

## 総説

# 動脈硬化病変の分子機序における VEGF の 役割に関する研究の新展開 —血管保護か血管病促進か?—

大谷規彰\*, 江頭健輔\*, 砂川賢二\*

## 要旨

虚血性心血管病に対し、VEGF を中心とする血管新生因子を用いた治療的血管新生療法の臨床試験が実施され注目を浴びている。しかし血管新生療法に伴う副作用について十分な検討がされないまま、臨床試験が進んでいるのではなからうか。最近、VEGF の作用について新しい考えが提唱されつつあり、血管病態における VEGF の役割にはかなりの議論が巻き起こっている。VEGF が骨髄由来細胞動員、炎症惹起、平滑筋遊走などの様々の作用を介して動脈硬化性病変や炎症性疾患を悪化させる可能性が指摘されている。VEGF は「内皮特異的血管保護因子」ではなく、血管病促進作用も併せ持つ「多機能サイトカイン」である。

## はじめに

血管発生、新生とそれに引き続く血管成熟過程は複雑且つ、高度に統制されており、数多くのリガンドと受容体の相互作用を必要とする<sup>1,2)</sup>。その中でも血管内増殖因子(VEGF)は生理的血管新生において極めて重要な部分を担っている因子である。その強力な血管新生誘導作用から、近年 VEGF を利用した血管新生療法が虚血性心疾患患者を対象に実施されている。しかし一方で、血管新生療法に伴う副作用について十分な検討がされないまま、臨床試験が進んでいる<sup>3)</sup>。VEGF は血管透過性亢進や病的血管新生(腫瘍、糖尿病性網膜症、リウマチ性関節炎)を惹起するだけでなく<sup>4)</sup>、動脈硬化性病

患、慢性炎症を促進する可能性も指摘され始めた。本稿では動脈硬化性病変の分子機序における VEGF の役割に関する研究の新たな展開について筆者らの成績を含めて紹介する。

## VEGF とその受容体

VEGF(VEGF-A)は培養血管内皮細胞に対する増殖因子、および血管透過性亢進因子(vascular permeability factor)の二つの性質を持つ物質として単離された<sup>5)</sup>。VEGF は特異的受容体として、異なるシグナル特性を持つ二つのチロシンキナーゼ型受容体、VEGFR-1(Flt-1)と VEGFR-2(KDR/Flk-1)と結合する。VEGFR-1には膜以下の部分が欠失した sVEGFR-1(遊離型 VEGFR-1)が存在し、VEGF 機能を阻止するとされている<sup>6)</sup>。VEGFR-1 と VEGFR-2 はその発現パターンが異なり、VEGFR-2 の発現は殆ど内皮細胞に限局されるが、VEGFR-1 は単球・マクロファージや好中球などの骨髄細胞や破骨細胞など多くの細胞に発現が見られる。

VEGF は細胞レベルでは内皮細胞の増殖促進とアポトーシス抑制作用を示し、個体レベルでは血管新生、血管透過性亢進、血管拡張、血管内皮細胞遊走、管腔形成、内皮細胞からの凝固・線溶系蛋白質の産生、細胞接着分子や蛋白溶解酵素の内皮細胞上への発現などを誘導する。また、末梢血単球の走化性促進や凝固組織因子産生促進、悪性腫瘍の組織浸潤、抗原提示樹状細胞の分化抑制、神経細胞の成長促進、二型肺胞上皮細胞からのサーファクタント産生にも重要な役割を担うことが示されている<sup>7~9)</sup>。即ち、VEGF は多彩な作用を有するサイトカインと認識するべきであろう(図1)。

\*九州大学大学院医学研究院循環器内科学



図1

VEGF は血管新生誘導のみならず、骨髄由来細胞の動員作用、炎症促進作用、血管平滑筋遊走作用が認められる。樹状細胞の分化抑制、凝固系・血小板の活性化作用もあり、神経保護作用も認められる。したがって、VEGF は内皮特異的に作用する血管新生、血管透過性促進因子ではなく、その他の細胞にも多彩な作用を示す多機能サイトカインと言えるだろう。

## VEGF とその受容体の胎生期における役割

VEGF および、両 VEGF 受容体遺伝子いずれもホモ接合型の欠損マウスで胎生致死になる<sup>10~12)</sup>。この結果は、胎生期の造血・血管形成において VEGF とその受容体の適切な調節機構が極めて必須の役割を果たしていることを物語っている。

### 出生後の VEGF とその受容体の役割

#### A. 血管内皮に対する作用

VEGF は VEGFR-2 を介して内皮細胞の遊走増殖、血管新生、生存促進作用、透過性亢進、血管拡張に中心的役割を果たす。血管透過性作用は浮腫を惹き起こすだけでなく、組織に蓄積されたフィブリンが血管新生誘導、間質誘導作用があり、炎症を惹起する可能性が指摘されている。

内皮細胞に対する VEGFR-1 の作用はそのチロシンキナーゼ活性が低いことから、VEGFR-2 を介する内皮細胞の増殖に拮抗する働きがあるという報告と、逆に内皮細胞の増殖を促進するという報告がある<sup>13)</sup>。

#### B. 骨髄由来細胞、白血球に対する役割

VEGFR-1 は当初、血管内皮細胞特異的に発現するとして同定されたが、その後、単球、平滑筋細胞、トロフォブラスト、メザンギウム細胞、骨芽細胞など非内皮細胞にも発現していることが報告された。しかも病的状態の際に VEGFR-1 の発現が増強する<sup>14)</sup>。VEGF は単球の遊走を促進し、顆粒球-マクロファージ系細胞のコロニー形成を誘導する。心筋虚血や下肢虚血を起こした動物に VEGFR-1

と選択的に結合する胎盤成長因子(Placental Growth Factor : PlGF)を投与すると VEGFR-1 陽性の単球が誘導され、側副血行を促進する事により虚血を軽減することも報告されている<sup>14)</sup>。また VEGFR-1 を介した炎症細胞浸潤が関節リウマチの病態に深く関与している<sup>15)</sup>。

また VEGFR-1 は骨髄由来細胞にも発現しており、造血・骨髄再構築や内皮前駆細胞の動員に重要な役割を果たしている事が確認されている<sup>16,17)</sup>。また VEGFR-2 も骨髄幹細胞や血管内皮前駆細胞に発現し血管芽細胞から内皮系、造血系への分化へ重要な役割を果たしていることが知られている<sup>18,19)</sup>。近年動脈硬化のみならず様々な病態形成に骨髄由来細胞が関与していることが報告されているが、その動員に VEGF が重要な役割を担っている<sup>20)</sup>。

### VEGF と動脈硬化

#### A. 高脂血症食負荷による動脈硬化と VEGF

VEGF やその受容体がヒトの動脈硬化層や再狭窄血管に発現が見られることから<sup>21)</sup>、動脈硬化の病態に VEGF が何らかの役割を果たしていると考えられる。VEGF は酸化 LDL や単球や血小板などの接着から内皮を保護し、抗内皮細胞アポトーシス作用を持つことから、血管壁での内皮細胞機能を保全し、血管保護的に働くと考えられていた<sup>22~25)</sup>。しかしながら、VEGF の動脈硬化に対する役割については動脈硬化を抑制するという意見と、促進するという意見が対立しており、議論的になっている。VEGF が動脈硬化を促進するという根拠は、① VEGF が単球を活性化させ、遊走を促進さ

せる<sup>26,27</sup>), ②VEGF が血管外膜の小血管をプラーク内まで成長させる可能性がある<sup>28,29</sup>), ③接着因子や単球走化性因子の発現を亢進することにより内皮細胞を活性化させる<sup>30,31</sup>), ④VEGF が血管平滑筋の遊走を促進する<sup>32,33</sup>), ⑤EGF が血管透過性を亢進するためにプラーク内への血漿蛋白の漏出やフィブリンの形成を惹き起こす可能性がある, などである。

Celletti らはヒトの動脈硬化層に類似した病態を示すアポ E 欠損マウスの腹腔内にヒト VEGF<sub>165</sub> 蛋白を単回投与すると, 末梢血と骨髄でのマクロファージが増加し, またプラーク内での血管新生が生じ, プラークサイズが増加すると報告した<sup>34</sup>). 動脈硬化プラーク内の血管新生は病変を進展させ, 不安定化させると考えられており, 抗血管新生薬である endostatin, TNP-470, angiostatin をアポ E

欠損マウスに投与するとプラークの増大や内膜内血管新生が抑制される事から<sup>35,36</sup>), VEGF のプラーク内血管新生作用が動脈硬化プラークの促進の機序と考えられる。

一方, Lutten らは VEGFR-2 抗体投与ではなく, VEGFR-1 抗体の投与により動脈硬化プラークの進展と不安定化が抑制されることを報告した. その機序として VEGFR-2 を介するプラーク内新生血管抑制によるのではなく, 骨髄由来の骨髄前駆細胞の末梢血への動員抑制, VEGFR-1 陽性白血球の動脈硬化層への動員や分化の抑制, 活性化の抑制, すなわち炎症の抑制であると報告した<sup>14</sup>).

我々もアポ E 欠損マウスに VEGF 阻害物質である sVEGFR-1 遺伝子導入を行うと動脈硬化病変の発生と進展が抑制されることを観察している(図2; 未発表).

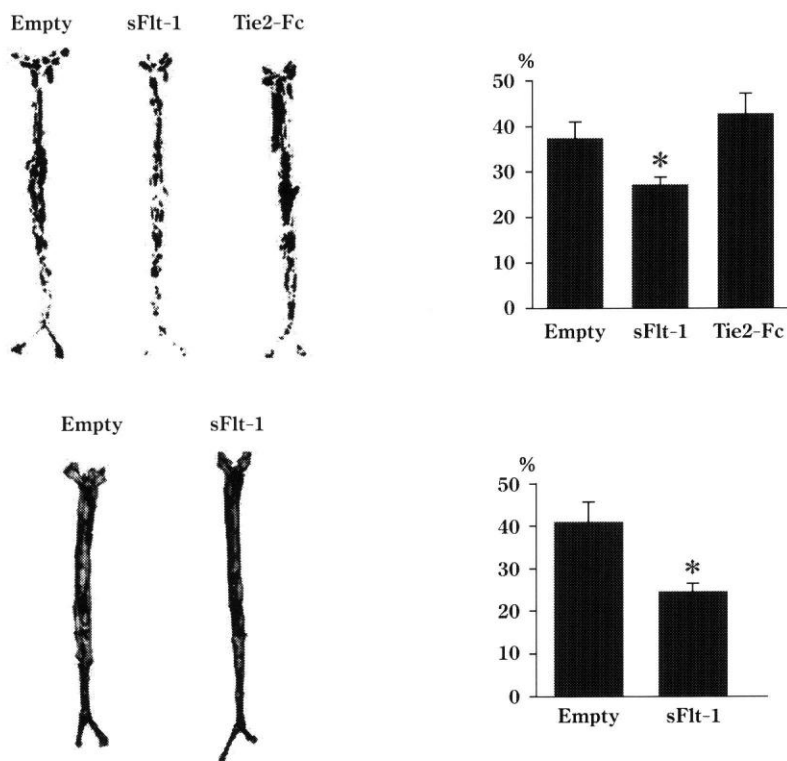


図2

上段 (Prevention study) ; 8 週齢のアポ E マウスに 12 週間高脂肪食を与え, その間 2 週毎に遺伝子導入を行った. 20 週齢の時点で動脈硬化の評価を脂肪染色で行った.

VEGF の機能を阻害した sFlt-1 プラスミド投与群では Empty プラスミド群と比較し, 病変の形成が抑制された. アンジオポイエチン (Ang-1) の機能を阻害した Tie2-Fc プラスミド投与群は Empty プラスミド群と変わらなかった.

下段 (Regression study) ; 8 週齢から 20 週齢まで高脂肪食を与え, 動脈硬化を作成した. 以後高脂肪食を中止し, 28 週齢まで遺伝子導入を行い, 28 週齢の時点で動脈硬化の評価を行った. sFlt-1 プラスミド投与群では Empty プラスミド群と比較し, 病変の退縮がみられた.

## B. 血管内皮傷害と VEGF

血管内皮が傷害を受けた際、VEGF は血管内皮細胞の増殖・遊走促進作用により内皮再生を起こし、一酸化窒素(nitric oxide : NO)やプロスタサイクリン(prostaglandin I<sub>2</sub> : PGI<sub>2</sub>)を介した血管保護作用により、血管平滑筋細胞の過剰増殖による動脈硬化層の形成を抑制するとされている<sup>23)</sup>。バルーンを用いて血管内皮を擦過した血管傷害モデルでは VEGF 遺伝子や蛋白の局所投与により、再内皮化が促進され、新生内膜の形成や血栓形成が抑制されるという<sup>37~40)</sup>。VEGF を投与した血管では傷害後 1 週間で正常血管とほぼ同等の内皮依存性の血管反応性が認められるという。このことは VEGF が内皮再生をもたらす重要な調節因子の一つであることを示唆している<sup>39)</sup>。しかしながら、VEGF を投与しても、同様の結果が得られなかったという報告もある<sup>41,42)</sup>。VEGF を正常血管に過剰発現すると、血管局所での活性酸素の産生が亢進し、アセチルコリンによる内皮依存性の血管弛緩反応が減弱することも報告されている。

またウサギ正常頸動脈に VEGF 遺伝子を導入すると、著明な新生内膜が形成され、しかもその新生内膜内に血管腫様の内皮細胞の過増殖が見られたとの報告もある<sup>28,43)</sup>。VEGF によって内皮再生と新生内膜形成抑制が生じるという動物実験での結果を基盤として、VEGF 蛋白や遺伝子を冠動脈インターベンション後の冠動脈内に投与する臨床試験が行われたが、心筋灌流の増加は認められなかった<sup>44,45)</sup>。

動脈硬化患者では血中 VEGF 濃度が高く、急性冠症候群の患者では入院時の血中 VEGF 濃度が高い程予後が悪いという報告がある<sup>46)</sup>。このことは、増加した VEGF が骨髄由来細胞の動員、炎症、平滑筋遊走、などを惹起し、病変増悪や予後悪化に関与している可能性もある。最近臨床試験において骨髄細胞の動員を促進する顆粒球コロニー刺激因子(granulocyte-colony stimulating factor : G-CSF)の使用により再狭窄が増加したことが報告され<sup>47)</sup>、再狭窄における骨髄由来細胞や炎症細胞の関与は重要である。

我々は VEGF の役割を明らかにするために、sVEGFR-1 遺伝子導入を用いて VEGF 機能を抑制

すると、内皮傷害後内膜肥厚が抑制されるかどうかを検討している。その結果、総頸動脈を傷害した家兎に sVEGFR-1 遺伝子導入を行うと、病変に浸潤してくるマクロファージが減少し、新生内膜の形成が抑制されることを観察した<sup>48)</sup>(図3)。VEGF 受容体の発現が白血球や平滑筋細胞にも認められた。驚いたことに、sVEGFR-1 投与群では再内皮化は抑制傾向にあったものの、有意なものではなかった。この現象は線維芽細胞増殖因子(fibroblast growth factor : FGF)や肝細胞増殖因子(hepatocyte growth factor : HGF)など他の血管成長因子によって再内皮化が代償された可能性がある。また、全身性に LacZ 陽性細胞を発現している ROSA マウスの骨髄を移植したマウスの大腿動脈に血管傷害を行うと、新生内膜部位に LacZ 陽性細胞が観察されるが、sVEGFR-1 投与により陽性細胞数が減少した(図3)。また血管傷害後増加する血中単球数や骨髄由来細胞も sVEGFR-1 投与により減少した。このことは sVEGFR-1 投与による血管傷害後の病変形成の抑制機序に、炎症抑制が重要な役割を果たすことを示唆する。VEGF は VEGFR-1 を発現する単球・マクロファージの走化性因子となるが、活性化されたマクロファージは VEGF を産生し、正のフィードバックを形成する。傷害部位での炎症細胞の集簇減少は循環血液中の炎症細胞の炎症部位への浸潤、分化抑制および骨髄前駆細胞の骨髄から末梢血への動員減少によるものと考えられた。

さらに最近、血管外膜の新生血管が血管傷害後の新生内膜の形成を増悪させるということが報告された<sup>49)</sup>。傷害血管に外膜側から VEGF を過剰発現させると外膜の血管新生が増強し、それに伴い新生内膜が増悪した。その新生内膜を増悪させる効果は sVEGFR-1 を同時に投与させることにより抑制されている。我々も傷害血管に内膜側より VEGF を血管壁に過剰発現させると、外膜の血管新生が増強することを観察している<sup>48)</sup>。血管傷害後の外膜新生血管数と狭窄度に相関があるという報告<sup>50)</sup>や外膜に存在する筋線維芽細胞の遊走が新生内膜形成に寄与するという報告<sup>51)</sup>もあり、VEGF などの血管新生促進因子を臨床使用する際には外膜血管に与える影響についても検討する必要がある。

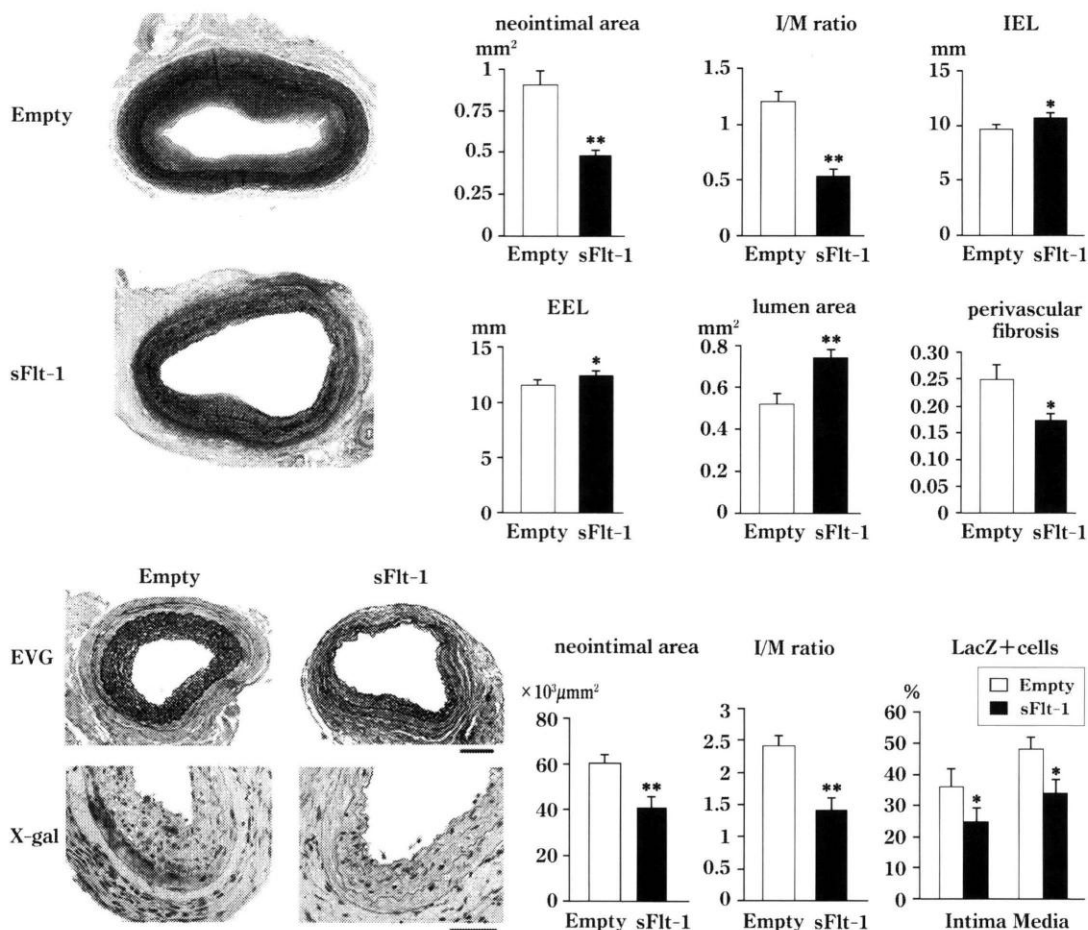


図3

上段；高コレステロール食負荷家兎頸動脈にバルーン傷害 28 日後の病理組織像 (Elastica van Gison 染色)。sFlt-1 プラスミド投与群では新生内膜の形成および陰性モデリングが抑制された。

下段；マウス大腿動脈にワイヤー傷害を行い、28 日後の病理組織像，および ROSA マウスの骨髄を移植したマウスにワイヤー傷害を行い、28 日後に  $\beta$ -gal 染色した像。sFlt-1 プラスミド投与群では LacZ 陽性細胞数の減少が観察された。

以上より VEGF は血管傷害後に血管壁細胞 (炎症細胞，平滑筋細胞など) で発現増強が認められ，増加した VEGF が炎症，骨髄細胞動員，平滑筋の遊走・分化さらには外膜の新生血管を制御し新生内膜形成に貢献していると考えられる。

### 終わりに

VEGF は血管内皮機能を改善し，動脈硬化病変を抑制することから，従来「内皮特異的血管保護因子」と認識されてきた。しかし，VEGF の非内皮細胞系 (白血球，骨髄由来幹細胞，平滑筋細胞) への多彩な機能が明らかとなり，VEGF の機能抑制によって動脈硬化病変が減少することも明らかにな

りつつある。これらの成績は，VEGF は「内皮特異的血管保護因子」ではなく，血管保護作用と血管病促進作用を併せ持つ「多機能サイトカイン」である仮説を支持するものである。

VEGF 遺伝子あるいは蛋白を使用した臨床試験において，明らかな動脈硬化の進行やプラーク不安定化の兆候 (例，安定狭心症から急性冠症候群への移行) は認められていないが，今後は注意深い経過観察が必要であり慎重な患者選択基準を設定する必要があるであろう。また，炎症促進や平滑筋遊走などの動脈硬化促進作用は全ての血管新生因子が同様に認められるものかどうかは不明であり，今後の検討が待たれる。



## 文 献

- 1) Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al: Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242-8.
- 2) Jain RK: Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med* 2003; 9: 685-93.
- 3) Epstein SE, Kornowski R, Fuchs S, et al: Angiogenesis therapy: amidst the hype, the neglected potential for serious side effects. *Circulation* 2001; 104: 115-9.
- 4) Ferrara N, Davis-Smyth T: The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18: 4-25.
- 5) Ferrara N: VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 795-803.
- 6) Carmeliet P, Moons L, Luttun A, et al: Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nat Med* 2001; 7: 575-83.
- 7) Shibuya M: Role of VEGF-flt receptor system in normal and tumor angiogenesis. *Adv Cancer Res* 1995; 67: 281-316.
- 8) Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, et al: Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science* 1999; 284: 1994-8.
- 9) Oosthuysen B, Moons L, Storkebaum E, et al: Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. *Nat Genet* 2001; 28: 131-8.
- 10) Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, et al: Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996; 380: 439-42.
- 11) Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, et al: Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. *Nature* 1995; 376: 62-6.
- 12) Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, et al: Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. *Nature* 1995; 376: 66-70.
- 13) Autiero M, Waltenberger J, Communi D, et al: Role of PlGF in the intra- and intermolecular cross talk between the VEGF receptors Flt1 and Flk1. *Nat Med* 2003; 9: 936-43.
- 14) Luttun A, Tjwa M, Moons L, et al: Revascularization of ischemic tissues by PlGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1. *Nat Med* 2002; 8: 831-40.
- 15) Oura H, Bertocini J, Velasco P, et al: A critical role of placental growth factor in the induction of inflammation and edema formation. *Blood* 2003; 101: 560-7.
- 16) Hattori K, Dias S, Heissig B, et al: Vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 stimulate postnatal hematopoiesis by recruitment of vasculogenic and hematopoietic stem cells. *J Exp Med* 2001; 193: 1005-14.
- 17) Gerber HP, Malik AK, Solar GP, et al: VEGF regulates haematopoietic stem cell survival by an internal autocrine loop mechanism. *Nature* 2002; 417: 954-8.
- 18) Ziegler BL, Valtieri M, Porada GA, et al: KDR receptor: a key marker defining hematopoietic stem cells. *Science* 1999; 285: 1553-8.
- 19) Kabrun N, Buhring HJ, Choi K, et al: Flk-1 expression defines a population of early embryonic hematopoietic precursors. *Development* 1997; 124: 2039-48.
- 20) Eriksson U, Alitalo K: VEGF receptor 1 stimulates stem-cell recruitment and new hope for angiogenesis therapies. *Nat Med* 2002; 8: 775-7.
- 21) Inoue M, Itoh H, Ueda M, et al: Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human coronary atherosclerotic lesions: possible pathophysiological significance of VEGF in progression of atherosclerosis. *Circulation* 1998; 98: 2108-16.
- 22) Tsurumi Y, Murohara T, Krasinski K, et al: Reciprocal relation between VEGF and NO in the regulation of endothelial integrity. *Nat Med* 1997; 3: 879-86.
- 23) Zachary I, Mathur A, Yla-Herttuala S, et al: Vascular protection: A novel nonangiogenic cardiovascular role for vascular endothelial growth factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1512-20.
- 24) Laitinen M, Zachary I, Breier G, et al: VEGF gene transfer reduces intimal thickening via increased production of nitric oxide in carotid arteries. *Hum Gene Ther* 1997; 8: 1737-44.
- 25) Luo Z, Asahara T, Tsurumi Y, et al: Reduction of vein graft intimal hyperplasia and preservation of endothelium-dependent relaxation by topical vascular endothelial growth factor. *J Vasc Surg* 1998; 27: 167-73.
- 26) Barleon B, Sozzani S, Zhou D, et al: Migration of human monocytes in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) is mediated via the VEGF receptor flt-1. *Blood* 1996; 87: 3336-43.
- 27) Min JK, Lee YM, Hun Kim J, et al: Hepatocyte Growth Factor Suppresses Vascular Endothelial Growth Factor-Induced Expression of Endothelial ICAM-1 and VCAM-1 by Inhibiting the Nuclear Factor- $\kappa$ B Pathway. *Circ Res* 2005
- 28) Yonemitsu Y, Kaneda Y, Morishita R, et al: Characterization of in vivo gene transfer into the arterial wall mediated by the Sendai virus (hemagglutinating virus of Japan) liposomes: an effective tool for the in vivo study of arterial diseases. *Lab Invest* 1996; 75: 313-23.
- 29) Epstein SE, Stabile E, Kinnaird T, et al: Janus phenomenon: the interrelated tradeoffs inherent in therapies designed to enhance collateral formation and those designed to inhibit atherogenesis. *Circulation* 2004; 109: 2826-31.
- 30) Kim I, Moon SO, Kim SH, et al: Vascular endothelial growth factor expression of intercellular adhesion mole-

- cule 1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), and E-selectin through nuclear factor-kappa B activation in endothelial cells. *J Biol Chem* 2001; 276: 7614-20.
- 31) Marumo T, Schini-Kerth VB, Busse R: Vascular endothelial growth factor activates nuclear factor-kappaB and induces monocyte chemoattractant protein-1 in bovine retinal endothelial cells. *Diabetes* 1999; 48: 1131-7.
  - 32) Ishida A, Murray J, Saito Y, et al: Expression of vascular endothelial growth factor receptors in smooth muscle cells. *J Cell Physiol* 2001; 188: 359-68.
  - 33) Wang H, Keiser JA: Vascular endothelial growth factor upregulates the expression of matrix metalloproteinases in vascular smooth muscle cells: role of flt-1. *Circ Res* 1998; 83: 832-40.
  - 34) Celletti FL, Waugh JM, Amabile PG, et al: Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression. *Nat Med* 2001; 7: 425-9.
  - 35) Moulton KS, Heller E, Konerding MA, et al: Angiogenesis inhibitors endostatin or TNP-470 reduce intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 1999; 99: 1726-32.
  - 36) Moulton KS, Vakili K, Zurakowski D, et al: Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 4736-41.
  - 37) Van Belle E, Tio FO, Couffignal T, et al: Stent endothelialization. Time course, impact of local catheter delivery, feasibility of recombinant protein administration, and response to cytokine expedition. *Circulation* 1997; 95: 438-48.
  - 38) Asahara T, Bauters C, Pastore C, et al: Local delivery of vascular endothelial growth factor accelerates reendothelialization and attenuates intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid artery. *Circulation* 1995; 91: 2793-801.
  - 39) Asahara T, Chen D, Tsurumi Y, et al: Accelerated restitution of endothelial integrity and endothelium-dependent function after phVEGF165 gene transfer. *Circulation* 1996; 94: 3291-302.
  - 40) Hutter R, Carrick FE, Valdiviezo C, et al: Vascular endothelial growth factor regulates reendothelialization and neointima formation in a mouse model of arterial injury. *Circulation* 2004; 110: 2430-5.
  - 41) Lindner V, Reidy MA: Expression of VEGF receptors in arteries after endothelial injury and lack of increased endothelial regrowth in response to VEGF. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 1399-405.
  - 42) Matsuno H, Ishisaki A, Nakajima K, et al: Lack of alpha 2-antiplasmin promotes re-endothelialization via over-release of VEGF after vascular injury in mice. *Blood* 2003; 102: 3621-8.
  - 43) Celletti FL, Waugh JM, Amabile PG, et al: Inhibition of vascular endothelial growth factor-mediated neointima progression with angiostatin or paclitaxel. *J Vasc Interv Radiol* 2002; 13: 703-7.
  - 44) Henry TD, Annex BH, McKendall GR, et al: The VIVA trial: Vascular endothelial growth factor in Ischemia for Vascular Angiogenesis. *Circulation* 2003; 107: 1359-65.
  - 45) Hedman M, Hartikainen J, Syvanne M, et al: Safety and feasibility of catheter-based local intracoronary vascular endothelial growth factor gene transfer in the prevention of postangioplasty and in-stent restenosis and in the treatment of chronic myocardial ischemia: phase II results of the Kuopio Angiogenesis Trial (KAT). *Circulation* 2003; 107: 2677-83.
  - 46) Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al: Prognostic significance of angiogenic growth factor serum levels in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107: 524-30.
  - 47) Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, et al: Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *Lancet* 2004; 363: 751-6.
  - 48) Ohtani K, Egashira K, Hiasa K, et al: Blockade of vascular endothelial growth factor suppresses experimental restenosis after intraluminal injury by inhibiting recruitment of monocyte lineage cells. *Circulation* 2004; 110: 2444-52.
  - 49) Khurana R, Zhuang Z, Bhardwaj S, et al: Angiogenesis-dependent and independent phases of intimal hyperplasia. *Circulation* 2004; 110: 2436-43.
  - 50) Kwon HM, Sangiorgi G, Ritman EL, et al: Adventitial vasa vasorum in balloon-injured coronary arteries: visualization and quantitation by a microscopic three-dimensional computed tomography technique. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 2072-9.
  - 51) Sartore S, Chiavegato A, Faggini E, et al: Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant. *Circ Res* 2001; 89: 1111-21.