

Review Article

動脈硬化病態生理への骨髄由来血管前駆細胞の関与

佐田政隆^{1, 2)}

東京大学大学院医学系研究科循環器内科

Circulating progenitor cells contribute to vascular repair, remodeling and lesion formation

Atherosclerosis is responsible for more than half of all deaths in western countries. Numerous studies have reported that accumulation of smooth muscle cells (SMCs) plays a principal role in atherogenesis, post-angioplasty restenosis and transplantation-associated vasculopathy. Although much effort has been devoted targeting migration and proliferation of medial smooth muscle cells, no effective therapy to prevent occlusive vascular remodeling has been established. Recently, we suggested that bone marrow-derived precursors can give rise to vascular cells that contribute to repair, remodeling, and lesion formation of arterial wall under certain circumstances. This article overviews recent findings on vascular precursors and describes potential therapeutic strategies for vascular diseases, targeting mobilization, homing, differentiation and proliferation of circulating progenitor cells.

Rec.12/3/2003, pp27-34

Masataka Sata

¹⁾Department of Cardiovascular Medicine, University of Tokyo Graduate School of Medicine²⁾PRESTO, Japan Science and Technology Agency**Key words** smooth muscle cell, atherosclerosis, bone marrow, progenitor, stem cell

はじめに

従来の血管医学,特に閉塞性血管病の病態に関する研究は,糖尿病や高脂血症といった代謝疾患と関連して進められてきた.一方,血栓形成などを除いては血液学との関連はあまり重要視されていなかった.ところが,この数年の幹細胞研究の急速な発展によって,血管のリモデリング,再生,新生に遠隔の幹細胞が関与することが明らかとなってきた.動脈硬化,血管形成術後再狭窄,移植後動脈硬化といった増殖性血管病変において平滑筋細胞の増殖が認められる.平滑筋細胞の蓄積に関して詳細な機序は不明であり,有効な治療法は確立していない.出生時,血管は内腔を覆う一層の内皮とその周りを覆う中膜から構成されるが,病変部の平滑筋細胞は,中膜平滑筋細胞が形質転換し内皮下へ遊走したものが全てであると従来考えられていた.筆者らは各種動脈硬化モデルを用いて,骨髄細胞が流血中に前駆細胞として動員されたのち傷害血管に定着し,平滑筋に分化し増殖する現象を報告した¹⁻⁵⁾.

本稿では,骨髄由来細胞が平滑筋細胞として分化して血管病変形成に関与している事実を概説する.また,血管前駆細胞が血管病の新たな治療標的として期待されている点を紹介する.

動脈硬化と平滑筋細胞

動脈硬化において粥腫と呼ばれる隆起物が血管内腔を狭窄する.粥腫の中心部は脂質コアと呼ばれ,マクロファージとその泡沫化によるコレステロールなどの沈着が認められる.その周辺には平滑筋細胞が存在し,細胞外基質やサイトカインを合成,放出して動脈硬化の病態生理に重要な役割を担っている.この動脈硬化巣で認められる平滑筋細胞は,筋細胞本来の「収縮型」機能を失い細胞外基質などを合成する能力が亢進しており「合成型」と呼ばれる⁶⁾.

動脈硬化による虚血性疾患の治療として現在,バルーンやステントを用いた経皮的血管形成術ならびに自己の血管を用いたバイパス手術が行われているが,血行再建

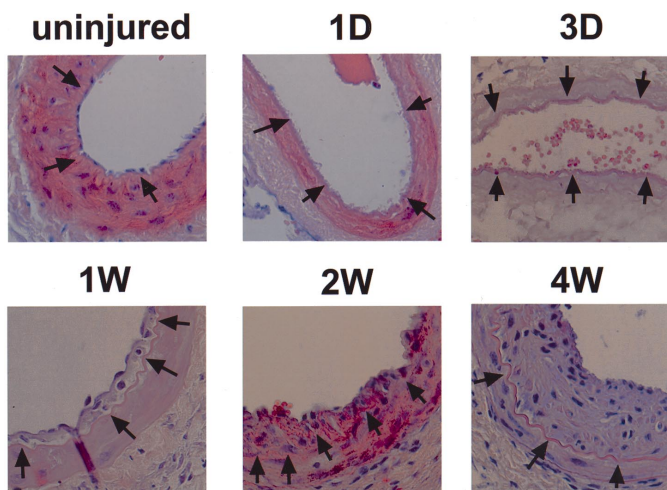


図1 Rossの仮説では説明しにくい現象

マウス大腿動脈のガイドワイヤー傷害後の新生内膜形成過程。拡張傷害によって中膜のほとんどの細胞が失われる。術後一週目、中膜の平滑筋細胞群が回復していないのに、内膜が形成されている（矢印は内弾性板を示す。スケールバー25 μm）（文献13より改変）

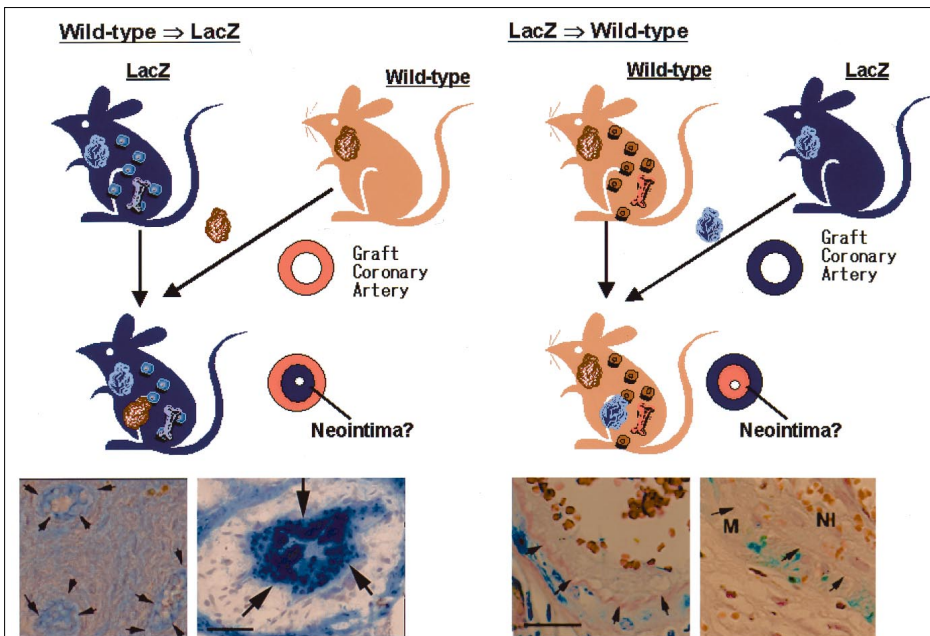


図2 レシピエント由来細胞によって形成される移植後動脈硬化（マウス心臓移植モデル）

野生型マウスの心臓がLacZマウスに移植された場合には、グラフト上の冠動脈に形成される新生内膜はLacZ陽性細胞で形成されていた（左）逆にLacZマウスの心臓が野生型マウスに移植された場合には、グラフト冠動脈の中膜平滑筋細胞は遊走することなく、新生内膜はLacZ陰性のレシピエント細胞で構成されていた（右）。矢印は内弾性板を示す。NI:新生内膜 M:中膜（文献15より改変）

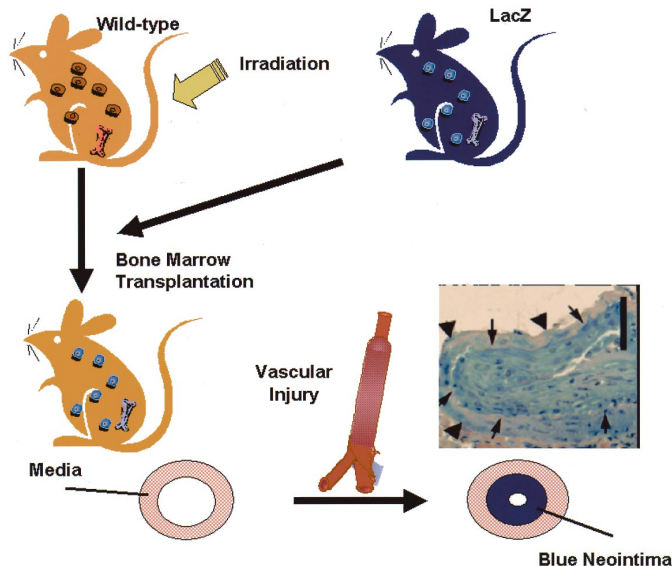


図3 血管形成術後病変形成への骨髓細胞の関与

LacZマウスの骨髓を移植したマウスの大腿動脈をガイドワイヤーを用いて拡張傷害した4週後の形成された新生内膜と一部の中膜は骨髓由来で青色であった。矢印は内弾性板、矢印頭は外弾性板を示す。スケールバー50 μm（文献1より改変）

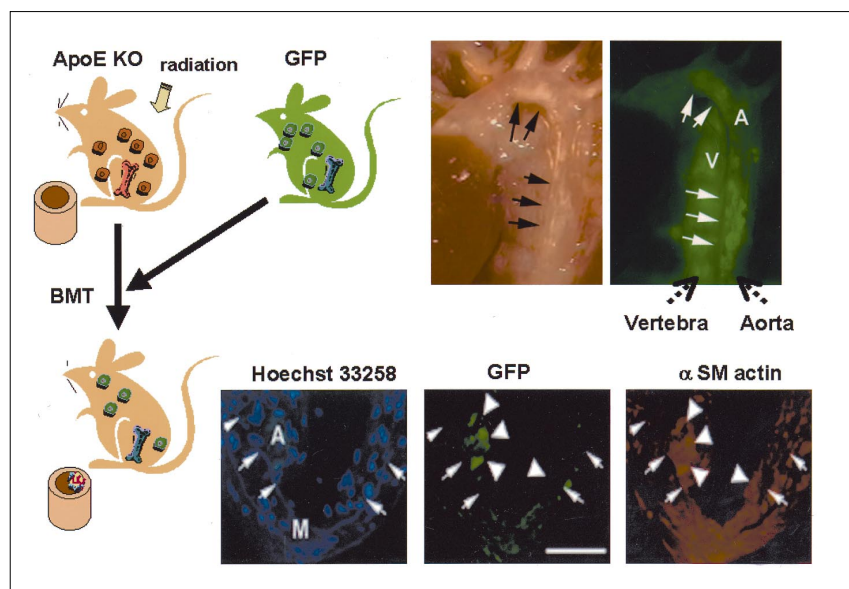


図4 高脂血症性動脈硬化病変にみられる平滑筋細胞の起源

GFPマウスの骨髄を高脂血症マウスへ移植した動脈硬化の部位に一致して骨髄細胞が血管に取り込まれていた。切片では骨髄由来のGFP陽性平滑筋細胞が認められた(文献1より改変)

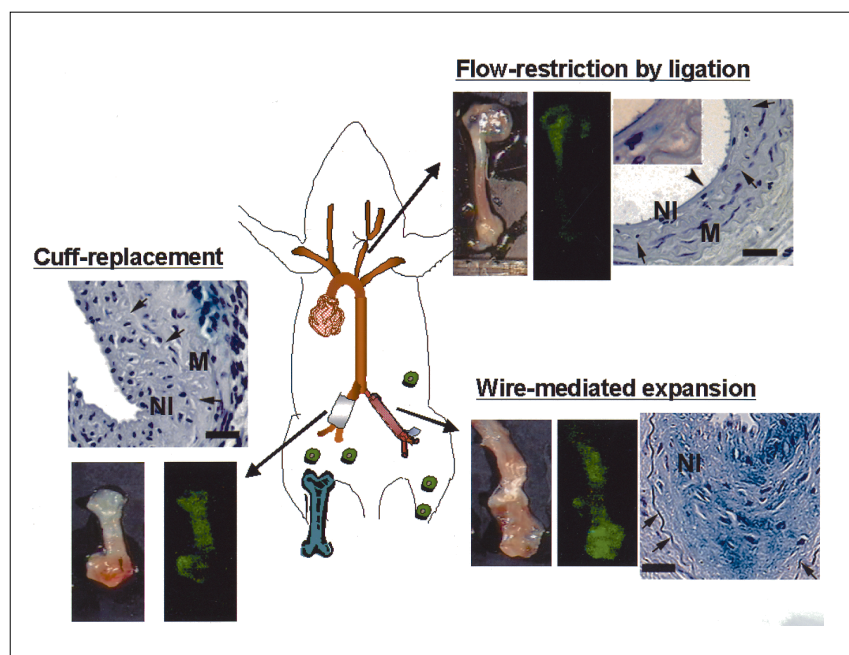


図5 骨髄由来細胞の病変への取り込みは血管傷害モデルによって大きく異なる

野生型マウスの骨髄をLacZマウスもしくはGFPマウスのもので置換した。移植骨髄が定着した後、三つの異なる血管に同時に別々の異なる血管傷害を加えた。ワイヤー傷害(Wire-mediated expansion)、頸動脈の結紮(Flow-restriction by ligation)、ポリエチレンチューブの大腿動脈周囲への留置(Cuff-replacement)の何れのもデルによってもアクチン陽性細胞からなる新生内膜が形成された。Wire Injuryでは多くの骨髄細胞が取り込まれていたがLigationでは非常に少なかった。また、Cuffでは周囲の炎症細胞としては骨髄由来細胞が存在したが、新生内膜にはほとんど取り込まれていなかった(文献4より改変)

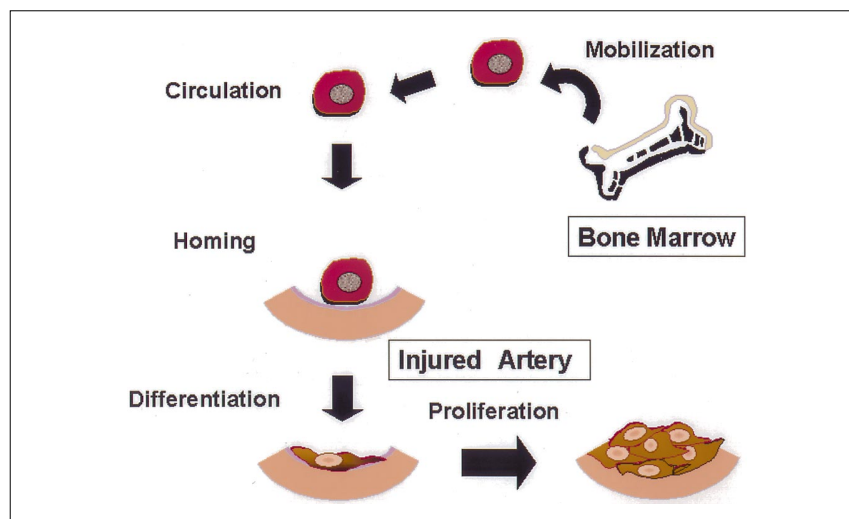


図6 平滑筋前駆細胞を標的とした血管病の治療

傷害修復のために未分化細胞が骨髄から動員され血管に定着する。平滑筋細胞に分化して増殖性血管リモデリングを生ずる。前駆細胞の動員、循環、定着、分化、増殖などへの介入が血管病克服のために有効であるかもしれない。

した血管も大部分は再狭窄,再閉塞を生じる⁷⁾.再度の治療が必要となり,患者の予後を制限すると同時に国民医療費の増大につながっているが有効な予防法は確立していない.再狭窄の機序は不明であるが,合成型平滑筋細胞の過増殖による内膜増殖が主体であることが報告されている⁶⁾.

欧米では,重症心疾患の治療として心臓移植が広く行われているが,「移植後動脈硬化」と呼ばれる原因不明の血管病変が生じ,再移植や死亡の原因となっている.この移植後動脈硬化症も平滑筋細胞の過増殖が原因である⁸⁾.

近接した血管中膜の平滑筋細胞が増殖するという仮説

各種血管病において平滑筋細胞が内腔側へ蓄積する機序は不明であるが,Rossによって唱えられた仮説が広く受け入れられている^{9,10)}.血管の内腔は一層の内皮細胞から覆われているが,その周りを巾膜と呼ばれる平滑筋の筋肉層が囲んで補強している.巾膜は収縮弛緩によって,血圧や血流を調整している.酸化脂質や免疫反応によって血管内皮が傷害されるといろいろな走化遊走因子(ケモカイン)や接着因子を発現するようになり,炎症細胞が血管壁へ浸潤する¹¹⁾.そして,各種サイトカインを放出し,血管局所での慢性炎症反応を惹起する.そこで,動脈硬化病変で認められる平滑筋細胞は,もともと巾膜にあった平滑筋細胞が炎症をきっかけとして形質転換し,内皮下に移動して増殖したものが全てであると考えられてきた(図1)¹¹⁾.血管形成術後再狭窄や移植後動脈硬化症における内膜平滑筋細胞も同様に巾膜平滑筋細胞に由来すると想定されてきた¹²⁾.

Rossの仮説では説明に苦慮する現象

Rossの仮説をもとに,巾膜平滑筋細胞の脱分化,遊走,増殖を標的とした薬物療法や遺伝子治療がいろいろ考案されてきた.しかし,この仮説では説明できない点も指摘されている.第一に,正常の血管に機械的な傷害を加えると,ほぼ100%平滑筋細胞から構成される新生内膜が形成される.この病変形成初期に巾膜平滑筋細胞が内弾性板を超えての内腔側への遊走する現象をとらえた報告はほとんどみられない.一方,マクロファージや好中球といった血球の傷害血管への接着は必ず観察される^{13,14)}.移植後動脈硬化においても最初にみられるのは内皮細胞のアポトーシスやその後の炎症細胞の接着である^{14,15)}.血管にバルーン傷害を加えると,巾膜平滑筋細胞がアポトーシスで一旦失われる.その後内腔側に新生内膜が形成される(図1).この時点では,巾膜の細胞成分が回復していない

ことがしばしば認められ,巾膜平滑筋細胞が初期の新生内膜を形成するとは考えづらい¹³⁾.第二に,100%平滑筋細胞で構成される新生内膜がケモカインや接着因子を阻害することで抑制されることが報告されている^{16,17)}.ところが,これらの因子は白血球の誘導には重要であるが,分化した平滑筋細胞には何も作用を有さない¹⁶⁾.第三に,遺伝子チップなどの解析により,新生内膜の平滑筋細胞は,消化管や血管中膜の平滑筋細胞とは遺伝子発現パターンが著しく異なり,炎症細胞に酷似している^{18,19)}.以上の所見より筆者は,内膜の平滑筋細胞の一部は巾膜平滑筋の脱分化したものではなく,白血球が傷害血管に付着したのち,機械的,液性因子に応答して平滑筋細胞様に分化するという仮説をもった¹⁾.

骨髓由来細胞の移植後動脈硬化への関与

まず,この仮説をマウス心臓移植モデルで検討した.まず,野生型のマウスの心臓を,全身にマーカー遺伝子LacZ(β -galactosidase, β -ガラクトシダーゼ)を発現するマウス(LacZマウス)に移植した(図2)⁵⁾.野生型のグラフト冠動脈にヒトと同様の求心性の動脈硬化が生じた.この新生内膜の9割以上はLacZ陽性であった.つまりグラフト上の冠動脈の中膜を起源としたものでなく,レシピエントの血流中の細胞を起源としていることが明らかとなった.これとは逆に,LacZマウスの心臓を野生型マウスに移植した場合は,LacZ陽性の平滑筋細胞は中膜に留まり,新生内膜はレシピエント由来の細胞で構成されていた.同様の現象は,性不一致個体間心臓移植後の動脈硬化病変においても,Y染色体をマーカーとした *in situ* hybridizationによって確認された.この新生内膜は,平滑筋細胞に特異的なミオシン重鎖,カルボニン,h-カルデスモン, α -アクチンを発現していた¹⁾.以上の実験結果により,流血中の前駆細胞が付着することで病変が形成されることが明らかとなった.筆者らの報告のあと,ヒトの移植後動脈硬化でも同様の現象が生じていることが最近報告された^{20,21)}.

さらに,レシピエント中の平滑筋前駆細胞の起源を同定するために,野生型マウスの骨髓を致死量X線で照射し,LacZマウスもしくはGFPマウス(全身に蛍光物質GFP(green fluorescent protein,緑色蛍光蛋白)を発現するトランスジェニックマウス)の骨髓を移植した.骨髓,脾臓,胸腺などでは移植骨髓細胞が同定されたが,無傷の血管には骨髓細胞は定着していなかった.この骨髓移植マウスに野生型マウスの心臓を移植したところ,グラフト動脈硬化病変の8割以上の細胞は骨髓由来であった.

血管形成術後の内膜肥厚、再生内皮への骨髄細胞の関与

次に、筆者らは野生型マウスの骨髄をLacZマウスの骨髄で置換したのち、大腿動脈にワイヤーを挿入し、内皮の剥離と血管の拡張を行った(図3)。傷害後4週後に形成された新生内膜の大部分と中膜の一部は骨髄由来のLacZ陽性細胞で構成されていた。注目すべきことには再内皮化された内皮細胞も骨髄由来のものが大部分を占めていた。以上より、流血中に骨髄由来「血管前駆細胞」が存在し、血管形成術後の再狭窄部の平滑筋細胞や再内皮化内皮細胞へも分化していることが明らかになった。

粥状動脈硬化病変への骨髄細胞の関与

さらに、通常の動脈硬化(粥状動脈硬化)巣における平滑筋細胞の起源について探索した(図4)。アポE欠損マウスでは著明な高脂血症を来し、ヒトと同様の動脈硬化が生じる。動脈硬化の生じていない8週令において、アポE欠損マウスの骨髄をLacZマウスもしくはGFPマウスのものと置換した。20週令で大腿動脈に形成された粥腫の周辺部には平滑筋細胞が認められたが、その半数は移植された骨髄細胞由来のものであった。この骨髄由来平滑筋細胞は、各種の平滑筋細胞のマーカーを発現していた。電子顕微鏡による形態観察では、「合成型」平滑筋細胞に特徴的な分泌顆粒の存在と筋線維成分の減少を認めた¹⁾。

造血幹細胞(KSL分画)から平滑筋細胞への分化

近年、骨髄中には神経、肝臓、骨、内皮、心臓といった様々な臓器への分化能を有する成体幹細胞が存在することが報告されている^{22, 23)}。従来、骨髄幹細胞は血球系へ分化する造血幹細胞と骨、軟骨、筋肉などに分化する間葉系幹細胞に分類されていた。ところが最近の知見によると、「造血」幹細胞の潜在分化能力は考えられた以上に大きく肝細胞や心筋細胞への分化が報告された²⁴⁻²⁷⁾。

筆者らは、GFPマウスから造血幹細胞(c-Kit⁺, Sca-1⁺, Lin⁻, KSL)分画を分離した。この細胞をラット血管平滑筋細胞上で培養したところ、平滑筋細胞様の形態を示し、 α 平滑筋型アクチン、カルボニンの発現を認めた。さらに、致死量照射したマウスに純化したKSL分画細胞の移植を行った。大腿動脈にワイヤーによる傷害を加えたところ、新生内膜の平滑筋細胞の半数近くは移植した造血幹細胞由来であった。また、再生した内皮の大半は移植した造血幹細胞由来であった。つまり、造血幹細胞(厳密にはKSL分画)が平滑筋細胞と内皮細胞に分化し血管リモデリングに重要な役割を演じることが明らかとなった。

骨髄細胞関与のモデルによる相違

最近、血管移植モデルにおける病変部平滑筋細胞はレシピエント由来であるものの、骨髄以外の前駆細胞を起源にすると報告された²⁸⁾。血管移植モデルでは免疫抑制剤は使用されておらず、大動脈の移植後病変である。移植心の最小血管に生じる移植後冠動脈病変とは病理学的にも大きな違いがみられる。このため、レシピエントの骨髄由来平滑筋細胞が病変でわずかしら認められなかったと考えられる²⁹⁾。

また、高度純化した造血幹細胞が他の系統の細胞に形質転換分化することは非常に稀であると報告された³⁰⁾。この論文で筆者らは、一個の造血幹細胞によって骨髄を置換したマウスを用いているいろいろな臓器を無傷害の状態で検索している。そして、造血幹細胞由来の細胞がほとんど認められていないと報告している。しかし、ターンオーバーの盛んな血液系細胞に比して実質臓器の細胞の寿命は通常長い。遠隔の幹細胞が定着して分化する確率が低いのは当然である。実際、強い傷害を加えた場合に効率に骨髄由来細胞の筋肉や消化管上皮の組織修復への関与が認められる^{31, 32)}。以上のように、モデルによっては成体幹細胞の可塑性を過小評価して全く異なる結論に達する可能性があり注意を要する。

筆者らは、骨髄を置換した同一マウスの三つの異なる血管に、同時に別々の異なる血管傷害を加えた。ワイヤー傷害(Wire Injury)、頸動脈の結紮(Ligation)、ポリエチレンチューブの大腿動脈周囲への留置(Cuff)、何れのモデルによってもアクチン陽性細胞からなる新生内膜が形成された。Wire Injuryでは多くの骨髄細胞が取り込まれていたが、Ligationでは非常に少なかった。また、Cuffでは周囲の炎症細胞としては骨髄由来細胞が存在したが、新生内膜にはほとんど取り込まれていなかった(図5)。また、この骨髄由来細胞の取り込まれる程度は、組織損傷の程度とその後のケモカイン、サイトカインの発現と関連していた。特にWire Injury後の大腿動脈は、バルーンによる血管傷害直後のように^{33, 34)}、内皮はほぼ完全に剥離され、中膜の細胞はアポトーシスにより消失していた。このような強い傷害により、傷害後修復に必要な細胞が局所血管に消失しており、遠隔の幹細胞が動員されざるをえなくなるのかもしれない。

血管病における細胞蓄積に関する新しい仮説

ある臓器のリモデリングは局所実質細胞の増殖と細胞死によると従来考えられてきた。ところが、体内には骨髄をはじめとしている臓器に幹細胞が存在し、遠隔臓

器の損傷を感知して、動員、分化、増殖して、修復に関与していることが明らかになりつつある^{24, 25)}。血管に関しても、免疫学的、機械的、液性（サイトカインや酸化脂質）傷害が血管に加わると骨髄から未分化細胞が動員され、平滑筋ないし内皮細胞に分化しうるとされる^{2, 3, 35)}。そして、その修復反応が過剰になると病変形成にも関与すると考えられる。最近、性不一致骨髄移植後の動脈硬化病変を解析したところでは、多い症例では約10%もの血管細胞が移植した骨髄細胞によって置換されており、アクチン、ミオシン、カルボニンといった平滑筋細胞のマーカーを発現していたという³⁶⁾。骨髄細胞の関与は、正常血管ではほとんどみられなかったものの、動脈硬化を生じた血管で多かったという。血管病変では、細胞のアポトーシス³⁷⁾、炎症細胞の浸潤³⁸⁾、サイトカイン^{39, 40)}、ケモカイン、接着因子の発現亢進、血管新生^{41, 42)}が知られているが、このような因子が骨髄細胞の血管リモデリングを促進していると思われる。

「骨髄由来平滑筋様細胞」の起源としての「細胞融合」

成体幹細胞を用いた再生医療が注目される一方、成体幹細胞の可塑性を疑問視する報告もみられる。特殊な条件下で観察される分化は生理的条件下においては、例え起こったとしても極めて稀であることが報告された⁴³⁾。今まで「分化形質転換 (transdifferentiation)」と考えられてきた現象も、単に融合によって目的臓器の細胞と同一の表現型を表すようになったものにすぎないのではないかという主張もみられる。実際、成体幹細胞は自然に細胞融合を生じることが、*in vitro*^{44, 45)} 並びに *in vivo*^{46, 47)} で報告されている。血管においても、病変部の平滑筋細胞は、機械的、液性因子によって多核化することが知られている⁴⁸⁾。骨髄由来のマーカーを発現する平滑筋様細胞が認められても、それは骨髄細胞が局所の平滑筋細胞との融合を観察している可能性はある。一方、筆者たちが GFP マウスと LacZ マウス間で心臓移植をしたところ、グラフト新生内膜には、レシピエントとドナー由来細胞の融合と思われるマーカー二重陽性細胞はほとんど認められなかった⁴⁹⁾。また、末梢血単核球のみを培養しても平滑筋様細胞が分化することからも⁵⁰⁾、細胞融合だけによって全ての「骨髄由来平滑筋様細胞」の起源を説明できないようである。

血管病治療法開発への応用

「平滑筋前駆細胞」がどのような性質の細胞であるのか、どのように骨髄から動員されるのか、どのように血管

壁に定着し分化、増殖するのかについて、今後研究が発展すると思われる。平滑筋前駆細胞を標的として、骨髄からの動員の抑制、循環中の吸着、血管への定着の抑制などが血管病の治療法として開発されることが望まれる(図6)。再狭窄の防止に薬剤溶出型ステントが期待されている。現在有効性が確認されている薬剤は、免疫抑制剤(ラパマイシン)と抗癌剤(パクリタキセル)である。これらは、筆者ら提唱する「平滑筋前駆細胞」を標的としているのかもしれない。

一方、骨髄幹細胞もしくは血中前駆細胞から平滑筋細胞、内皮細胞を分化させ、再構築することによって試験管内でバイオ人工血管を創生することも将来可能になると考えられる。このバイオ人工血管は、血栓症を生じやすいという人工素材の欠点を克服すると同時に、成長に伴う生理的形態変化も期待でき、特に小児で有用である。また、ヒト胚性幹細胞を用いる場合に生じる倫理的問題や免疫反応を回避することが可能である。今後、骨髄幹細胞研究が血管病治療法の開発へ応用されることが期待される。

文 献

- 1) Sata M, Saiura A, Kunisato A, Tojo A, Okada S, Tokuhisa T, Hirai H, Makuuchi M, Hirata Y, Nagai R: Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. *Nat Med*, 8: 403-409, 2002.
- 2) Sata M: Molecular strategies to treat vascular diseases. *Circ J*, 67: 983-991, 2003.
- 3) Sata M: Circulating vascular progenitor cells contribute to vascular repair, remodeling, and lesion formation. *Trends Cardiovasc Med*, 13: 249-253, 2003.
- 4) Tanaka K, Sata M, Hirata Y, Nagai R: Diverse contribution of bone marrow cells to neointimal hyperplasia after mechanical vascular injuries. *Circ Res*, 93: 783-790, 2003.
- 5) Saiura A, Sata M, Hirata Y, Nagai R, Makuuchi M: Circulating smooth muscle progenitor cells contribute to atherosclerosis. *Nat Med*, 7: 382-383, 2001.
- 6) Walsh K, Perlman H: Molecular strategies to inhibit restenosis: modulation of the vascular myocyte phenotype. *Semin Interv Cardiol*, 1: 173-179, 1996.
- 7) Walsh K, Smith RC, Kim HS: Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ Res*, 87: 184-188, 2000.
- 8) Billingham ME: Cardiac transplant atherosclerosis. *Transplant Proc*, 19: 19-25, 1987.
- 9) Ross R: The smooth muscle cell. II. Growth of smooth

- muscle in culture and formation of elastic fibers. *J Cell Biol*, 50: 172-186, 1971.
- 10) Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 362: 801-809, 1993.
 - 11) Ross R: Atherosclerosis-An inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340: 115-126, 1999.
 - 12) Ross R: Genetically modified mice as models of transplant atherosclerosis. *Nat Med*, 2: 527-528, 1996.
 - 13) Sata M, Maejima Y, Adachi F, Fukino K, Saiura A, Sugiura S, Aoyagi T, Imai Y, Kurihara H, Kimura K, Omata M, Makuuchi M, Hirata Y, Nagai R: A mouse model of vascular injury that induces rapid onset of medial cell apoptosis followed by reproducible neointimal hyperplasia. *J Mol Cell Cardiol*, 32: 2097-2104, 2000.
 - 14) Feldman LJ, Mazighi M, Scheuble A, Deux JF, De Benedetti E, Badier-Commander C, Brambilla E, Henin D, Steg PG, Jacob MP: Differential expression of matrix metalloproteinases after stent implantation and balloon angioplasty in the hypercholesterolemic rabbit. *Circulation*, 103: 3117-3122, 2001.
 - 15) Roque M, Fallon JT, Badimon JJ, Zhang WX, Taubman MB, Reis ED: Mouse model of femoral artery denudation injury associated with the rapid accumulation of adhesion molecules on the luminal surface and recruitment of neutrophils. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 335-342, 2000.
 - 16) Furukawa Y, Matsumori A, Ohashi N, Shioi T, Ono K, Harada A, Matsushima K, Sasayama S: Anti-monocyte chemoattractant protein-1/monocyte chemotactic and activating factor antibody inhibits neointimal hyperplasia in injured rat carotid arteries. *Circ Res*, 84: 306-314, 1999.
 - 17) Hayashi S, Watanabe N, Nakazawa K, Suzuki J, Tsushima K, Tamatani T, Sakamoto S, Isobe M: Roles of P-selectin in inflammation, neointimal formation, and vascular remodeling in balloon-injured rat carotid arteries. *Circulation*, 102: 1710-1717, 2000.
 - 18) Zohlnhofer D, Klein CA, Richter T, Brandl R, Murr A, Nuhrenberg T, Schomig A, Baeuerle PA, Neumann FJ: Gene expression profiling of human stent-induced neointima by cDNA array analysis of microscopic specimens retrieved by helix cutter atherectomy: detection of FK506-binding protein 12 upregulation. *Circulation*, 103: 1396-1402, 2001.
 - 19) Zohlnhofer D, Richter T, Neumann F, Nuhrenberg T, Wessely R, Brandl R, Murr A, Klein CA, Baeuerle PA: Transcriptome analysis reveals a role of interferon-gamma in human neointima formation. *Mol Cell*, 7: 1059-1069, 2001.
 - 20) Grimm PC, Nickerson P, Jeffery J, Savani RC, Gough J, McKenna RM, Stern E, Rush DN: Neointimal and tubulointerstitial infiltration by recipient mesenchymal cells in chronic renal-allograft rejection. *N Engl J Med*, 345: 93-97, 2001.
 - 21) Lagaaij EL, Cramer-Knijnenburg GF, van Kemenade FJ, van Es LA, Bruijn JA, van Krieken JH: Endothelial cell chimerism after renal transplantation and vascular rejection. *Lancet*, 357: 33-37, 2001.
 - 22) McKay R: Stem cells-hype and hope. *Nature*, 406: 361-364, 2000.
 - 23) Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM: The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell*, 105: 829-841, 2001.
 - 24) Alison MR, Poulosom R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, Jacob J, Novelli M, Prentice G, Williamson J, Wright NA: Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature*, 406: 257, 2000.
 - 25) Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL, Grompe M: Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med*, 6: 1229-1234, 2000.
 - 26) Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P: Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*, 410: 701-705, 2001.
 - 27) Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P: Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 10344-10349, 2001.
 - 28) Hu Y, Davison F, Ludewig B, Erdel M, Mayr M, Url M, Dietrich H, Xu Q: Smooth muscle cells in transplant atherosclerotic lesions are originated from recipients, but not bone marrow progenitor cells. *Circulation*, 106: 1834-1839, 2002.
 - 29) Sata M, Tanaka K, Nagai R: Origin of smooth muscle progenitor cells: different conclusions from different models. *Circulation*, 107: e106-e107, 2003.
 - 30) Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL, Weissman IL: Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science*, 297: 2256-2259, 2002.
 - 31) Castro RF, Jackson KA, Goodell MA, Robertson CS, Liu

- H, Shine HD: Failure of bone marrow cells to transdifferentiate into neural cells in vivo. *Science*, 297: 1299, 2002.
- 32) Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, Kanai T, Mukai M, Okamoto S, Ikeda Y, Hibi T, Inazawa J, Watanabe M: Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nat Med*, 8: 1011-1017, 2002.
- 33) Perlman H, Maillard L, Krasinski K, Walsh K: Evidence for the rapid onset of apoptosis in medial smooth muscle cells following balloon injury. *Circulation*, 95: 981-987, 1997.
- 34) Rivard A, Luo Z, Perlman H, Fabre JE, Nguyen T, Maillard L, Walsh K: Early cell loss following angioplasty results in a disproportionate decrease in gene transfer to the vessel wall. *Hum Gene Ther*, 10: 711-721, 1999.
- 35) Yamashita J, Itoh H, Hirashima M, Ogawa M, Nishikawa S, Yurugi T, Naito M, Nakao K, Nishikawa S: Flk1-positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors. *Nature*, 408: 92-96, 2000.
- 36) Caplice NM, Bunch TJ, Stalboerger PG, Wang S, Simper D, Miller DV, Russell SJ, Litzow MR, Edwards WD: Smooth muscle cells in human coronary atherosclerosis can originate from cells administered at marrow transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 4754-4759, 2003.
- 37) Isner JM, Kearney M, Bortman S, Passeri J: Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation*, 91: 2703-2711, 1995.
- 38) Geng YJ, Henderson LE, Levesque EB, Muszynski M, Libby P: Fas is expressed in human atherosclerotic intima and promotes apoptosis of cytokine-primed human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol*, 17: 2200-2208, 1997.
- 39) Couffignal T, Kearney M, Witzensbichler B, Chen D, Murohara T, Losordo DW, Symes J, Isner JM: Vascular Endothelial Growth Factor/Vascular Permeability Factor (VEGF/VPF) in Normal and Atherosclerotic Human Arteries. *Am J Pathol*, 150: 1673-1685, 1997.
- 40) Inoue M, Itoh H, Ueda M, Naruko T, Kojima A, Komatsu R, Doi K, Ogawa Y, Tamura N, Takaya K, Igaki T, Yamashita J, Chun TH, Masatsugu K, Becker AE, Nakao K: Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human coronary atherosclerotic lesions: possible pathophysiological significance of VEGF in progression of atherosclerosis. *Circulation*, 98: 2108-2116., 1998.
- 41) Sueishi K, Yonemitsu Y, Nakagawa K, Kaneda Y, Kumamoto M, Nakashima Y: Atherosclerosis and angiogenesis. Its pathophysiological significance in humans as well as in an animal model induced by the gene transfer of vascular endothelial growth factor. *Ann N Y Acad Sci*, 811: 311-324, 1997.
- 42) Kockx MM, Cromheeke KM, Knaapen MW, Bosmans JM, De Meyer GR, Herman AG, Bult H: Phagocytosis and macrophage activation associated with hemorrhagic microvessels in human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23: 440-446, 2003.
- 43) Munro JM, van der Walt JD, Munro CS, Chalmers JA, Cox EL: An immunohistochemical analysis of human aortic fatty streaks. *Hum Pathol*, 18: 375-380, 1987.
- 44) Terada N, Hamazaki T, Oka M, Hoki M, Mastalerz DM, Nakano Y, Meyer EM, Morel L, Petersen BE, Scott EW: Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*, 416: 542-545, 2002.
- 45) Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG: Changing potency by spontaneous fusion. *Nature*, 416: 545-548, 2002.
- 46) Wang X, Willenbring H, Akkari Y, Torimaru Y, Foster M, Al-Dhalimy M, Lagasse E, Finegold M, Olson S, Grompe M: Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature*, 422: 897-901, 2003.
- 47) Vassilopoulos G, Wang PR, Russell DW: Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature*, 422: 901-904, 2003.
- 48) Campbell JH, Tachas G, Black MJ, Cockerill G, Campbell GR: Molecular biology of vascular hypertrophy. *Basic Res Cardiol*, 86: 3-11, 1991.
- 49) Saiura A, Sata M, Washida M, Sugawara Y, Hirata Y, Nagai R, Makuuchi M: Little evidence for cell fusion between recipient and Donor-Derived cells. *J Surg Res*, 113: 222-227, 2003.
- 50) Simper D, Stalboerger PG, Panetta CJ, Wang S, Caplice NM: Smooth muscle progenitor cells in human blood. *Circulation*, 106: 1199-1204, 2002.