200400790A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

骨髄幹細胞による難治性血管炎への血管再生医療に関する多施設共同研究

平成１６年度　総括・分担研究報告書

主任研究者　池田　宇一

平成17(2005)年　4月

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（総合）研究報告書

主任研究者　池田宇一
信州大学大学院医学研究科　臓器発生制御医学講座

研究要旨：
難治性血管炎患者（バージャー病および膠原病）に対する自己骨髄細胞移植による血管再生療法の有効性と安全性を多施設臨床試験により検証し、さらに、疾患モデル動物を用いた基礎的研究により本治療法の作用機序を解明して、より侵襲が少ない治療法を開発することを目的として本研究を行った．本邦14施設における2005年1月1日までのバージャー病症例数は65例であり、その臨床成績を集計して臨床経過および長期予後、有害事象についての解析を行った．また、班員施設での膠原病に対する骨髄幹細胞移植の症例数は現在までに7例であり、その臨床成績の解析を行っている．さらに、動物実験での検討により、コロニー刺激因子（G-CSF）やエリスロポエチン（EPO）が骨髄からの骨髄幹細胞を末梢血中へと動員し、虚血部位や傷害血管部位への血管内皮前駆細胞の集積を増強して血管新生や血管内皮の修復に寄与することを明らかとした．また、骨髄幹細胞移植とアンジオポエチン-1（Ang-1）との併用により血管新生作用が著明に増強することを明らかとし、これらの因子の投与により骨髄採取に伴う患者負担を軽減できる可能性が示された．

分担研究者
松原弘明　京都府立医科大学
大学院医学研究科
循環器病態学　教授
室原豊明　名古屋大学大学院医学研究科
器官制御内科学　教授
簑田清次　自治医科大学医学部
アレルギー膠原病学　教授
天野　純　信州大学医学部
外科学　教授
高橋将文　信州大学大学院医学研究科
臓器発生制御医学　助教授

A．研究目的

難治性血管炎は、特定疾患の一つに指定されており、特定従来の治療法が無効で指趾切断に至る症例も少なくない．申請者らは、骨髄細胞移植療法が閉塞性動脈硬化症（ASO）やバージャー病による重症虚血肢に有効であることを既に明らかとしてきた．しかし、より多くのバージャー病症例での検証が必要であり、膠原病性の難治性血管炎における本治療法の有効性についても未だ明らかではない．そこで、本研究では、臨床試験により難治性血管炎患者に対する自己骨髄細胞移植による血管再生療法の有効性と安全性を検証することを目的とする．また、その作用機序の解明や全身麻酔下での骨髄採取を必要としないより侵襲の少ない新たな血管再生療法の開発も重要な課題であることから、基礎的研究による作用機序の解明とより侵襲の少ない新たな治療法の開発も目的としている．

B．研究方法

（1）多施設臨床試験による骨髄幹細胞移植療法の有効性と安全性の検証

信州大学、京都府立医科大学、名古屋大学、自治医科大学を中心とした班員施設での ASO

やバージャー病および膠原病による難治性血管炎に対する血管再生療法の実施症例計31例、さらに本邦14施設でのASOとバージャー病の本治療法の実施症例計 125 例での臨床成績を集計してそれらの臨床経過および長期予後、有害事象についての解析を行った．評価項目としては、疼痛レベル（VAS）、上下肢血圧比（ABI）、潰瘍直径、歩行距離などについて検討した．

（2）基礎的研究による作用機序の解明とより侵襲の少ない新たな治療法の開発

ウサギおよびマウスで下肢虚血モデルおよび血管障害モデルを作製して、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)やエリスロポエチン(EPO)による骨髄幹細胞動員効果についてはフローサイトメーター法で、治療効果についてはレーザードップラーによる血流評価や組織学的解析により検討した．

（倫理面への配慮）本臨床研究は、すでに各研究者所属機関における倫理委員会の承認を得ている．本臨床研究に参加する患者には、十分な説明と同意によりインフォームドコンセントを得る．患者データの解析については、患者番号による匿名化を行う．ヒト組織・細胞を研究に用いる場合は、「手術等で摘出されたヒト組織を用いた研究開発の在り方について」（平成 10 年度厚生科学審議会答申）ならびに各研究者所属機関における倫理委委員会規定に基づき、同委員会の承諾と十分なインフォームドコンセントのもとに行う．また、動物実験については、各研究者所属機関における委員会規定に基づき、同委員会の承諾と十分な配慮のもとで実施する．

C．研究結果

（1）多施設臨床試験による骨髄幹細胞移植療法の有効性と安全性の検証

平成16年度に、信州大学、京都府立医科大学、名古屋大学、自治医科大学の班員施設で計31例の重症虚血肢患者に自己骨髄細胞移植療法を施行した．症例内訳は、ASO 16 例、バージャー病 7 例、強皮症 3 例、混合性結合組織病（MCTD）2 例、CREST 1 例、膠原病（診断名未確定）1 例であった．また、本邦 14 施設を含めた臨床成績（TACT-1）の集計では、2005年1月1日までにASO 125 例（男性92、年齢66±9歳）、バージャー病65例（男性61、年齢48±14歳）について、疼痛レベル（VAS）、上下肢血圧比（ABI）、潰瘍直径、歩行距離などの指標について解析を行っている．移植療法1年後および2年後まで観察しえたバージャー病症例は、それぞれ20例、14例であり、その解析から移植後にはこれらの指標は有意に改善するが、経過とともに低下する傾向にあった．しかし、2年後の解析では、バージャー病での ABI を除くいずれの指標も前値よりは改善していた．また、有害事象については、バージャー病で 3 例（4.6%：心筋梗塞、膵炎、胃癌）、ASO で 11 例（8.8%）を認めた．一方、本研究班員施設における膠原病症例の解析では、7例中 3 例で臨床症状と他覚所見の改善が認められた．

（2）基礎的研究による作用機序の解明とより侵襲の少ない新たな治療法の開発

G-CSF および EPO は、マウス虚血モデルにおいて骨髄幹細胞（血管内皮前駆細胞：$CD34^+/Flk\text{-}1^+$）を末梢血中へと動員し、血管新生作用を示した．また、マウス大腿動脈への血管傷害モデルでは、傷害内皮の修復促進作用を示し、結果的に内膜肥厚の程度を軽減させることが示された．また、ウサギ下肢虚血モデルにおいて、Ang-1 遺伝子導入単独では血管の増生は認めるものの潰瘍所見や組織酸素分圧の改善を認めなかったが、骨髄幹細胞移植との併用により著明な治療効果が認められた．また、この併用効果は骨髄幹細胞単独よりも増強されることが示された．

D．考察

今回の検討により、バージャー病の末梢血管障害における骨髄幹細胞移植療法の有効性と安全性が明らかとなった．しかしながら、2年間以上経過を観察できた症例は14例のみで

あり、今後さらなる症例の積み重ねが必要であると考えられた．一方、膠原病症例では、症例数が少ないことや膠原病の原疾患そのものも違いがあることから、現時点でその評価は困難であり、今後さらに多くの症例を集積して解析する必要があると考えられた．このことから、来年度以降に新たな分担研究施設を追加する予定である．

基礎的検討では、G-CSF や EPO、Ang-1 の投与により骨髄採取による患者負担を減少させて効果的な血管新生を誘導する可能性が示された．今後、移植前後の臨床サンプル等における様々な幹細胞動員因子について解析し、作用機序の解明ならびに新たな治療法の確立についての研究をさらに進めていく予定である．

E. 結論

バージャー病における骨髄幹細胞移植による血管新生療法の有効性と安全性が示された．しかし、その有効性は時間経過とともに低下する傾向にあった．また、膠原病における本治療法の効果についてはまだ症例数が少なく、引き続き検討が必要である．また、G-CSF や EPO 投与による骨髄幹細胞動員療法や Ang-1 投与と骨髄幹細胞との併用効果の検討により、患者負担のより少ない新たな血管新生療法の可能性が示された．

F. 研究発表（論文発表）

1. Ise H, Nikaido T, Negishi N, Sugihara N, Suzuki F, Akaike T, **Ikeda U**. Effective hepatocyte transplantation using rat hepatocytes with low asialoglycoprotein receptor expression. **Am J Pathol 165:501-510, 2004**
2. Muroi K, Kawano-Yamamoto C, Nagashima T, Mori M, Ozawa K, Matsui K, Murakami Y, **Ikeda U**. Analysis of hematopoietic progenitors in bone marrow from patients with peripheral artery disease. **Leuk Res 9: 999-1000, 2004**
3. Eizawa T, **Ikeda U**, Murakami Y, Matsui K, Yoshioka T, Suzuki C, Takahashi M, Muroi K, Kamisawa O, Fuse K, Shimada K. Increase in circulating endothelial progenitor cells after aortic aneurysm repair. **Heart Vessels 19: 107-110, 2004**
4. Eizawa T, **Ikeda U**, Murakami Y, Matsui K, Yoshioka T, Takahashi M, Muroi K, Shimada K. Decrease in circulating endothelial progenitor cells in patients with stable coronary artery disease. **Heart 90: 685-686, 2004**
5. Eisawa T, Murakami,Y Matsui K, Takahashi M, Muroi K, Amemiya M, Takano R, Kusano E, Shimada K, **Ikeda, U**. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in hemodialysis patients. **Curr Med Res Opin 19: 627-633, 2003**
6. Matusi K, **Ikeda U**, Murakami Y, Yoshioka T, Muroi K, Kasuda H, Shimpo M, Takahashi M, Toei H, Kamisawa O, Takeuchi K, Ozawa K, Shimada K. Therapeutic angiogenesis by transplantation of autologous bone marrow and peripheral blood mononuclear cells in patients with peripheral arterial disease. **Int J Angiol 12: 155-161, 2003**
7. Matsui K, **Ikeda, U**, Murakami Y, Yoshioka T, Shimada K. Intravenous prostaglandin E1 reduces monocyte chemoattractant protein-1 levels in peripheral arterial disease. **Am Heart J 145: 330-333, 2003**
8. Matsui K, Yoshioka T, Murakami Y, Takahashi M, Shimada K, **Ikeda, U**. Serum concentration of vascular endothelial growth factor ad monocyte-colony stimulating factor in peripheral arterial disease. **Circ J 67: 660-662, 2003**
9. Irie H, Okigaki M, Zen K, Takamiya M, Takahashi T, Azuma A, Tatsumi T, **Matsubara H**. Carbon dioxide-rich water bathing enhances collateral blood flow in ischemic hindlimb via mobilization of endothelial progenitor cells and activation of NO-cGMP system. **Circulation 111:1523-1529, 2005**
10. Amano K, Okigaki M, Adachi Y, Fujiyama S, Mori Y, Kosaki A, Iwasaka T, **Matsubara H**. Mechanism for IL-1 beta-mediated neo-vascularization unmasked by IL-1 beta knock-out mice. **J Mol Cell Cardiol 36: 469-480, 2004**
11. **Matsubara H**. Risk to the coronary arteries of intracoronary stem cell infusion and G-CSF cytokine therapy. **Lancet 363: 746-747, 2004**
12. Fujiyama S, Amano K, Uehira K, Yoshida M, Nishiwaki Y, Nozawa 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. **Circ Res. 93: 980-989, 2003**

13. Kyoi S, Otani H, Sumida T, Okada T, Osako M, Imamura H, Kamihata H, **Matsubara H**, Iwasaka T. Loss of intracellular dystrophin: a potential mechanism for myocardial reperfusion injury. **Circ J 67: 725-727, 2003**
14. Amano K, **Matsubara H**, Iba O, Okigaki M, Fujiyama S, Imada T, Kojima H, Nozawa Y, Kawashima S, Yokoyama M, Iwasaka T. Enhancement of ischemia-induced angiogenesis by eNOS overexpression. **Hypertension 41: 156-162, 2003**
15. Numaguchi Y, Okumura K, Harada M, Naruse K, Yamada M, Osanai H, Matsui H, Ito M, **Murohara T**. Catheter-based prostacyclin synthase gene transfer prevents in-stent restenosis in rabbit atheromatous arteries. **Cardiovasc. Res 61: 177-185, 2004**
16. **Murohara T**. Therapeutic angiogenesis: Cellular approach from bone marrow, cord blood and peripheral blood. **Int Congress Series 1262: 332-338, 2004**
17. Higashi Y, Kimura M, Hara K, Noma K, Jitsuiki D, Nakagawa K, Oshima T, Chayama K, Goto C, Matsubara H, **Murohara T**, Yoshizumi M. Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation improves endothelium-dependent vasodilation in patients with limb ischemia. **Circulation 109: 1215-1218, 2004**
18. Choi JH, Hur J, Yoon CH, Kim JH, Lee CS, Youn SW, Oh IY, Skurk C, **Murohara T**, Park YB, Walsh K, Kim HS. Augmentation of therapeutic angiogenesis using genetically-modified human endothelial progenitor cells with altered glycogen synthase kinase-3b activity. **J Biol Chem 279: 49430-49438, 2004**
19. Niiyama H, Kai H, Yamamoto T, Shimada T, Sasaki K, **Murohara T**, Egashira K, Imaizumi T. Roles of endogenous monocyte chemoattractant protein-1 in ischemia-induced neovascularization. **J Am Coll Cardiol 44: 661-666, 2004**
20. Yamamoto K, Kondo T, Suzuki S, Izawa H, Kobayashi M, Emi N, Komori K, Naoe T, Takamatsu J, **Murohara T**. Molecular evaluation of endothelial progenitor cells in patients with ischemic limbs: therapeutic effect by stem cell transplantation. **Arterioscler Throm Vasc Biol 24:e192-196,2004**
21. Aoki M, Yasutake M, **Murohara T**. Derivation of functional endothelial progenitor cells from human umbilical cord blood mononuclear cells isolated by a novel cell filtration device. **Stem Cells 22: 994-1002, 2004**
22. Kondo T, Kobayashi K, **Murohara T**. Nitric oxide signaling during myocardial angiogenesis. **Mol Cell Biochem 264: 25-34, 2004**
23. Sasaki K, Duan J, **Murohara T**, Ikeda H, Shintani S, Shimada T, Akita T, Egami K, Imaizumi T: Rescue of hypercholesterolemia-related impairment of angiogenesis by oral folate supplementation. **J Am Coll Cardiol. 42: 364-372, 2003**
24. Egami K, **Murohara T**, Shimada T, Sasaki K, Shintani S, Sugaya T, Ishii M, Akagi T, Ikeda H, Matsuishi T, Imaizumi T: Role of host angiotensin II type 1 receptor in tumor angiogenesis and growth. **J Clin Invest. 112: 67-75, 2003**
25. Akita T, **Murohara T**, Ikeda H, Sasaki K, Shimada T, Egami K, Imaizumi T: Hypoxic preconditioning augments efficacy of human endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. **Lab Invest 83: 65-73, 2003**
26. Yamaura K, Ito K, Tsukioka K, Wada Y, Makiuchi A, Sakaguchi M, Akashima T, Fujimori M, Sawa Y, Morishita R, Matsumoto K, Nakamura T, Suzuki J, **Amano J**, Isobe M. Suppression of acute and chronic rejection by hepatocyte growth factor in a murine model of cardiac transplantation: Induction of tolerance and prevention of cardiac allograft vasculopathy. **Circulation 109:1650-1657, 2004**
27. H. Shimizu, **M. Takahashi**, T. Kaneko, T. Murakami, Y. Hakamata, S. Kudou, T. Kishi, K. Fukuchi, S. Iwanami, K. Kuriyama, T. Yasue, S. Enosawa, K. Matsumoto, I. Takeyoshi, Y. Morishita, E. Kobayashi. KRP-203, a novel synthetic immunosuppressant, prolongs graft survival and attenuates chronic rejection in rat skin and heart allografts. **Circulation 111: 222-229, 2005**

G. 知的所有権の取得状況

特許出願 2003-359166 肝臓集積性細胞

研究成果の刊行に関する一覧表

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
松井圭司、高橋将文、池田宇一	骨髄細胞移植による末梢動脈疾患の治療.	矢崎義雄、山口 徹 他	Annual review 循環器	中外医学社	東京	2004	153-159
M. Takahashi, U. Ikeda, K. Matsui, T. Yoshioka, Y. Murakami, K. Muroi, Ozawa, K. Shimada.	Therapeutic potential of adult vascular progenitor cells and early transplantation trials for ischemic cardiovascular diseases.	R. Bertolotti, K. Ozawa, H.K. Hammond	Progress in Gene Therapy: Vol. 2: Pioneering stem cell/gene therapy trials.	Brill Academic Publishers	Netherlands	2003	161-179
T.Yoshioka, M. Takahashi, C. Suzuki, H. Ise, U. Ikeda.	Therapeutic potential of endothelial progenitor cells for ischemic cardiovascular diseases.	S.G. Pandalai	Recent Res Devl Physiol 2	Research Signpost	Kerala	2004	283-294

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ise H, Nikaido T, Negishi N, Sugihara N, Suzuki F, Akaike T, Ikeda U.	Effective hepatocyte transplantation using rat hepatocytes with low asialoglycoprotein receptor expression.	Am J Pathol	165	501-510	2004
Muroi K, Kawano-Yamamoto C, Nagashima T, Mori M, Ozawa K, Matsui K, Murakami Y, Ikeda U.	Analysis of hematopoietic progenitors in bone marrow from patients with peripheral artery disease.	Leuk Res	28	999-1000	2004
Eizawa T, Ikeda U, Murakami Y, Matsui K, Yoshioka T, Suzuki C, Takahashi M, Muroi K, Kamisawa O, Fuse K, Shimada K.	Increase in circulating endothelial progenitor cells after aortic aneurysm repair.	Heart Vessels	19	107-110	2004
Eizawa T, Ikeda U, Murakami Y, Matsui K,	Decrease in circulating endothelial progenitor cells in patients with stable coronary artery disease.	Heart	90	685-686	2004

Yoshioka T, Takahashi M, Muroi K, Shimada K.					
Eisawa T, Murakami,Y Matsui K, Takahashi M, Muroi K, Amemiya M, Takano R, Kusano E, Shimada K, Ikeda, U	Circulating endothelial progenitor cells are reduced in hemodialysis patients.	Curr Med Res Opin	19	627-633	2003
Matusi K, Ikeda U, Murakami Y, Yoshioka T, Muroi K, Kasuda H, Shimpo M, Takahashi M, Tbei H, Kamisawa O, Takeuchi K, Ozawa K, Shimada K.	Therapeutic angiogenesis by transplantation of autologous bone marrow and peripheral blood mononuclear cells in patients with peripheral arterial disease.	Int J Angiol	12	155-161	2003
Matsui K, Ikeda, U, Murakami Y, Yoshioka T, Shimada K	Intravenous prostaglandin E1 reduces monocyte chemoattractant protein-1 levels in peripheral arterial disease.	Am Heart J	145	330-333	2003
Matsui K, Yoshioka T, Murakami Y, Takahashi M, Shimada K, Ikeda, U	Serum concentration of vascular endothelial growth factor ad monocyte-colony stimulating factor in peripheral arterial disease.	Circ J	67	660-662	2003
Irie H, Okigaki M, Zen K, Takamiya M, Takahashi T, Azuma A, Tatsumi T, Matsubara H.	Carbon dioxide-rich water bathing enhances collateral blood flow in ischemic hindlimb via mobilization of endothelial progenitor cells and activation of NO-cGMP system.	Circulation	111	1523-1529	2005
Amano K, Okigaki M, Adachi Y, Fujiyama S, Mori Y, Kosaki A, Iwasaka T, Matsubara H.	Mechanism for IL-1 beta-mediated neovascularization unmasked by IL-1 beta knock-out mice.	J Mol Cell Cardiol	36	469-480	2004
Matsubara H.	Risk to the coronary arteries of intracoronary stem cell infusion and G-CSF cytokine therapy.	Lancet	363	746-747	2004
Fujiyama S, Amano K, Uehira K, Yoshida M, Nishiwaki Y, Nozawa Y, Jin D, Takai S, Miyazaki M, Egashira K, Imada T,	Bone marrow monocyte lineage cells adhere on injured endothelium in a monocyte chemoattractant protein-1-dependent manner and accelerate reendothelialization as endothelial progenitor cells.	Circ Res.	93	980-989	2003

Iwasaka T, Matsubara H.					
Kyoi S, Otani H, Sumida T, Okada T, Osako M, Imamura H, Kamihata H, Matsubara H Iwasaka T.	Loss of intracellular dystrophin: a potential mechanism for myocardial reperfusion injury.	Circ J	67	725-727	2003
Amano K, Matsubara H, Iba O, Okigaki M, Fujiyama S, Imada T, Kojima H, Nozawa Y, Kawashima S, Yokoyama M, Iwasaka T.	Enhancement of ischemia-induced angiogenesis by eNOS overexpression.	Hypertension	41	156-162	2003
Numaguchi Y, Okumura K, Harada M, Naruse K, Yamada M, Osanai H, Matsui H, Ito M, Murohara T	Catheter-based prostacyclin synthase gene transfer prevents in-stent restenosis in rabbit atheromatous arteries.	Cardiovasc. Res	61	177-185	2004
Murohara T.	Therapeutic angiogenesis: Cellular approach from bone marrow, cord blood and peripheral blood.	Int Congress Series	1262	332-338	2004
Higashi Y, Kimura M, Hara K, Noma K, Jituiki D, Nakagawa K, Oshima T, Chayama K, Goto C, Matsubara H, Murohara T, Yoshizumi M	Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation improves endothelium-dependent vasodilation in patients with limb ischemia.	Circulation	109	1215-1218	2004
Choi JH, Hur J, Yoon CH, Kim JH, Lee CS, Youn SW, Oh IY, Skurk C, Murohara T, Park YB, Walsh K, Kim HS.	Augmentation of therapeutic angiogenesis using genetically-modified human endothelial progenitor cells with altered glycogen synthase kinase-3b activity.	J Biol Chem	279	49430-49438	2004
Niiyama H, Kai H, Yamamoto T, Shimada T, Sasaki K, Murohara T, Egashira K, Imaizumi T.	Roles of endogenous monocyte chemoattractant protein-1 in ischemia-induced neovascularization.	Am Coll Cardiol	44	661-666	2004
Yamamoto K, Kondo T, Suzuki S, Izawa H, Kobayashi M, Emi N, Komori K, Naoe T, Takamatsu J, Murohara T.	Molecular evaluation of endothelial progenitor cells in patients with ischemic limbs: therapeutic effect by stem cell transplantation.	Arterioscler Throm Vasc Biol	24	e192-196	2004
Aoki M, Yasutake M,	Derivation of functional	StemCells	22	994-1002	2004

Murohara T.	endothelial progenitor cells from human umbilical cord blood mononuclear cells isolated by a novel cell filtration device.				
Kondo T, Kobayashi K, Murohara T.	Nitric oxide signaling during myocardial angiogenesis.	Mol Cell Biochem	264	25-34	2004
Sasaki K, Duan J, Murohara T, Ikeda H, Shintani S, Shimada T, Akita T, Egami K, Imaizumi T:	Rescue of hypercholesterolemia-related impairment of angiogenesis by oral folate supplementation.	J Am Coll Cardiol	42	364-372	2003
Egami K, Murohara T, Shimada T, Sasaki K, Shintani S, Sugaya T, Ishii M, Akagi T, Ikeda H, Matsuishi T, Imaizumi T	Role of host angiotensin II type 1 receptor in tumor angiogenesis and growth.	J Clin Invest	112	67-75	2003
Akita T, Murohara T, Ikeda H, Sasaki K, Shimada T, Egami K, Imaizumi T	Hypoxic preconditioning augments efficacy of human endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization.	Lab Invest	83	65-73	2003
Yamaura K, Ito K, Tsukioka K, Wada Y, Makiuchi A, Sakaguchi M, Akashima T, Fujimori M, Sawa Y, Morishita R, Matsumoto K, Nakamura T, Suzuki J, Amano J, Isobe M	Suppression of acute and chronic rejection by hepatocyte growth factor in a murine model of cardiac transplantation: Induction of tolerance and prevention of cardiac allograft vasculopathy.	Circulation	110	1650-1657	2004
H. Shimizu, M. Takahashi, T. Kaneko, T. Murakami, Y. Hakamata, S. Kudou, T. Kishi, K. Fukuchi, S.Iwanami, K.Kuriyama, T. Yasue, S. Enosawa, K. Matsumoto, I. Takeyoshi, Y. Morishita, E.Kobayashi	KRP-203, a novel synthetic immunosuppressant, prolongs graft survival and attenuates chronic rejection in rat skin and heart allografts.	Circulation	111	222-229	2005