

良くなるわけではないので、再発等の長期予後に関しては、まったく不明である。

従来の治療は、まったく無効で、もし血管再生療法を行わなければ、major amputationとなった症例を、minor amputationで回避でき、独歩退院でき、1年11ヶ月、11ヶ月悪化を認めないような治療をできた血管再生療法は、すばらしい治療である。

ただし、わずか2例であるので、長期予後を含め今後の研究が必要である。

結語

1. 自己骨髄幹細胞移植による血管再生療法は、閉塞性動脈硬化症、バージャー病だけでなく、膠原病、外傷性による末梢血行障害に対しても有効であることが示唆された。
2. 自己骨髄幹細胞移植による血管再生療法は、他に治療法が無い末梢血行障害に対して、非常に有効であった。

文献

1. Asahara T, Murihara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schattman G, Isner JM: Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 275:964-967, 1997
2. Murohara T, Ikeda H, Duan J, Shintani S, Sasaki K, Eguchi H, Onitsuka I, matsui K, Imaizumi T: Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *J Clin Invest* 105:1527-1536, 2000
3. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Sasaki K, Duan J, Imaizumi T: Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation. *Circulation* 103:897-903, 2001
4. Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, Amano K, Kishimoto Y, Yoshimoto K, Akashi H, Shimada K, Iwasaka T, Imaizumi T, Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation (TACT) Study Investigators. Therapeutic angiogenesis for

patients with limb ischemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 360:427-435, 2002

「骨髄幹細胞移植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」

骨髄幹細胞移植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 サイトカインを用いた骨髄幹細胞動員による血管修復療法の検討

分担研究者 高橋将文

研究協力者 吉岡 徹、柴 祐司

信州大学大学院医学系研究科 臓器発生制御医学講座

【研究要旨】

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) およびマクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF) 投与による傷害血管に対する血管修復作用を検討した。C57BL/6マウスの大腿動脈にワイヤー傷害を作製し、G-CSFあるいはM-CSFを皮下投与して、傷害血管の再内皮化や新生内膜形成、動員骨髄細胞について評価した。G-CSFの投与により末梢血中の血管内皮前駆細胞 (EPC: CD34⁺/Flk-1⁺) が増加すること、傷害血管の再内皮化が促進すること、さらには新生内膜の形成が有意に抑制されることが明らかとなった。骨髄由来EPCの関与を評価するため、マーカー遺伝子 (GFPおよびTie2/LacZ) 導入マウスの骨髄細胞をwild-typeマウスに骨髄移植したキメラマウスを作製して検討したところ、骨髄由来のEPCの関与は非常に少ないことが示された。さらに、G-CSFの投与により血管新生抑制作用の報告されているInterleukin (IL) -6およびIL-12の血清濃度の低下が認められた。これらより、G-CSFが血管傷害後の再内皮化を促進して新生内膜の形成を抑制することが明らかとなり、G-CSFを用いた血管修復療法の可能性が示された。一方、M-CSFは血管傷害後早期の新生内膜形成を有意に促進させた。M-CSFは骨髄からのEPCの動員には影響せず、末梢血中のCXCR4と呼ばれるケモカイン受容体を発現する細胞を有意に増加させた。血管傷害部位ではCXCR4の

リガンドであるStromal-derived cell factor-1 (SDF-1) が強く発現しており、このSDF-1とCXCR4の相互作用により傷害後の新生内膜形成が促進されることを明らかとした。今後、サイトカインや薬剤を用いた骨髄幹細胞動員療法の臨床応用にはより詳細な機序の解明や条件検討が必要であると考えられる。

【はじめに】

近年、幹細胞移植による心血管再生療法が研究・臨床応用されてきている。特に、血管分野における再生医療の発展は著しく、重症虚血に対する骨髄幹細胞を用いた血管再生療法は、現在数多くの施設で行われている。この治療法は、国内の多施設共同研究TACT-1 (Therapeutic Angiogenesis by Cell Transplantation) によって、その有効性と安全性が報告され、2003年には閉塞性動脈硬化症およびパーリネ病に対する高度先進医療として保険認可された。骨髄幹細胞移植を用いた血管新生療法では、自己骨髄細胞を使用するため免疫学および倫理的問題が少ないという利点があるが、全身麻酔下で400-600mLの骨髄液を採取する必要があることから、全身状態の不良な患者や高齢者などではその適応に限界があり、また、再移植における安全性も確立されていない。このような問題点の克服と、患者さんにより優しい治療法の一つとして、サイトカインや薬剤を投与して骨髄幹細

胞を末梢血中へと動員する治療法が研究されている。本研究では、骨髄から白血球を末梢血へと動員し、現在すでに臨床で白血球減少症などの治療に使用されている顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF: Granulocyte Colony-stimulating Factor）およびマクロファージコロニー刺激因子（M-CSF: Macrophage Colony-stimulating Factor）に注目し、マウス血管傷害モデルでの再内皮化および新生内膜形成へのこれらサイトカインの影響を検討した。血管傷害は、動脈硬化や血栓症をはじめとした様々な心血管疾患の基本となる病態であることから、本研究で得られた知見は、今後の血管修復療法の確立に有用であると考えられる。

実験1：血管傷害モデルにおけるG-CSFの作用

【方法と結果】

1. 実験プロトコール

C57BL/6（♂、8-12週齢）マウスの右大腿動脈に、佐田らの方法に従ってワイヤー（0.38-mm, C-SF-15-15, Cook）を用いた血管傷害モデルを作製した。マウスは、以下の3群に分けて検討した。（1）vehicle群：血管傷害後から生理食塩水を10日間連続して皮下投与、（2）G-CSF-posttreated群：G-CSF 100 μ g/kg/dayを血管

傷害後から10日間連続して皮下投与、（3）G-CSF-pretreated群：G-CSF 100 μ g/kg/dayを血管傷害4日前から10日間連続して皮下投与した。血管の内皮化の程度はCD31に対する免疫染色により検討した。末梢血中のCD34⁺細胞およびFlk-1⁺細胞は、FACSにより検出した。また、骨髄由来細胞の役割を検討するため、9Gyの放射線照射したwild-typeマウスにマーカー遺伝子導入マウスであるGFPマウス（大阪大学・岡部勝教授より供与）およびTie2/LacZマウスの骨髄細胞を移植して検討した。骨髄移植後のキメラ率は、>95%であった。

2. 血管傷害後の新生内膜形成に対するG-CSFの影響

まず、傷害21日後の傷害血管における新生内膜形成の程度を検討したところ、vehicle群と比較してG-CSF-pretreated群では有意な新生内膜面積の減少が観察された（図1 A-D）。一方、G-CSF-posttreated群でもvehicle群と比較して有意ではないが新生内膜面積は小さい傾向にあった。同様に内腔面積においても、vehicle群と比較してG-CSF-pretreated群では有意に大きく、G-CSF-posttreated群でも大きい傾向にあった（図1E）。

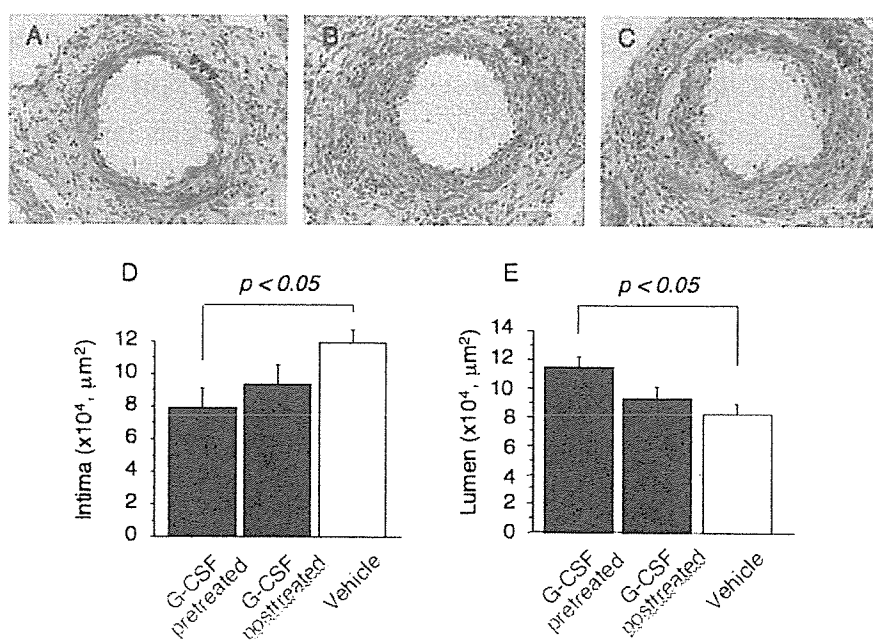


図1 血管傷害後の内膜肥厚に対するG-CSFの効果

3. 傷害血管の再内皮化に対するG-CSFの影響

血管内皮細胞は、血管壁と血液細胞との境界に存在し、血管の恒常性の維持に重要な役割を果たしており、血管内皮の傷害とその後の再内皮化は、血管の修復や内膜肥厚の形成の決定要因ともなっている。そこで、血管傷害後の経時的な再内皮化について、CD31の免疫染色法により検討した。vehicle群と比較して、G-CSF投与群では傷害血管における再内皮化の有意な促進が認められた(図2)。

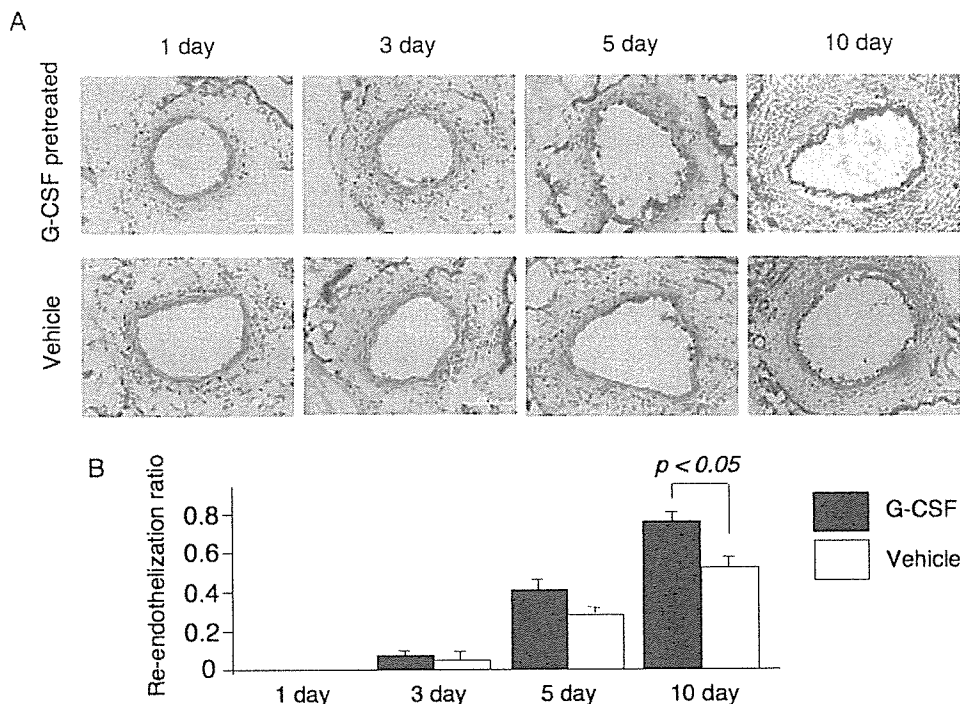


図2 G-CSF投与による再内皮化促進作用

4. 末梢血中EPCに対するG-CSFの影響

G-CSF投与による血管内皮前駆細胞 (Endothelial Progenitor Cell: EPC) の骨髄からの動員についてFACSを用いて検討した。EPCとしては、CD34⁺細胞数、Flk-1⁺細胞数、そしてCD34⁺/Flk-1⁺細胞数を検討した。G-CSF投与によりCD34⁺、Flk-1⁺、CD34⁺/Flk-1⁺細胞数はそれぞれ有意に増加していた(図3)。

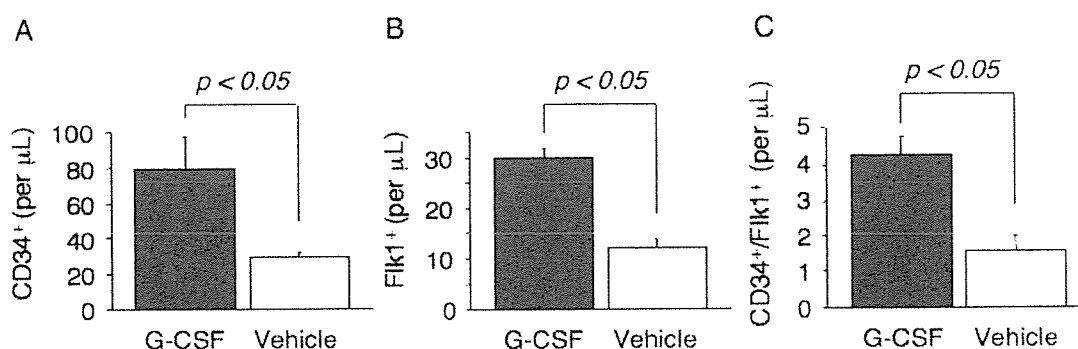


図3 G-CSF投与による末梢血中EPC数の変化

5. 骨髄移植モデルを用いた血管傷害部位でのEPCの検討

血管傷害後の再内皮化および新生内膜形成における骨髄由来EPCの関与を検討するため、全身にGFPを発現するGFPマウスの骨髄細胞をwild-typeマウスへと移植して、骨髄由来細胞のみがGFPを発現するキメラマウスを作製して検討した。GFPの発現は、蛍光観察のみでは自家蛍光により偽陽性を示す可能性があることから、抗GFP抗体を用いた免疫染色法により行った。傷害血管の外膜および新生内膜部位でGFP陽性の炎症細胞は多く認められたが、CD31染色と重なる骨髄由来のEPCはほとんど認められなかった。さらに、血管内皮特異的なTie2プロモーター下にLacZ (β -galactosidase)を発現するTie2/LacZマウスの骨髄細胞をwild-typeマウスへと移植して、骨髄由来細胞で血管内皮細胞に分化した細胞のみがLacZを発現するキメラマウスを作製して検討した。LacZの発現は、X-gal染色および β -galactosidaseに対する抗体を用いた免疫染色法により行った。GFP骨髄移植マウスでの検討と同様に、再内皮化部位においてはLacZを発現する細胞はほんの少ししか認められず、vehicle群とG-CSF投与群とで差を認めなかった (図4)。

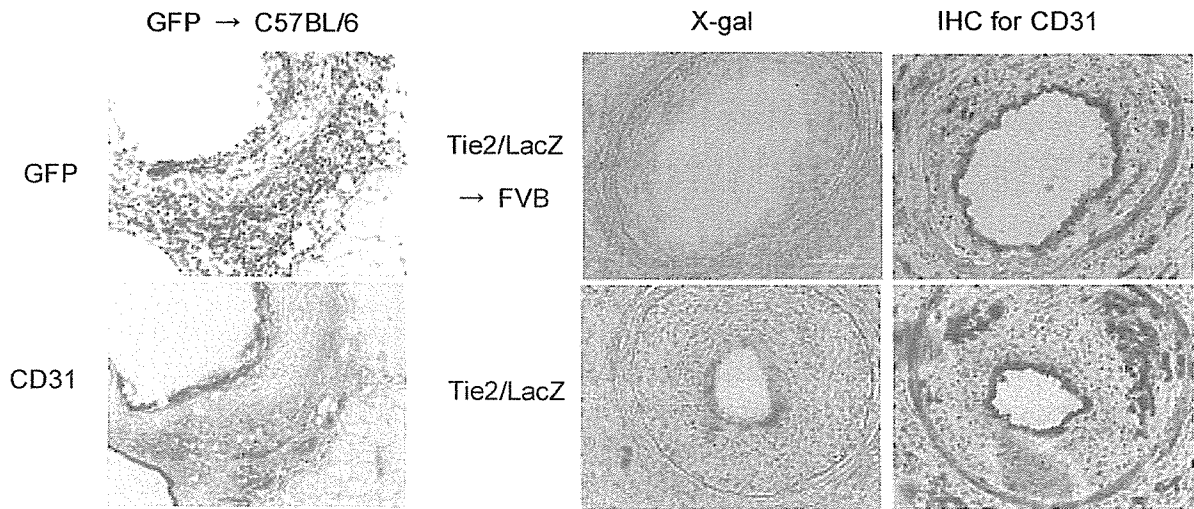


図4 骨髄移植モデルでの検討

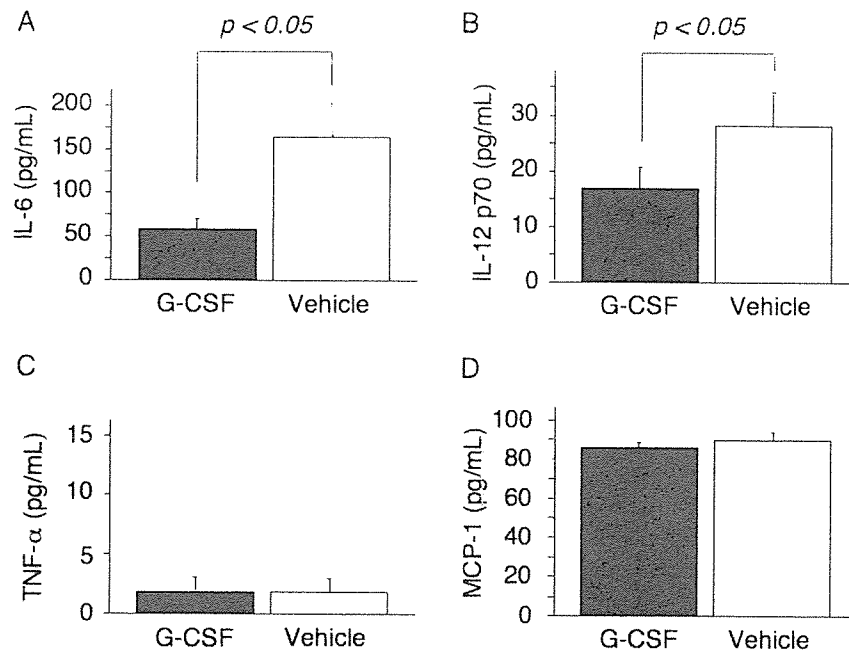


図5 G-CSF投与による血清中サイトカイン濃度の変化

6. 血清中サイトカインに対するG-CSFの影響
 G-CSF投与による効果でのEPC以外の機序を検討するため、G-CSF投与による血清中サイトカイン(IL-6、IL-12p70、TNF- α 、MCP-1)濃度を測定した。G-CSF投与によって血清中TNF- α とMCP-1濃度は変化を認めなかったが、IL-6およびIL-12p70濃度の有意な低下が認められた(図5)。

実験2：血管傷害モデルにおけるM-CSFの作用
【方法と結果】

1. 実験プロトコル

C57BL/6 (♂、8-12週齢) マウスの脾臓を摘出し、2週間後にG-CSFでの実験プロトコルと同様の方法で血管傷害モデルを作製した。マウスは、以下の2群に分けて検討した。(1) vehicle群：血管傷害後から生理食塩水を10日間連続して皮下投与、(2) M-CSF群：G-CSF 500 μ g/kg/dayを血管傷害4日前から10日間連続して皮下投与した。

その他の実験方法はG-CSFと同様に行った。

2. 血管傷害後の新生内膜形成に対するM-CSFの影響

まず、傷害7日、14日、21日後の傷害血管における新生内膜形成の程度を検討した。傷害21日後の新生内膜の程度は、vehicle群とM-CSF群に違いを認めなかったが、傷害7日後ではM-CSF群で著明に新生内膜形成が促進していた

(図6)。これを定量化して内膜面積/中膜面積比(I/M比)を測定したところ、傷害7日後ではM-CSF群で有意に新生内膜形成が促進されていることが明らかとなった。このことから、以下の研究では、M-CSFによる血管傷害後早期(7日後)の新生内膜形成における機序について検討を行った。

3. 新生内膜における細胞構成と再内皮化に対するM-CSFの影響

新生内膜における血管内皮細胞、マクロファージ、血管平滑筋細胞をそれぞれCD31、F4/80、 α -SMAの免疫染色により評価した。Vehicle群での新生内膜病変は、内腔面が血管内皮細胞で覆われ、血管平滑筋細胞とマクロファージの混在する病変像を呈していた。この細胞構成は、M-CSF群でも特に違いを認めなかった。さらに、血管傷害4日と7日後の再内皮化についても定量化して評価したが、vehicle群とM-CSF群では有意な差を認めなかった(図7)。

4. 骨髄細胞の動員に対するM-CSFの影響

M-CSF投与によって形成される新生内膜の細胞が骨髄由来かどうかを検討するため、全身にLacZを発現するROSA26マウスの骨髄細胞をwild-typeマウスへと移植して、骨髄由来細胞のみがLacZを発現するキメラマウスを作製して検討したところ、M-CSFによって形成された新生内膜はほとんどLacZ陽性であり、新生内膜を形

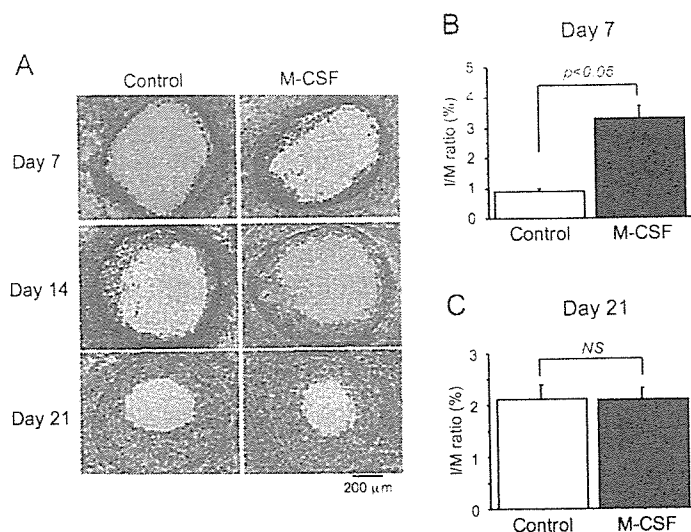


図6 血管傷害後の新生内膜形成に対するM-CSFの影響

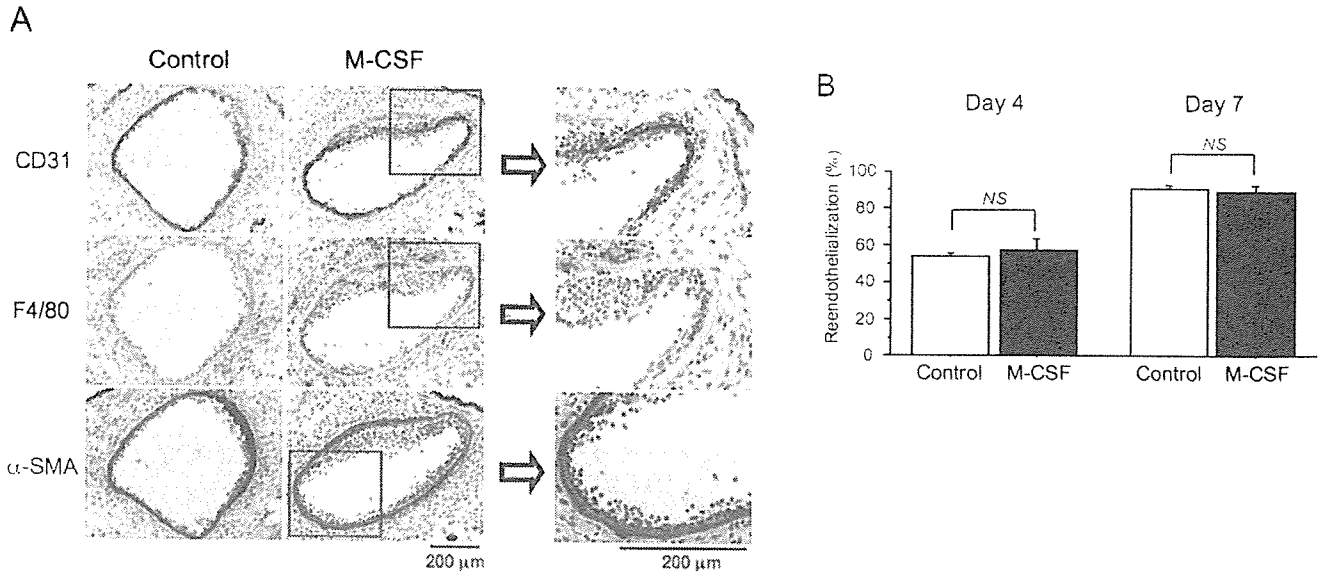


図7 新生内膜における細胞構成と再内皮化に対するM-CSFの影響

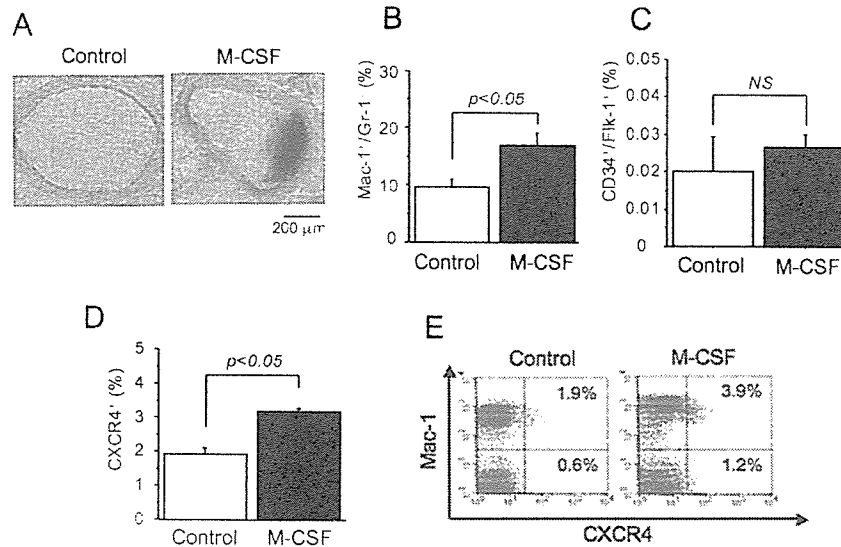


図8 骨髄細胞の動員に対するM-CSFの影響

成する細胞の多くが骨髄由来であることが明らかとなった (図8). さらに、M-CSFによる骨髄細胞の動員についてFACSを用いて検討した。予想されたように、M-CSFは単球系細胞 (Mac-1⁺/Gr-1⁻) を骨髄から末梢血中へと動員したが、EPC (CD34⁺/Fik-1⁺) の動員には影響しなかった (図8)。興味深いことに、M-CSFは骨髄からのCXCR4⁺細胞を有意に末梢血中へと動員することが明らかとなった。さらに、このCXCR4⁺細胞の多くはMac-1も発現していることが明らかとなった。

5. 傷害血管におけるSDF-1およびCXCR4の発現

CXCR4はケモカイン受容体であり、そのリガンドはstromal cell-derived factor-1 (SDF-1) である。そこで、傷害血管におけるSDF-1の発現を免疫染色法で検討した。正常血管では、ほとんどSDF-1の発現は認められなかったが、傷害により中膜において著明にSDF-1の発現が亢進することが明らかとなった (図9A)。また、M-CSFはこのSDF-1の発現の程度には影響を与えなかった (図9B)。さらに同一切片上でSDF-1

とCXCR4の発現を蛍光免疫染色法で見たとこ
 ろ、SDF-1は新生内膜の一部と中膜に発現が認められ、CXCR4は新生内膜部位に発現が認められた(図9C)。このことから、傷害によって発現が亢進したSDF-1が、M-CSFによって末梢血中に動員されたCXCR4⁺細胞と相互作用をして新生内膜を形成することが示唆された。

6. 新生内膜形成におけるCXCR4阻害剤の効果
 M-CSFによる新生内膜形成におけるSDF-1-

CXCR4システムの役割を検討するため、CXCR4阻害薬であるAMD3100 (300 μ g/kg/hr)を浸透圧ミニポンプで血管傷害直後のマウスに持続投与して検討を行った。AMD3100の投与はvehicle群では特に影響を与えなかったが、M-CSF群における新生内膜形成を有意に抑制した(図10AとB)。また、AMD3100投与により新生内膜部位におけるCXCR4細胞も減少した。さらに、AMD3100は骨髄からのEPCの動員を刺激して末梢血中のEPCを増加させる作用が報告

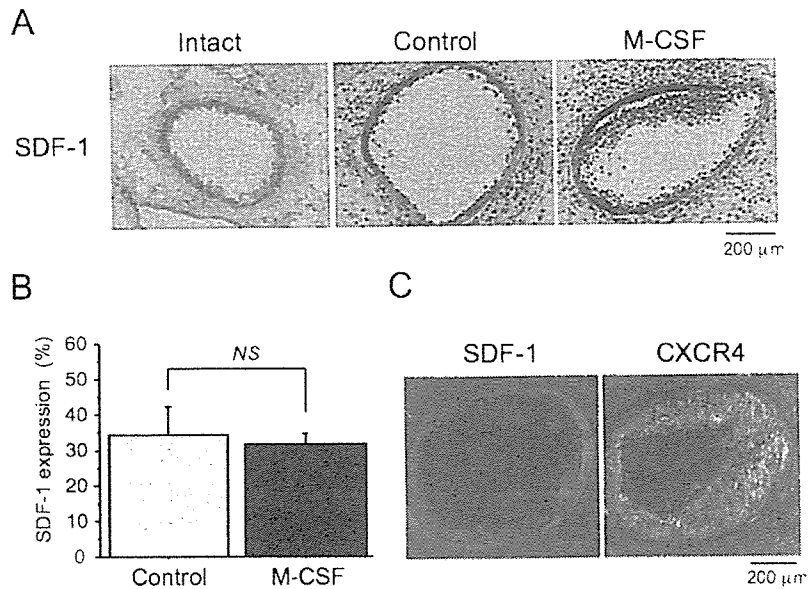


図9 傷害血管におけるSDF-1およびCXCR4の発現

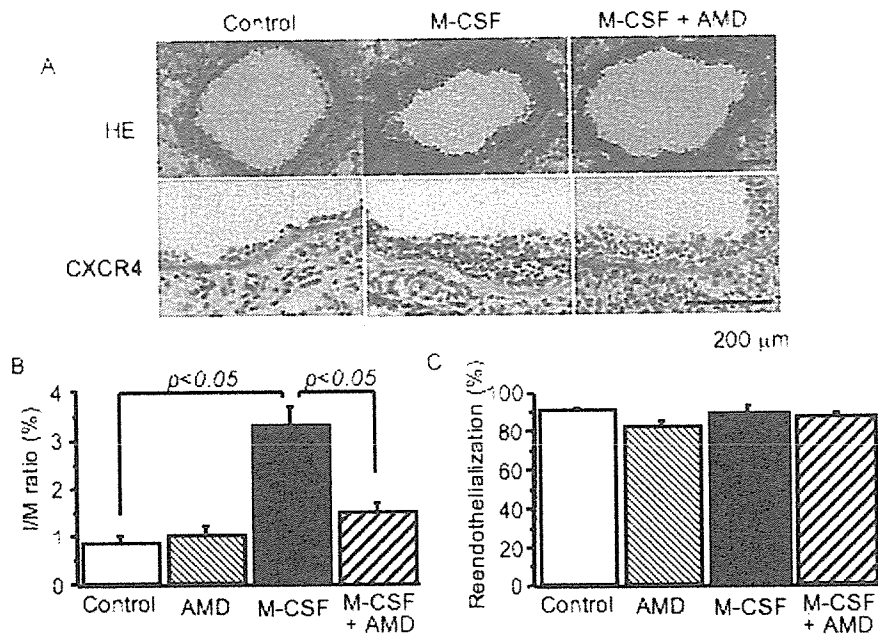


図10 新生内膜形成と再内皮化におけるCXCR4阻害剤の効果

されていることから、CD31の免疫染色法により傷害血管の再内皮化を検討したが、AMD3100の投与は再内皮化には影響を与えなかった(図10C)。

【考 察】

本研究により、G-CSFによる血管傷害後の再内皮化の促進および新生内膜形成の抑制作用が明らかとなった。また、G-CSFにより骨髄由来EPCは有意に増加するが、再内皮化部位へのEPCの集簇は非常に少ないことから、その作用機序にはEPCを介した以外の作用があることが示唆された。この点に関して、G-CSFがIL-6やIL-12といった血管新生抑制作用が報告されているサイトカインの血清濃度を抑制することも明らかとした。一方、G-CSFは血管内皮細胞の増殖を直接亢進するとの報告もあることから、G-CSFの直接・間接作用により再内皮化の促進と新生内膜形成の抑制が引き起こされ可能性が考えられた。一方、主として単球系細胞に作用するM-CSFは骨髄由来EPCを増加させず、CXCR4⁺細胞を増加させることが明らかとなった。最近、一部のEPCは単球系細胞に由来するとの報告がなされており、その表面マーカーも本研究で検討したCD34⁺/Flk-1⁺とは異なっている可能性がある。しかし、実際の再内皮化においてもM-CSFは有意な作用を示さなかったことから、M-CSFはEPCおよび傷害血管の再内皮化にはあまり機能していないと考えられた。また、CXCR4のリガンドであるSDF-1が傷害血管で著明に発現していることから、このSDF-1とCXCR4との相互作用によって新生内膜形成が誘導されることが示唆された。これらよりSDF-1-CXCR4システムが心血管疾患の治療標的の一つとなる可能性が示された。

近年、骨髄細胞に血管などに分化する幹細胞が多く含まれることが明らかとされ、これを利用した骨髄細胞移植による血管新生療法が臨床応用されてきている。この治療法の作用機序に関しても、単に骨髄由来EPCからの血管新生のみならず、本研究と同様に骨髄細胞から産生される血管新生因子の重要性が指摘されており、

その作用機序に関してはさらなる研究が必要である。本研究により、G-CSFによる傷害血管への血管修復作用が示されたことから、今後の臨床応用に向けて中・大動物での有効性および安全性についての検討が必要と考えられる。一方、M-CSFは傷害血管の再内皮化には影響を与えず、逆に新生内膜形成を促進することが明らかとなった。このことは、ある種の骨髄細胞は血管新生よりも動脈硬化様の内膜肥厚に寄与していることを示している。今後、サイトカインや薬剤を用いた骨髄幹細胞動員療法の臨床応用にはより詳細な機序の解明や条件検討が必要であると考えられる。

【発表論文】

1. Yoshioka T, Takahashi M, Shiba Y, Suzuki C, Morimoto H, Izawa A, Ise H, Ikeda U. Granulocyte colony-stimulating factor accelerates reendothelialization and reduces neointimal formation after vascular injury in mice. *Cardiovasc Res* 70: 61-69, 2006
2. Shiba Y, Takahashi M, Yoshioka T, Yajima N, Morimoto H, Izawa A, Ise H, Hatake K, Motoyoshi K, Ikeda U. M-CSF accelerates neointimal formation in the early phase after vascular injury in mice: The critical role of the SDF-1-CXCR4 system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27: 283-289, 2007

研究成果の刊行に関する一覧表

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	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shiba Y, Takahashi M, Yoshioka T, Yajima N, Morimoto H, Izawa A, Ise H, Hatake K, Motoyoshi K, Ikeda U.	M-CSF accelerates neointimal formation in the early phase after vascular injury in mice: The critical role of the SDF-1-CXCR4 system.	<i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i>	27	283-289	2007
Kajiguchi M, Kondo T, Izawa H, Kobayashi K, Yamamoto K, Shintani S, Numaguchi Y, Naoe T, Takamatsu J, Komori K, Murohara T.	Safety and Efficacy of autologous progenitor cell transplantation for therapeutic angiogenesis in patients with critical limb ischemia.	<i>Circ J</i>	71	196-201	2007
Kirino Y, Takeno M, Murakami S, Kobayashi M, Kobayashi H, Miura K, Idecuchi H, Ohno S, Ueda A, Ishigatsubo Y.	Tumor necrosis factor-alpha accelerates inflammatory responses by down regulating heme oxygenase-1 in human peripheral monocytes.	<i>Arthritis Rheum</i>	56	464-475	2007
Tara Shuhei, Miyamoto Masaaki, Asoh Sadamitsu, Ishii Norie.	Transduction of the anti-apoptotic PTD-FNK protein improves the efficiency of transplantation of bone marrow mononuclear	<i>J Mol Cell Cardiol</i>	42	489-497	2007
Hirose S, Takahashi M, Ogawa R, Morimoto H, Izawa A, Sato H, Ise H, Hongo M, Ikeda U.	Erythropoietin attenuates the development of experimental autoimmune myocarditis.	<i>Cardiovasc Drug Ther</i>	21	17-27	2007
Koshikawa M, Shimodaira S, Yoshioka T, Kasai H, Watanabe N, Wada Y, Seto T, Fukui D, Amano J, Ikeda U.	Therapeutic angiogenesis by bone marrow implantation for critical hand ischemia in patients with peripheral arterial disease: a pilot study.	<i>Curr Med Res Opin</i>	22	793-798	2006
Morimoto H, Takahashi M, Izawa A, Ise H, Hongo M, Kolattukudy PK, Ikeda U.	Cardiac overexpression of MCP-1 in transgenic mice prevents cardiac dysfunction and remodeling after myocardial infarction.	<i>Circ Res</i>	99	891-899	2006
Suzuki C, Takahashi M, Morimoto H, Izawa A, Ise H, Hongo M, Hoshikawa Y, Ito T, Miyashita H, Kobayashi E, Shimada K, Ikeda U.	Mycophenolate mofetil attenuates pulmonary arterial hypertension in rats.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	349	781-788	2006
Misawa R, Ise H, Takahashi M, Morimoto H, Kobayashi E, Miyagawa S, Ikeda U.	Development of liver regenerative therapy using glycoside-modified bone marrow cells.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	342	434-440	2006
Suzuki C, Takahashi M, Morimoto H, Izawa A, Ise H, Fujishiro J, Murakami T, Ishiyama J, Nakada A, Nakayama J, Shimada K, Ikeda U, Kobayashi E.	Efficacy of Mycophenolic Acid Combined With KRP-203, a Novel Immunomodulator, in a Rat Heart Transplantation Model.	<i>J Heart Lung Transpl</i>	25	302-309	2006
Yoshioka T, Takahashi M, Shiba Y, Suzuki C,	G-CSF accelerates reendothelialization and	<i>Cardiovasc Res</i>	70	61-69	2006

Morimoto H, Izawa A, Ise H, Ikeda U.	reduces neointimal formation after vascular injury in mice.				
Jia L, Takahashi M, Yoshioka T, Morimoto H, Ise H, Ikeda U.	Therapeutic potential of endothelial progenitor cells for cardiovascular diseases.	<i>Current Vascular Pharmacology</i>	4	59-65	2006
Aizawa K, Hanaoka T, Kasai H, Kogashi K, Kumazaki S, Koyama J, Tsutsui H, Yazaki Y, Watanabe N, Kinoshita O, Ikeda U.	Long-term vardenafil therapy improves hemodynamics in patients with pulmonary hypertension.	<i>Hypertens Res</i>	29	123-128	2006
Izawa A, Sano K, Takehara M, Inobe M, Suzuki J, Imamura H, Takahashi M, Ikeda U, Isoe M, Uede T.	Cre/loxP-mediated CTLA4IgG gene transfer induces clinically relevant immunosuppression via on-off gene recombination in vivo.	<i>Cardiovasc Res</i>	69	289-297	2006
Takamiya M, Okigaki M, Jin D, Takai S, Nozawa Y, Adachi Y, Urao N, Tateishi K, Nomura T, Zen K, Ashihara E, Miyazaki M, Tatsumi T, Takahashi T, Matsubara H.	Granulocyte colony-stimulating factor-mobilized circulating c-Kit+/Flk-1+ progenitor cells regenerate endothelium and inhibit neointimal hyperplasia After vascular injury.	<i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i>	26	751-757	2006
Nishikawa S, Tatsumi T, Shiraishi J, Matsunaga S, Takeda M, Mano A, Kobara M, Keira N, Okigaki M, Takahashi T, Matsubara H.	Nicorandil regulates Bcl-2 family proteins and protects cardiac myocytes against hypoxia-induced apoptosis.	<i>J Mol Cell Cardiol</i>	40	510-519	2006
Voros S, Yang Z, Bove CM, Gilson WD, Epstein FH, French BA, Berr SS, Bishop SP, Conaway MR, Matsubara H, Carey RM, Kramer CM.	Interaction between AT1 and AT2 receptors during postinfarction left ventricular remodeling.	<i>Am J Physiol Heart Circ Physiol</i>	290	1004-1010	2006
Numaguchi Y, Sone T, Okumura K, Morita Y, Kubota R, Yokouchi K, Imai H, Harada M, Kondo T, Murohara T.	The impact of the capability of circulating progenitor cell to differentiate on myocardial salvage in patients with primary acute myocardial infarction.	<i>Circulation</i>	114	114-119	2006
Yokoyama S, Fukuda N, Li Y, Hagikura K, Takayama T, Kunimoto S, Honye J, Saito S, Wada M, Satomi A, Kato M, Mugishima H, Kusumi Y, Mitsumata M, Murohara T.	A strategy of retrograde injection of bone marrow mononuclear cells into the myocardium for the treatment of ischemic heart disease.	<i>J Mol Cell Cardiol</i>	40	24-34	2006
Egami K, Murohara T, Aoki M, Matsuishi T.	Ischemia-induced angiogenesis: role of inflammatory response mediated by P-selectin.	<i>J Leukoc Biol</i>	79	971-976	2006
Kobayashi K, Kondo T, Inoue N, Aoki M, Mizuno M, Komori K, Yoshida J, Murohara T.	Combination therapy using angiopoietin-1 plasmid gene and autologous bone marrow cell implantation promotes functional angiogenesis.	<i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i>	26	1465-1472	2006

Otsuka H, Akashi H, Murohara T, Okazaki T, Shintani S, Tayama K, Sasaki K, Imaizumi T, Aoyagi S.	The prostacyclin analog, beraprost sodium, augments the efficacy of therapeutic angiogenesis induced by autologous bone marrow cells.	<i>Ann Vasc Surg</i>	20	646-652	2006
Kim W, Jeong MH, Cho SH, Yun JH, Chae HJ, Ahn YK, Lee MC, Cheng X, Kondo T, Murohara T, Kang JC.	Effect of green tea consumption on endothelial function and circulating endothelial progenitor cells in chronic smokers.	<i>Circ J</i>	70	1052-1057	2006
Izawa H, Kondo T, Usui A, Yamamoto K, Shintani S, Inden Y, Isobe S, Unno K, Kajiguchi M, Noda A, Yokota M, Takamatsu J, Ueda Y, Komori K, Murohara T.	Clinical protocol: Angiogenesis by intramyocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with severe coronary artery disease. TACT-NAGOYA-HEART.	<i>Circ J</i>	70	1180-1183	2006
Nagashima, T, Okazaki H, Yudoh K, Matsuno H, Minota S.	Apoptosis of rheumatoid synovial cells by statins through the blocking of protein geranylgeranylation: a potential therapeutic approach for rheumatoid arthritis.	<i>Arthritis Rheum</i>	54	579-586	2006
Iikuni N, Okamoto H, Yoshio T, Sato E, Kamitsuji S, Iwamoto T, Momohara S, Taniguchi A, Yamanaka H, Minota S, Kamatani N.	Raised monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1)/CCL2 in cerebrospinal fluid of patients with neuropsychiatric lupus.	<i>Ann Rheum Dis</i>	65	253-256	2006
Ozawa T, Toba K, Kato K, Aizawa Y.	Erythroid cells play essential roles in angiogenesis by bone marrow cell implantation.	<i>J Mol Cell Cardiol.</i>	40	629-638	2006
Mitsuma W, Ito M, Kato K, Toba K, Aizawa Y.	Cardioprotective effects of recombinant human erythropoietin in rats with experimental autoimmune myocarditis.	<i>Biochem Biophys Res Commun.</i>	344	987-994	2006
Gurusamy N, Watanabe K, Aizawa Y.	Glycogen synthase kinase 3beta together with 14-3-3 protein regulates diabetic cardiomyopathy: effect of losartan and tempol.	<i>FEBS Lett.</i>	580	1932-1940	2006
Chang H, Hanawa H, Toba K, Kato K, Aizawa Y.	Hydrodynamic-based delivery of an interleukin-22-Ig fusion gene ameliorates experimental autoimmune myocarditis in rats.	<i>J Immunol.</i>	177	3635-3643	2006
Ramadan MM, Kodama M, Aizawa Y.	Impact of percutaneous coronary intervention on the levels of interleukin-6 and C-reactive protein in the coronary circulation of subjects with coronary artery disease.	<i>Am J Cardiol.</i>	98	915-917	2006
藤本 啓志、宮本 正章、高木 元、山下 照代、水野 博司、小池 幸子、高野 照夫	医療用ウジを用いた多剤耐性緑膿菌 (MDRP) 感染糖尿病性壊疽の治療	<i>糖尿病</i>	49	517	2006

Takahashi M	The role of endothelin-1 in vascular remodeling in vivo.	<i>Cardiovasc Res</i>	71	4-5	2006
Fujishiro J, Suzuki C, Kudoh S, Yasue T, Hakamata Y, Takahashi M, Murakami T, Hashizume K, Kobayashi E.	Change from cyclosporine to combination therapy of mycophenolic acid with the new sphingosine-1-phosphate receptor agonist, KRP-203, prevents host nephrotoxicity and transplant vasculopathy in rats.	<i>J Heart Lung Transpl</i>	25	825-833	2006
Kaneko T, Murakami T, Kawana H, Takahashi M, Yasue T, Kobayashi E.	Shingosine-1-phosphate receptor agonists suppress concanavalin A-induced hepatic injury in mice.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	345	85-92	2006
Sato H, Takahashi M, Ise H, Yamada A, Hirose S, Tagawa Y, Morimoto H, Izawa A, Ikeda U.	Collagen synthesis is required for ascorbic acid-enhanced differentiation of mouse embryonic stem cells into cardiomyocytes.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	342	107-112	2006
Suzuki C, Takahashi M, Morimoto H, Izawa A, Ise H, Fujishiro J, Murakami T, Ishiyama J, Nakada A, Nakayama J, Shimada K, Ikeda U, Kobayashi E.	Efficacy of mycophenolic acid combined with KRP-203, a novel immunomodulator, in a rat heart transplantation model.	<i>J Heart Lung Transpl</i>	25	302-309	2006
Jia L, Takahashi M, Morimoto H, Takahashi S, Izawa A, Ise H, Iwasaki T, Hattori H, Ikeda U.	Changes in cardiac lipid metabolism during sepsis: the essential role of very low-density lipoprotein receptors.	<i>Cardiovasc Res</i>	69	545-555	2006
Suzuki F, Hashikura Y, Ise H, Ishida A, Nakayama J, Takahashi M, Miyagawa S, Ikeda U.	MCI-186 (edaravone), a free radical scavenger, attenuates warm ischemia-reperfusion injury in rats.	<i>Transplant International</i>	18	844-853	2005
Yoshioka T, Ageyama N, Shibata H, Yasu T, Misawa Y, Takeuchi K, Matsui K, Yamamoto K, Terao K, Shimada K, Ikeda U, Ozawa K, Hanazono, Y.	Repair of infarcted myocardium mediated by transplanted bone marrow-derived CD34+ stem cells in a nonhuman primate model.	<i>Stem Cells</i>	23	355-364	2005
Kamiyoshi Y, Takahashi M, Yokoseki O, Yazaki Y, Hirose S, Morimoto H, Watanabe N, Kinoshita O, Hongo M, Ikeda U.	Mycophenolate Mofetil Prevents the Development of Experimental Autoimmune Myocarditis.	<i>J Mol Cell Cardiol</i>	39	467-477	2005
Imada T, Tatsumi T, Mori Y, Nishiue T, Yoshida M, Masaki H, Okigaki M, Kojima H, Nozawa Y, Nishiwaki Y, Nitta N, Iwasaka T, Matsubara H.	Targeted delivery of bone marrow mononuclear cells by ultrasound destruction of microbubbles induces both angiogenesis and arteriogenesis response.	<i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i>	25	2128-2134	2005
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.	<i>Circulation</i>	111	1523-1529	2005

Matsuno K, Yamada H, Iwata K, Jin D, Katsuyama M, Matsuki M, Takai S, Yamanishi K, Miyazaki M, Matsubara H, Yabe-Nishimura C.	Nox1 is involved in angiotensin II-mediated hypertension: a study in Nox1-deficient mice.	<i>Circulation</i>	112	2677-2685	2005
Naruse K, Hamada Y, Nakashima E, Kato K, Mizubayashi R, Kamiya H, Yuzawa Y, Matsuo S, Murohara T, Matsubara T, Oiso Y, Nakamura J.	Therapeutic neovascularization using cord blood-derived endothelial progenitor cells for diabetic neuropathy.	<i>Diabetes</i>	54	1823-1828	2005
Izumi Y, Kim-Mitsuyama S, Yoshiyama M, Omura T, Shiota M, Matsuzawa A, Yukimura T, Murohara T, Takeya M, Ichijo H, Yoshikawa J, Iwao H.	Important role of apoptosis signal-regulating kinase 1 in ischemia-induced angiogenesis.	<i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i>	25	1877-1883	2005
Rookmaaker MB, Verhaar MC, Loomans CJM, Peters E, Murohara T, Staal FJT, van Zonneveld AJ, Koolwijk P, Rabelink TJ, van Hinsbergh VWM.	CD34+ cells home, proliferate and participate in capillary formation and in combination with CD34- cells enhance tube formation in a 3D matrix.	<i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i>	25	1843-1850	2005
Lee M, Aoki M, Kondo T, Okumura K, Komori K, Murohara T.	Therapeutic angiogenesis with intramuscular injection of low dose recombinant granulocyte-colony stimulating factor.	<i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i>	25	2535-2541	2005
Kamata Y, Nara H, Sato H, Masuyama J, Minota S, Yoshio, T.	Effect of steroid pulse therapy on mixed connective tissue disease with pulmonary arterial hypertension.	<i>Ann Rheum Dis</i>	64	1236-1237	2005
福井大祐、天野 純、下平滋隆、池田宇一	四肢虚血性疾患に対する自己骨髄細胞移植とその臨床効果	治療学	39	765-768	2005
Takahashi M, Takahashi S, Suzuki C, Jia L, Morimoto H, Ise H, Iwasaki T, Hattori H, Suzuki J, Miyamori I, Kobayashi E, Ikeda U.	Interleukin-1beta attenuates beta-very low-density lipoprotein uptake and its receptor expression in vascular smooth muscle cells.	<i>J Mol Cell Cardiol</i>	38	637-646	2005
Yamaguchi Y, Kubo T, Murakami T, Takahashi M, Hakamata Y, Kobayashi E, Yoshida S, Hosokawa K, Yoshikawa K, Itami S.	Bone marrow cells differentiate into wound myofibroblasts and accelerate the healing of wounds with exposed bones when combined with an occlusive dressing.	<i>Brit J Dermatol</i>	152	616-622	2005
Shimizu H, Takahashi M, Kaneko T, Murakami T, Hakamata Y, Kudou S, Kishi T, Fukuchi K, Iwanami S, Kuriyama K, Yasue T, Enosawa S, Matsumoto K, Takeyoshi I, Morishita Y, Kobayashi E.	KRP-203, a novel synthetic immunosuppressant, prolongs graft survival and attenuates chronic rejection in rat skin and heart allografts.	<i>Circulation</i>	111	222-229	2005

Takahashi M, Shimizu H, Murakami T, Enosawa S, Suzuki C, Takeno Y, Hakamata Y, Kudou S, Izawa S, Yasue T, Kobayashi E.	A novel immunomodulator KRP-203 combined with cyclosporine a prolonged graft survival and abrogates transplant vasculopathy in rat heart allografts.	<i>Transplant Proc</i>	37	143-145	2005
Sato Y, Matsui K, Ajiki T, Igarashi Y, Takahashi M, Murakami T, Hakamata Y, Tabata Y, Kobayashi E.	Can a bone marrow cell contribute to organ regeneration? In vivo analysis using transgenic rats with reporter genes.	<i>Transplant Proc</i>	37	273-275	2005
Fujishiro J, Takeda S, Takeno Y, Takeuchi K, Ogata Y, Takahashi M, Hakamata Y, Murakami T, Okada T, Ozawa K, Hashizume K, Kobayashi E.	Gene transfer to the rat kidney in vivo and ex vivo using an adenovirus vector: factor influencing transgene expression.	<i>Nephrol Dial Transplant</i>	20	1385-1391	2005
Inoue H, Ohsawa I, Murakami T, Kimura A, Hakamata Y, Sato Y, Kaneko T, Takahashi M, Okada T, Ozawa K, Francis J, Leone P, Kobayashi E.	Development of new inbred transgenic strains of rats with LacZ or GFP.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	329	288-295	2005
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.	<i>Heart Vessels</i>	19	107-110	2004
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.	<i>Heart</i>	90	685-686	2004
Matsunaga T, Maruyama M, Harada E, Katsuyama Y, Sugihara N, Ise H, Negishi N, Ikeda U, Ohmori S.	Expression and induction of CYP3As in human fetal hepatocytes.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	318	428-434	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.	<i>Leuk Res</i>	28	999-1000	2004
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.	<i>Am J Pathol</i>	165	501-510	2004
Ohki-Kaneda R, Ohashi J, Yamamoto K, Ueno S, Ota J, Choi YL, Koinuma K, Yamashita Y, Misawa Y, Fuse K, Ikeda U, Shimada K, Mano H.	Cardiac function-related gene expression profiles in human atrial myocytes.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	320	1328-1336	2004
Ohki R, Yamamoto K, Ueno S, Mano H, Misawa Y, Fuse K, Ikeda U, Shimada K.	Transcriptional profile of genes induced in human atrial myocardium with pressure overload.	<i>Int J Cardiol</i>	96	381-387	2004

Tatsumi T, Akashi K, Keira N, Matoba S, Mano A, Shiraishi J, Yamanaka S, Kobara M, Hibino N, Hosokawa S, Asayama J, Fushiki S, Fliss H, Nakagawa M, Matsubara H.	Cytokine-induced nitric oxide inhibits mitochondrial energy production and induces myocardial dysfunction in endotoxin-treated rat hearts.	<i>J Mol Cell Cardiol</i>	37	775-784	2004
Mano A, Tatsumi T, Shiraishi J, Keira N, Nomura T, Takeda M, Nishikawa S, Yamanaka S, Matoba S, Kobara M, Tanaka H, Shirayama T, Takamatsu T, Nozawa Y, Matsubara H.	Aldosterone directly induces myocyte apoptosis through calcineurin-dependent pathways.	<i>Circulation</i>	110	317-323	2004
Amano K, Okigaki M, Adachi Y, Fujiyama S, Mori Y, Kosaki A, Iwasaka T, Matsubara H.	Mechanism for IL-1 β -mediated neovascularization unmasked by IL-1 β knock-out mice.	<i>J Mol Cell Cardiol</i>	36	469-480	2004
Matsubara H.	Risk to the coronary arteries of intracoronary stem cell infusion and G-CSF cytokine therapy.	<i>Lancet</i>	363	746-747	2004
Higashi Y, Kimura M, Hara K, Noma K, Jitsuiki D, Nakagawa K, Oshima T, Chayama K, Sueda T, Goto C, Matsubara H, Murohara T, Yoshizumi M.	Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation improves endothelium-dependent vasodilation in patients with limb ischemia.	<i>Circulation</i>	109	1215-1218	2004
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.	<i>Circulation</i>	110	1650-1657	2004
笠井広樹、福井大祐、下平滋隆、木下修、天野純、池田宇一	末梢性血管病への血管再生医療	移植	39	509-514	2004
Shimizu H, Takahashi M, Takeda S, Inoue S, Fujishiro J, Hakamata Y, Kaneko T, Murakami T, Takeyoshi I, Morishita Y, Kobayashi E.	Conversion from cyclosporine A to mycophenolate mofetil protects recipient kidney and prevents intimal hyperplasia in rat aortic allografts.	<i>Transpl Immunol</i>	13	219-227	2004
Takeda S, Takahashi M, Sado Y, Takeuchi K, Hakamata Y, Shimizu H, Kaneko T, Yamamoto H, Ito C, Ookawara S, Asano Y, Kusano E, Kobayashi E.	Prevention of glomerular crescent formation in glomerulonephritis by mycophenolate mofetil in rats.	<i>Nephrol Dial Transplant</i>	19	2228-2236	2004