 2) 霊長類（サル）などでの有効性試験（平成16－17年度、担当：九州大学、プライメイト）
- 3) 毒性・安全性試験（平成17年度、担当：九州大学、プライメイト）
- 4) 探索的臨床研究の準備と実施（平成18年度以降、担当：九州大学）

次のページに研究の概要図を示す。

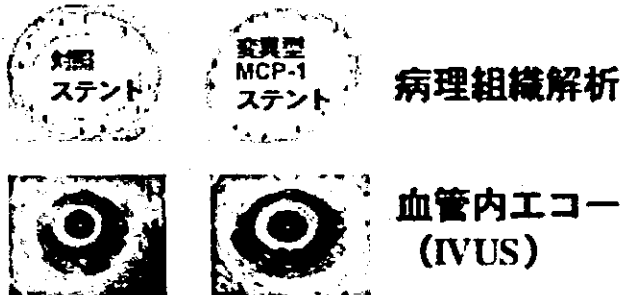
再狭窄・動脈硬化に対する画期的血管内治療システムの創製
 — モデル作製から臨床応用まで —

霊長類での再狭窄・
 動脈硬化モデル実験システムの整備

次世代国産遺伝子・
 薬剤溶出型ステントの作製

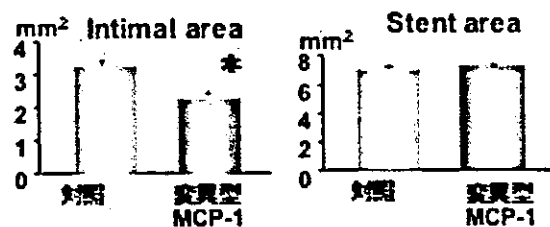


ステント内再狭窄の抑制



前臨床試験

探索的臨床研究
 (再狭窄の抑制)



再狭窄・動脈硬化の次世代治療法の確立

患者のQOL改善、虚血性イベント減少、
 医療費節約、雇用増、国際的リーダーシップ

6. 平成16年度の成果

1. 研究体制（役割分担）：

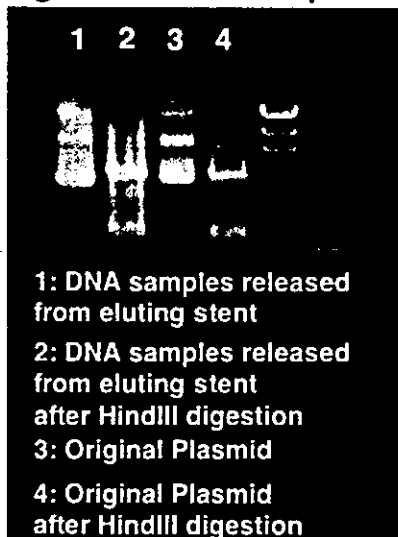
本研究は、主任研究者（江頭健輔）の有する技術・知識と分担研究者の有する技術を組み合わせて実施する。すなわち、江頭は粧本と協力して動物モデルを作製し、有効性試験と安全性試験を迅速に実施する。病理組織学的解析は米満が担当する。江頭は北嶋、野見山と協力して7ND、7ND-FN、VEGF-FN、HGF-FN 蛋白・遺伝子などを作成し、溶出型ステントを作製する。有望な成果が得られた場合には、知的財産（特許）を取得した後、探索的臨床試験を実施する。

2. 遺伝子溶出型ステントの作製：

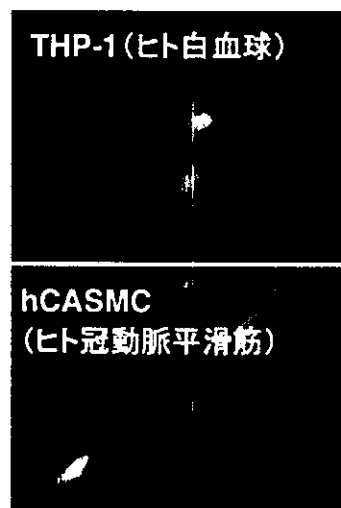
医療用ポリマーに遺伝子プラスミドを溶解し金属ステントにコーティングした。これによって遺伝子プラスミド溶出型ステントを作製した。このステントにコートした遺伝子プラスミドの構造と機能が保たれていることを明らかにした。すなわち、下図に示す如くステントから溶出した遺伝子プラスミドの構造が元来のプラスミドと同じであること、その機能が保たれていること、を確認した。

7ND遺伝子溶出ステントから溶出したプラスミドDNAの構造と機能は保たれる

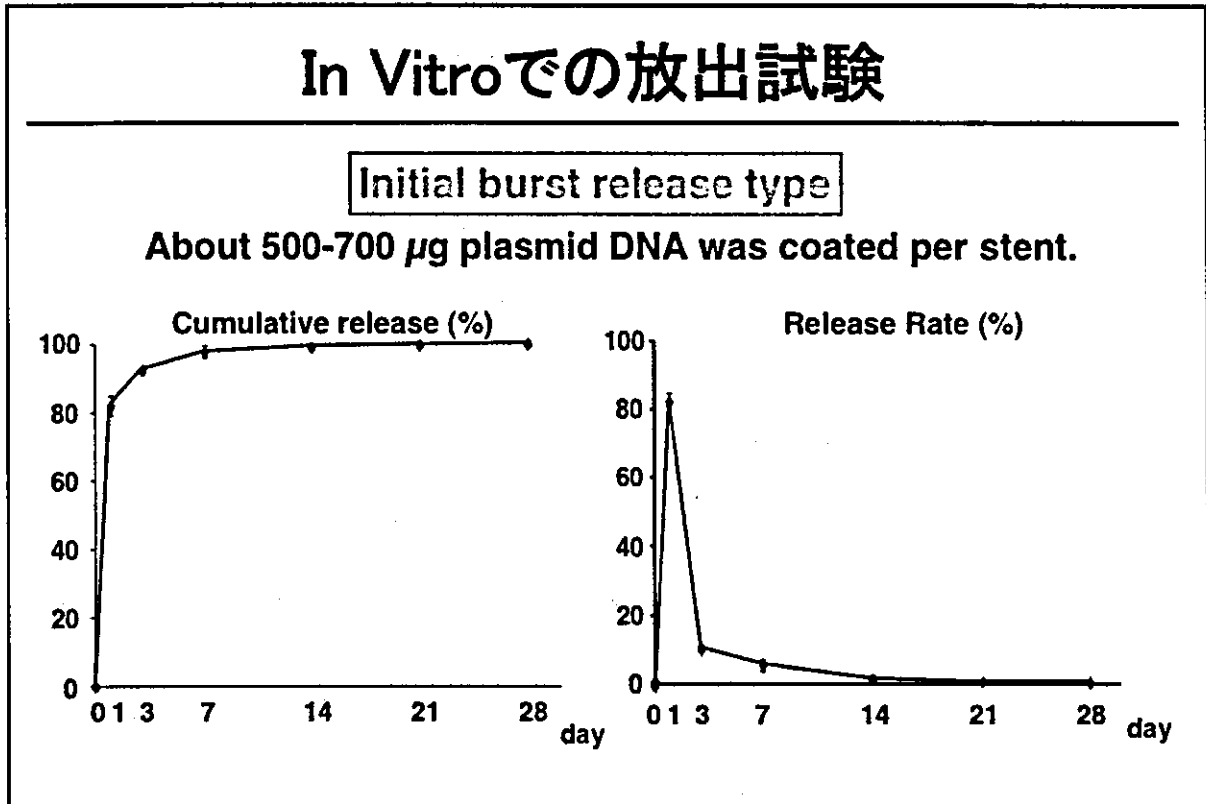
Agarose Gel Electrophoresis



Lipofectamine method

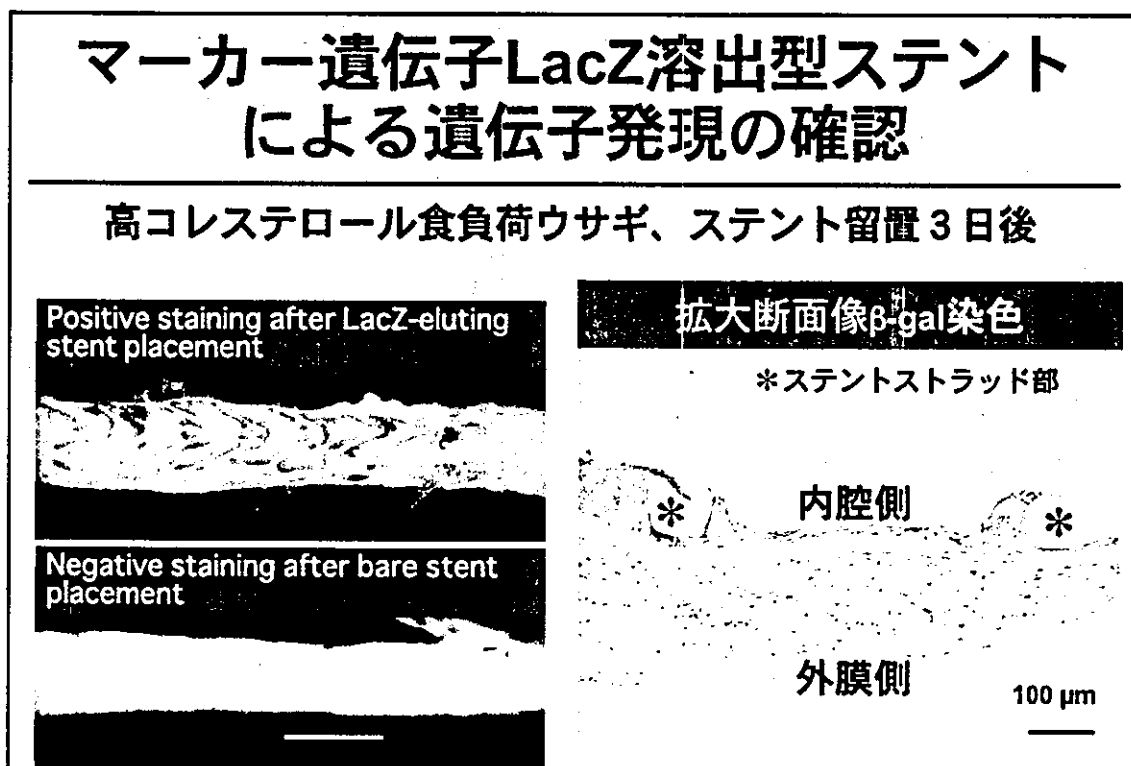


さらに、遺伝子溶出型ステントの場合遺伝子が血管壁細胞に導入されたあとから効果が発揮されることから、早期放出パターンとなるようにデザインした。下図に示す如く放出パターンを試験管内で評価し、早期放出されることを確認した。



3. ステント後再狭窄モデルの作製と遺伝子溶出型ステントの有効性試験:

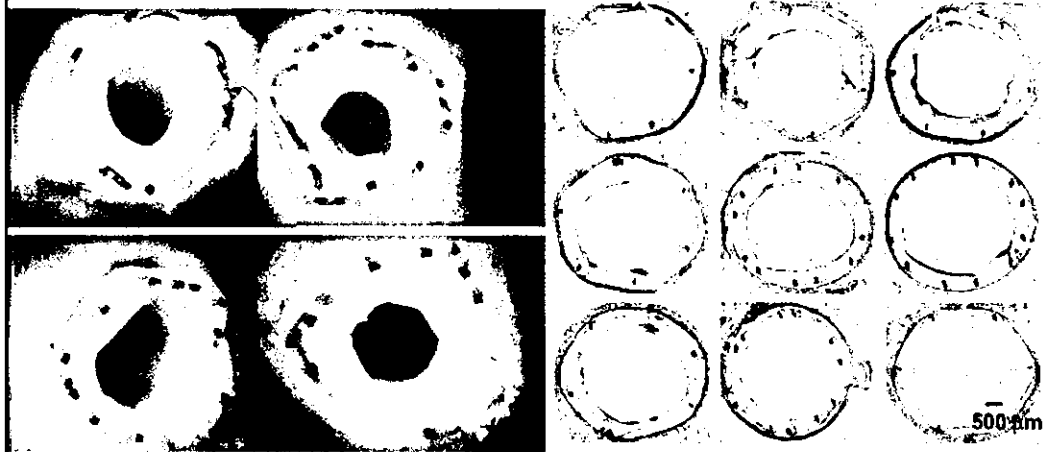
1) 遺伝子溶出型ステントによる遺伝子発現の確認: マーカー遺伝子である LacZ 遺伝子プラスミド溶出型ステントを作製し in vivo での遺伝子発現を検討した (下図)。その結果、ステント留置3日後をピークとして LacZ の発現を確認できた。発現細胞はステントストラット周囲の新生内膜構成細胞 (白血球や平滑筋) であった。一部の中膜平滑筋や外膜細胞にも発現が認められた。この発現は一過性であり、7日後には減弱し14日後には殆ど認められなかった。



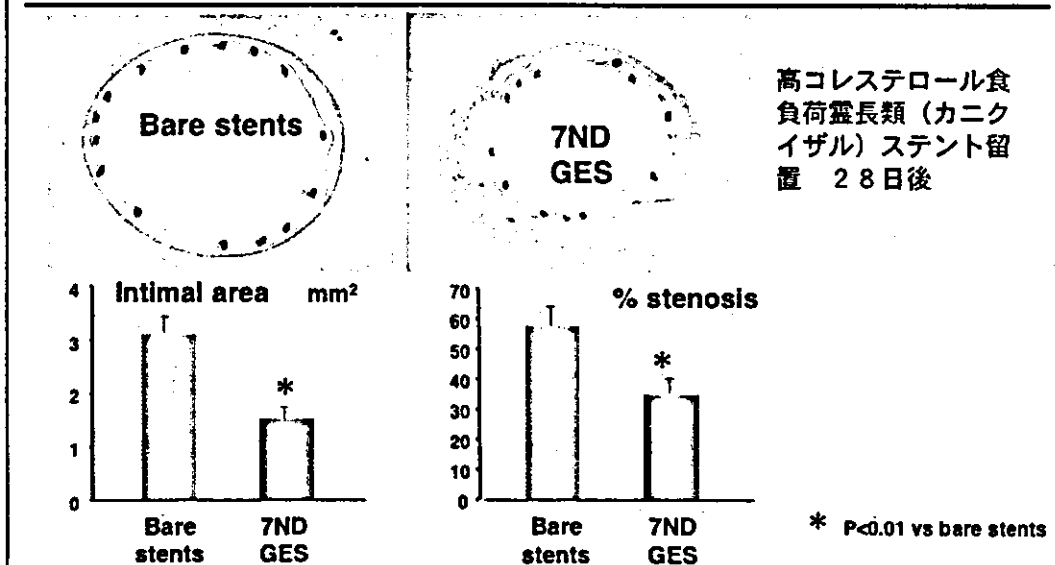
2) 遺伝子溶出型ステントによる再狭窄の抑制：ウサギ大腿動脈ならびにサル大腿動脈にステントを留置し、ステント部位に新生内膜が生じることを病理組織学的解析ならびに血管内エコーを用いて明らかにした(下図)。次に、7ND 遺伝子プラスミド溶出型ステントの再狭窄抑制作用を上記モデルを用いて検討し、7ND 遺伝子溶出型ステントでは、対照ステントと比較して炎症、平滑筋増殖、サイトカイン産生が抑制され、その結果、ステント留置1ヶ月(28日)後の新生内膜形成が抑制された(下図)。

霊長類(カニクイザル)を用いた ステント再狭窄モデルの作製

高コレステロール食負荷サル腸骨動脈- ステント留置28日後
断面写真(実体顕微鏡) 病理組織像(HE染色)



7ND遺伝子溶出型ステントによる 再狭窄(新生内膜)の抑制 1ヶ月後



3) 不安定化プラークモデルの作製：高コレステロール食負荷ウサギならびに高コレステロール食負荷サルの胸部-腹部大動脈をバルーン傷害し1ヶ月後、ヒトで報告されている不安定化プラークと同様の病変が観察された。今後、7ND 遺伝子溶出型ステントの有効性を明らかにする予定である。

7. 平成17年度以降の予定

平成17年度以降は研究計画書に記載したように以下の研究を予定している。

- 有効性の解析だけでなく毒性の解析を実施して探索的臨床試験の基盤 Data としたい。臨床で使用可能なステントを製造している会社と連携して7ND 遺伝子溶出型ステントの臨床試験に向けた産学官連携研究を進める。
- 遺伝子溶出型ステントの長期有効性（3ヶ月、6ヶ月）を確認する。安全性についても明らかにする。
- 既に述べたように高コレステロール血症サルならびにウサギの大動脈にバルーン傷害を行い、ヒト不安定プラークに類似した動脈硬化性プラークを作製している。来年度は、この不安定化プラークに対する遺伝子溶出型ステントの有効性を確認する。
- 7ND による抗 MCP-1 戦略が動脈硬化病変を抑制する分子機序として、抗炎症（単球浸潤と活性化の抑制）だけでなく、平滑筋の遊走・増殖の抑制が貢献している可能性がある。そこで、ヒト培養冠動脈平滑筋に対する7ND の効果を検討中である。予備成績では、血管平滑筋の機能（増殖遊走）が有意に抑制される。この点が確実になれば、7ND の効果が血管平滑筋の機能抑制によってもたらされることが示されることになり、その意義は大きい。
- 溶出型ステントからの遺伝子導入の効率を上げるためにナノカプセル等の DDS 技術を導入する。第一にフィブロネクチンのコラーゲン結合ドメイン（FN CBD）が血管傷害部位選択的にサイトカインやペプチドを局所送達できる生体分子ナノキャリアーとして機能することを明らかにする。さらに、アテロコラーゲンなどの国産 DDS 材料を使ってより効果的な DDS が可能かどうかを明らかにする。これらの組み合わせによって、よ

り優れた遺伝子溶出型ステントを作製する。

- 7ND は生体内には殆ど存在しないので臨床研究を実施する場合には、その毒性に加えて抗原性誘導などが懸念される。来年度は、ラット、サルでの安全性試験と抗体産生試験を実施する。
- 上記研究によって、有効性と安全性が示された場合、学内倫理委員会（必要なら厚生労働省の臨床研究審査委員会）の承認を得て探索的臨床試験を実施する。臨床研究は厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」（科学技術部会作成）に準じて実施する。

8. 考察と将来構想

従来、ラットやウサギモデルにおいて再狭窄に対する有効性が示された治療法であっても、ヒトでは有効性が全く認められないということが殆どであったことから（例：ACE 阻害薬、トラニラスト、抗血小板薬など）、再狭窄治療を目指した溶出型ステントの開発に際して、申請者はヒトに近い霊長類での検討が必須と考えた。本研究によって霊長類における再狭窄モデル作製が可能であることが明らかになった。

申請者らは既に述べたとおり 7ND 遺伝子の骨格筋内導入（全身投与）により血管傷害後再狭窄、動脈硬化、プラーク不安定が抑制されることを明らかにしてきた。本研究により、ステントを用いた 7ND 遺伝子局所導入によって「より優れた」新生内膜抑制効果が得られることが明かとなった。今後、長期有効性と安全性を検討していく予定である。このような成果は本研究に関わる研究者間の医工学連携の賜物である。これらの成績から、7ND 遺伝子溶出型ステントが「より優れた」「安全性の高い」再狭窄抑制技術を発揮する次世代医療機器となる可能性が示された。

7ND 遺伝子プラスミド溶出型ステントの利点として以下の4点が挙げられる：

- 1) 7ND の有効性と安全性については科学的基盤がある。
- 2) 遺伝子プラスミドの用量は現在、600-800 μg /ステントである。

この量であれば、今までに実施された探索的臨床試験の結果を鑑みて、

安全性に対する懸念は問題にならない。

- 3) コーティング用ポリマーとして水溶性ポリマーを用いるが、このポリマーの安全性は確立されている。
- 4) プラーク安定化作用も期待できる
- 5) 現行の薬剤溶出型ステントの問題点（組織修復反応の遅延、炎症増殖の遷延、内皮再生の遅れ、など）を克服できる可能性があり、次世代ステントになる可能性がある。

来年度は、有効性の解析だけでなく安全性の解析を実施して探索的臨床試験の基盤 Data としたい。臨床で使用可能なステント製造会社と連携して7ND 遺伝子溶出型ステントの臨床試験に向けた産学官連携研究を進めたい。現在、中国-上海の会社、ドイツの会社と秘密保持契約を締結した。

また、7ND 遺伝子溶出型ステントが不安定化プラークを安定化させるかどうかについて明らかにしたい。内皮再生については HGF 遺伝子溶出型ステントの有効性を明らかにする予定である。DDS については、フィブロネクチンのコラーゲン結合ドメイン（FN CBD）が血管傷害部位選択的にサイトカインやペプチドを局所送達できる生体分子ナノキャリアーとして機能することを明らかにしている。そこで、来年度は 7ND-FN CBD、あるいは HGF-FN CBD を用いた再狭窄・動脈硬化の抑制試験を実施していきたい。

今後は、遺伝子溶出型ステント（金属あるいは生分解性材料をプラットフォームとする）として遺伝子を局所に送達する方向に開発研究が進むと考えられる。本研究成果を基盤にして、国産遺伝子溶出型ステントが誕生することを期待する。

Answer to Restenosis & Plaque Destabilization: 7ND Gene-Eluting Stent System

Gene or Drug Stent Platform
(金属、生分解性) Coating
Matrix
Nano DDS

医工薬学・産学官連携・ベンチャー企業

7ND Gene Eluting Stent

組み合わせによる「より優れた」「より安全な」
画期的 血管内治療法の開発

9. 健康危険情報

なし

10. 研究発表

1) 国内 口頭発表：14件

原著論文による発表：0

それ以外（レビュー等）の発表：21件

2) 国外 口頭発表：5件

原著論文による発表：27件

それ以外（レビュー等）の発表：4件

11. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

3件（うち国内3件、国外該当なし）

1. 2003.6.17, 「薬剤放出ステント」江頭健輔,特願 2003-60506

2. 2004.3.18, 「薬剤・遺伝子溶出型ステント」江頭健輔,特願 2004-077581

3. 2004.3.30 「遺伝子・薬剤放出型ステント」江頭健輔,特願 2004-100040

【研究成果の刊行に関する一覧表】

(1) 学会誌発表

＜総説＞

1. Egashira K: Molecular Mechanisms Mediating Inflammation in Vascular disease —special Reference to Monocyte Chemoattractant Protein-1—*Hypertension* 2003; 41: 834-841.
2. Kitamoto S, Egashira K: Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy for cardiovascular diseases. *Expert Review of Cardiovascular Therapy* 2003; 1(3) 393-400.
3. Kitamoto S, Egashira K: Endothelial Dysfunction and Coronary Atherosclerosis. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Discord*. 2004; 4(1) 13-22.

＜Letter など＞

1. Inaba S, Egashira K, Komori K: Peripheral-blood or bone-marrow mononuclear cells for therapeutic angiogenesis? *Lancet* 2002 ; 306: 2083.

＜原著＞

1. Furuichi K, Wada T, Iwata Y, Kitagawa K, Kobayashi K, Hashimoto H, Ishiwata Y, Tomosugi N, Mukaida N, Matsushima K, Egashira K, Yokoyama H: Gene therapy expressing amino-terminal truncated monocyte chemoattractant protein-1 prevents renal ischemia-reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* 2003 14:1066-1071.
2. Tanaka E, Shimokawa H, Kamiuneten H, Eto Y, Matsumoto Y, Morishige K, Koike G, Yoshinaga M, Egashira K, Tokunaga O, Shiomi M, Takeshita A: Disparity of MCP-1 mRNA and Protein Expressions Between the Carotid Artery and the Aorta in WHHL Rabbits —One Aspect Involved in the Regional Difference in Atherosclerosis- *Arterioscl Throm Vas Biol* 2003; 23: 244-250.
3. Fukuyama K, Ichiki T, Takeda K, Tokunou T, Iino N, Masuda S, Ishibashi M, Egashira K, Shimokawa H, Hirano K, Kanaide H, Takeshita A: Downregulation of vascular angiotensin II type 1 receptor by thyroid hormone. *Hypertension* 2003; 41(3): 598-603.
4. Hayashidani S, Tsutsui H, Shiomi T, Ikeuchi M, Matsusaka H, Suematsu N, Wen J, Egashira K, Takeshita A: Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction. *Circulation* 2003; 108:2134-2140.
5. Yamada M, Kim S, Egashira K, Takeya M, Ikeda T, Mimura O, Iwao H: Molecular mechanism and role of endothelial monocyte chemoattractant protein-1 induction by vascular endothelial growth factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1996-2001.
6. Fujiyama S, Amano K, Uehira K, Yoshida M, Nishiwaki Y, Nozaya Y, Jin D, Takai S,

Miyazaki M, Egashira K, Imada T, Iwasaka T, Matsubara H: Bone marrow monocyte lineage cells adhere on injured endothelium in a monocyte chemoattractant protein-1-dependent manner and accelerate reendothelialization as endothelial progenitor cells. *Circulation Research* 2003;93(10):980-989. Epub 2003 Oct 02.

7. Shimizu H, Maruyama S, Yuzawa Y, Kato T, Miki Y, Suzuki S, Sato W, Morita Y, Maruyama H, Egashira K, Matsuo S: Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy attenuates renal injury induced by protein-overload proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(6):1496-1505.
8. Kuwahara F, Kai H, Tokuda K, Takeya M, Takeshita A, Egashira K, Imaizumi T; Hypertensive myocardial fibrosis and diastolic dysfunction Another model of inflammation-. *Hypertension* 2004; 43; 739-745.
9. Ni W, Kitamoto S, Ishibashi M, Usui M, Inoue S, Hiasa K, Zhao Q, Nishida K, Takeshita A Egashira K: Monocyte Chemoattractant Protein-1 is an essential inflammatory mediator in angiotensin II-induced progression of established atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. *Arterioscl Throm Vas Biol* 2004;24:534-539.
10. Ohtani K, Egashira K, Usui M, Ishibashi M, Hiasa K-I, Zhao Q, Aoki M, Kaneda Y, Morishita R, Takeshita A: Inhibition of neointimal hyperplasia after balloon injury by cis-element decoy' of early growth response gene-1 in hypercholesterolemic rabbits. *Gene Ther.* 2004; 11(2): 126-132.
11. Wada T, Furuichi K, Sakai N, Iwata Y, Kitagawa K, Ishida Y, Kondo T, Hiroyuki H, Ishiwata Y, Mukaida N, Tomosugi N, Matsushima K, Egashira K, Yokoyama H: Gene therapy via blockade of MCP-1 for renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(4): 940-948.
12. Hiasa K, Ishibashi M, Otani K, Inoue S, Zhao Q, Kitamoto S, Sata M, Ichiki T, Takeshita A, Egashira K: Gene Transfer of Stromal Cell-Derived Factor-1 α Enhances Ischemic Vasculogenesis and Angiogenesis via Vascular Endothelial Growth Factor / Endothelial Nitric Oxide Synthase-Related Pathway: Next-Generation Chemokine Therapy for Therapeutic Neovascularization *Circulation* 2004;109(20): 2454-2461
13. Ishibashi M, Hiasa K, Zhao Q, Inoue S, Ohtani K, Kitamoto S, Tsuchihashi M, Sugaya T, Israel F. Charo, MD; Kura S, Tsuzuki T, Ishibashi T, Takeshita A, Egashira K: Critical Role of Monocyte Chemoattractant Protein-1 Receptor CCR2 on Monocytes in Hypertension-Induced Vascular Inflammation and Remodeling. *Circulation Research* 2004;94:1203-1210.
14. Ohtani K, Usui M, Nakano K, Kohjimoto Y, Kitajima S, Hirouchi Y, Li X, Kitamoto S, Takeshita A, Egashira K: Anti-Monocyte Chemoattractant Protein-1 Gene Therapy Reduces Experimental In-Stent Restenosis in Hypercholesterolemic Rabbits and Monkeys. *Gene Therapy* 2004;11:1273-1282.
15. Inoshima I, Kuwano K, Hamada N, Hagimoto N, Yoshimi M, Maeyama T, Takeshita A, Kitamoto S, Egashira K, Hara N: Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy attenuates pulmonary fibrosis in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286(5): L1038-1044.