

## 心臓血管外科領域の再生医療—実験から臨床へ

長澤 淳\*, 新井 善雄\*, 米田 正始\*\*

## はじめに

再生医療という言葉の定義や歴史に関しては諸説あるが、1980年代後半にそれまでの組織工学、再生生物学の技術を応用した再生医工学と呼ばれる分野が確立され、90年代に入ってその技術の臨床応用が検討されるに至り再生医療 (regenerative medicine) という新たな概念が確立されたというのがひとつの見方である。90年代後半になって胚性幹細胞 (ES 細胞) を中心とする幹細胞研究が劇的な進歩を遂げたのに伴い再生医療の研究も爆発的な広がりを見せ、今世紀に入る頃には既にヒトを対象とした臨床試験が様々な領域で行われるようになった。

心臓血管外科領域においても血管新生を促進する増殖因子の存在が明らかとなって以来、血管内皮増殖因子 (VEGF)、線維芽細胞増殖因子 (FGF)、肝細胞増殖因子 (HGF) などによる虚血組織への治療的血管新生の可能性が示唆され、多くの研究が行われて来た。その中で例えば塩基性線維芽細胞増殖因子 (Basic fibroblast growth factor: bFGF) には血管新生 angiogenesis および動脈形成 arteriogenesis (小動脈レベルの血管拡張, リモデリング) を促進する作用が強く、HGF は組織の線維化抑制や抗アポトーシス作用を持つなど、それぞれの増殖因子の持つ特性が明らかにされてきた。

しかしながらいずれの増殖因子も組織内での生理学的活性の持続時間が極めて短く、局所で一定期間有効な濃度を保つことが困難であるため、その効果的な投与方法が模索されてきた。遺伝子治

療や細胞移植治療などの多くもそうした増殖因子の徐放を主な目的として試みられており、有効性を示唆する報告も多数見られる<sup>1~4)</sup>。しかし、ウイルスやプラスミドなどの遺伝材料には短期、長期的な安全性も含めて未だ多くの課題が残されており、細胞移植には自己の細胞を利用しない限り拒絶反応や倫理的な問題が生じる他、十分な細胞数を確保するためには採取時に大きな侵襲やリスクを伴い、さらには移植する細胞の種類や細胞数についても十分なコンセンサスは得られていない。

このような状況から我々は遺伝材料も細胞も使わない第3の方法として田畑らの開発した生体吸収性ゼラチンハイドロゲルによる蛋白徐放システム<sup>5)</sup>に着目し、これを用いた増殖因子の徐放投与を中心に、単独、あるいは心筋再生を目的とする細胞移植や外科的治療法との組み合わせ療法という形で重度の虚血性疾患や重症心不全に対する新たな治療法の開発に取り組んできた。

本稿では動物を用いた前臨床研究から臨床応用の試みに至るまで、これまでの我々の取り組みを中心に心臓血管外科領域における再生医療の現状を概説する。

## ゼラチンハイドロゲルによる bFGF 徐放システム

## A. bFGF 徐放システムの原理

徐放担体であるゼラチンは血漿増量剤、外科用材料、薬物添加剤などとしての長い臨床使用実績を持ち、生体内での安全性は十分に証明されている。

bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルの調製は、まず中性領域で分子全体が負電荷をもつ酸性ゼラチンを化学架橋して水不可溶のゼラチンハイドロゲルを作製し、これに bFGF 溶液を加えて室温で1時間静置する。bFGF 分子とゼラチン分子とは主にクーロン力で結びつき、bFGF は活性を保った

\*京都大学大学院医学研究科器官外科学講座、  
心臓血管外科学

\*\*同 教授

ままゼラチンハイドロゲル内に包含される。ゼラチンハイドロゲルが生分解されるに従い bFGF が生体内に徐放されることとなる。

## B. bFGF 徐放システムの特徴

bFGF の徐放期間はハイドロゲルの生分解期間を決める含水率により規定され、含水率を変えることで徐放期間を数日から数週間にわたり自由に調節することができる。さらには投与形態も粒子状、シート状、ディスク状など投与対象に応じて自由に変えられるという利点もある。

この bFGF ゼラチン徐放体による血管新生療法は、これまでに試みられた治療法に比べて、①安全性の高いゼラチンを局所に使用することによりウイルスやプラスミドなどの遺伝材料なしに bFGF 徐放の局所治療効果を発揮できる、②骨髓採取のような侵襲の大きな処置を必要としない、③局所使用のため bFGF 血中濃度の上昇を認めず、全身の副作用を伴わない、④操作手技が簡便である、などの利点を有している。

## 重症下肢閉塞性動脈疾患に対する血管新生療法

### A. 下肢虚血動物モデルを用いた実験

ウサギ大腿動脈を結紮して下肢虚血モデルを作製し、bFGF (100 $\mu$ g) 徐放化ゼラチンハイドロゲル粒子の大腿部筋肉内注射を行ったところ、投与 4 週間には血流改善効果を認め (図1)、組織像でも

対照群に比べて有意な血管新生を認めた<sup>6)</sup>。有効投与量は異なるものの同様の効果は糖尿病マウス、高脂血症マウスでも確認された。さらに bFGF と HGF の同時徐放投与を行ったところ、血管新生増強、血管成熟性促進効果が認められた<sup>7)</sup>。

### B. 臨床試験

こうした知見をふまえて我々の施設では既に bFGF 徐放による虚血下肢疾患に対する第 I-II 相臨床試験を開始している。試験では bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルを虚血患肢の下腿部に筋肉内注射し (図2)、4 週間後と 24 週後に評価を行っている。現在 7 症例まで経験した時点で明らかな有害事象は認めておらず、臨床症状の改善、潰瘍の治癒 (図3) などの有効性を認めている。一方、bFGF の血中濃度の有意な上昇は認めておらず、それらが局所投与による効果であることを示唆している。また特筆すべきことは投与法の簡便さであり、腰椎麻酔下に 1 症例平均 15 分程度しか必要としない。すなわち bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルによる血管新生療法は手技的に非常に簡便であり「時間的・空間的」局所治療が可能であることから従来の血管新生療法に比べてより安全性・低侵襲性が期待できるという点で画期的であると考えられる。今後症例を重ね用量効果を含めた有効性と安全性を確認していく予定である。

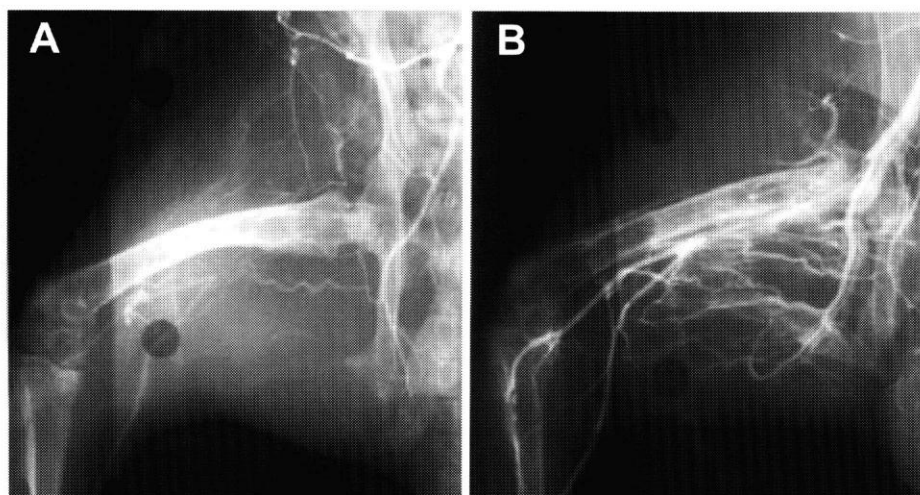


図1 ウサギ下肢虚血モデルの治療 4 週後の下肢造影所見  
(A) 対照群, (B) bFGF 投与群。側副血行を介して末梢動脈が造影されている。

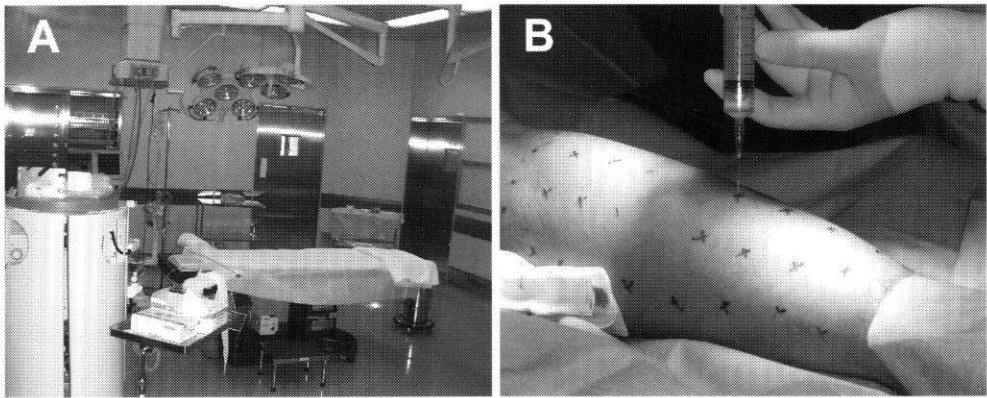


図2 bFGF 徐放の手技

(A) Day surgery room の様子, (B) 腰椎麻酔下で 40~50 ヲ所に筋注する. 所要時間は 15 分程度.

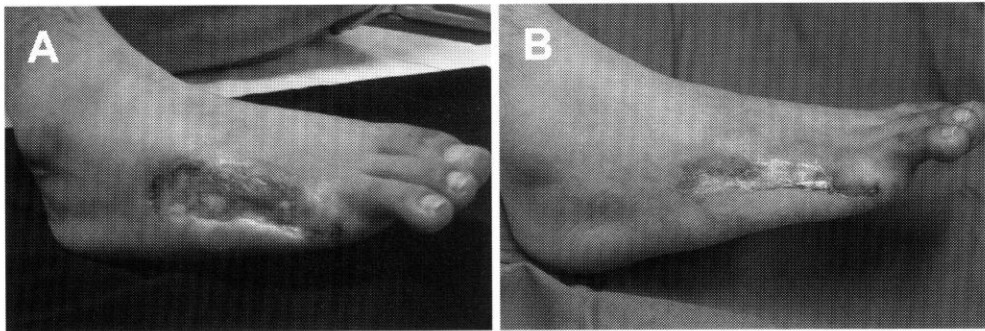


図3 bFGF 徐放投与による難治性潰瘍の治癒

(A) 治療前, (B) 治療 3 ヲ月後

### びまん性冠動脈病変に対する血管新生療法

#### A. bFGF 心筋内徐放投与

ラット慢性心筋梗塞モデルで梗塞部および梗塞周辺部に bFGF (100 $\mu$ g) 含有ゼラチン粒子を心筋内投与したところ, 処置後 4 週目に治療群では梗塞周辺部の豊富な血管新生を認め, 対照群に比べて有意な心拡大の抑制と心収縮力の改善が見られた<sup>8)</sup>. さらに, ブタの左冠動脈前下行枝近位部をカテーテルを用いて塞栓させて心筋梗塞モデルを作製し, 4 週間後に梗塞周辺部に bFGF (200 $\mu$ g) 含有ゼラチン粒子を心筋内投与したところ, 術後 4 週目の冠動脈造影では閉塞した冠動脈の末梢が側副血行路を介して造影され, 心不全の指標となる血漿中の脳性利尿ペプチド (brain natriuretic peptide: BNP) 濃度は処置群で有意に低下していた<sup>9)</sup>.

さらに我々は同じブタ梗塞モデルを用いて骨髄細胞移植による血管新生療法との比較実験を行い,

徐放化 bFGF による血管新生療法においては血管径 100 $\mu$ m 以上の細動脈レベルの血管が多く誘導されること (arteriogenesis) を示した (図4). 冠動脈の側副血行路の血流増加はおもに arteriogenesis によってもたらされ, 毛細血管レベルでの血管新生 (angiogenesis) はあまり寄与しないことを考えると, 血管新生療法における bFGF の優位性があらためて確認された.

びまん性に狭窄病変を有する冠動脈に対して可能な範囲まで内膜剥離などを行い外科的バイパス吻合を行った上で吻合部の遠位側にこの手法を応用すれば, 徐放化 bFGF が末梢の run-off を改善してグラフトの開存率を向上させることが期待できる. 現在そのための臨床試験を申請中である.

#### B. バイオ CABG

虚血性心疾患の末期像である虚血性心筋症においては心臓全体が広範囲に虚血に陥っており, なおかつ冠動脈病変が進行しているため外科的には

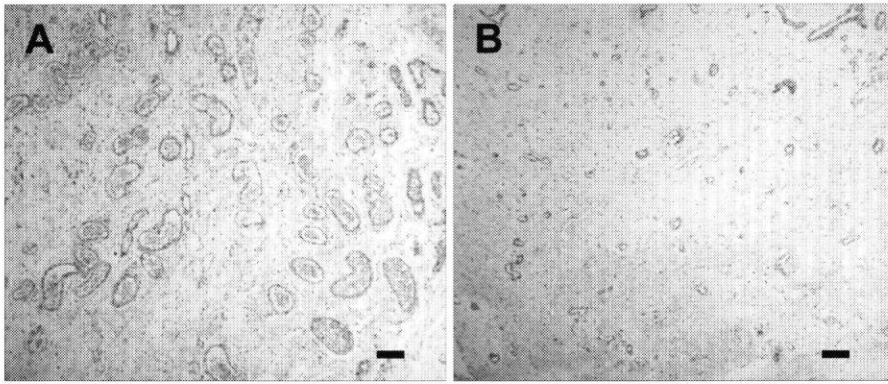


図4 徐放化 bFGF 投与後(A), および骨髄細胞移植後(B)の梗塞周囲部における新生血管  
bFGF 群では直径  $100\mu\text{m}$  以上の大口径の血管が多く見られるのに対し, 骨髄細胞移植群では小口径のものがほとんどである。(スケールバー:  $100\mu\text{m}$ )

バイパスが不可能という状態が稀ではない。このような状況では心筋内で血管新生を誘導するのみでは血流改善効果に限界がある。しかし、細径でも冠動脈枝が存在する、心臓外からの血液供給源が得られる、心臓内での arteriogenesis を誘導できる、という3条件が揃えられれば、この限界を乗り越えることができる。

ウサギ慢性心筋虚血モデルで虚血部に bFGF ( $100\mu\text{g}$ ) 含有ゼラチンシートを置き、その上から胃大網動脈を茎とする有茎の大網組織を縫着したところ、4週後には血管造影によって同部位の豊富な血管新生と胃大網動脈から側副血行を介して直接鈍縁枝に流入する血流が認められた(図5)<sup>10</sup>。この手法を用いれば、従来は手術適応とされなかったような冠動脈病変に対しても心臓外の血流源から生物学的にバイパス吻合を作製することができる。

外科的吻合による CABG に対して、biomaterial を用いた吻合というほどの意味で“バイオ CABG”と名付けたこの手法は、すでに京都大学医学部において倫理委員会の承認を終え、臨床試験が開始されている。

#### 瘢痕化した心室壁に対する心筋再生療法

##### A. 細胞移植療法の意義

血管新生療法には虚血を改善し梗塞境界領域に存在する気絶・冬眠心筋を目覚めさせる効果はあるが、すでに瘢痕組織に変わり果てた梗塞壁を再生する効果は期待しがたい。広範囲の梗塞巣によりポンプ機能不全に陥った虚血性心筋症に対しては

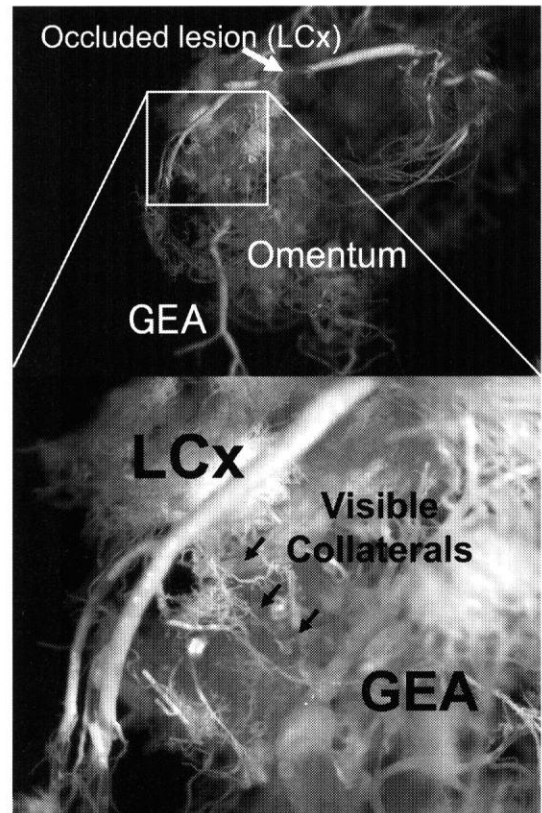


図5 胃大網動脈と冠動脈の間に形成された微小血管の鑄型 (microvascular corrosion cast)

新生血管は直径  $100\mu\text{m}$  以上のものも多く存在し、arteriogenesis (動脈形成) が誘導されているのがわかる。

唯一心臓移植のみが根治的治療法として確立されているが、ドナーの安定確保が見込めない我が国では一般的な治療法として定着する見通しは暗いと

言わざるを得ない。こうした重度の虚血心に対して、かねてから我々は梗塞巣を切除あるいは縫縮する左室形成術を積極的に行ってきたり一定の成果を上げているが、その成否は残存している正常心筋の機能に依拠する部分が多いことは否めず、癒痕化した心室壁内に新たに機能する心筋を再生させることができれば、手術の質をさらに高め、より重症な症例も救うことが可能となると考えられる。

このような心筋再生のためには単に増殖因子を局所に投与するだけでは不十分であり、動力源となって心収縮能の回復に寄与する細胞そのものを局所に導入することが必要であろう。こうした観点に立ち、我々はこれまで慢性梗塞心への細胞移植療法、あるいは細胞移植と増殖因子徐放や左室形成術との併用療法などの動物実験を重ねてきた。

周知のとおり細胞移植療法は既に複数の臨床プロジェクトが国内外で行われており<sup>11,12)</sup>、いくつかのシリーズでは効果ありとの評価を得ている<sup>3,4)</sup>。しかし、実際にはこれらの治療効果は移植細胞により分泌される様々な増殖因子による効果と考えられており<sup>13)</sup>、増殖因子による効果を期待するのであれば最初から細胞を使わず増殖因子そのものを投与する方法を追求する方が、より安全で、倫理的問題を生じることもなく有利であろうというのが我々の立場である。一方、移植細胞が生着して直接心収縮力に寄与することが期待できるような治療法は未だ確立されておらず、我々もこうした治療法の開発に貢献したいと考えている。

## B. 心筋細胞移植

移植後心筋内に生着し心筋となりうる細胞としては胎児もしくは新生児の幼若な心筋細胞があり、我々も初めにこれらの細胞を用いて実験を行った。

ラット慢性心筋梗塞モデルに対して同種胎児心筋細胞を梗塞巣に移植した実験では、治療後の左室拡大の抑制と心収縮力の軽度改善は認められたものの、細胞の生着率は低く移植細胞の直接的な心収縮力への貢献を示すには至らなかった<sup>14)</sup>。

一方で同じくラット慢性心筋梗塞モデルに対して左室形成術と同時に周辺部に心筋細胞移植を行った実験では、細胞移植群で術後の左室の再拡大を抑制できることが示された<sup>15)</sup>。しかし、やはり細胞の生着率は高くなく、細胞移植に伴う液性因

子の作用が主体であった可能性がある。

心筋細胞移植は心筋再生療法のソースとして生理的ではあるが生着率が低く、臨床的にも倫理的な問題が障壁となり現実的ではない。しかし、近年 ES 細胞や体性心筋幹細胞の分離および心筋細胞への分化誘導に関する研究<sup>16~18)</sup>が長足の進歩を見せており、それらの細胞を用いた心筋再生の研究も現在同時に進めているところである。

## C. 骨格筋芽細胞移植

骨格筋芽細胞は骨格筋の筋膜上に存在し、筋損傷時に分裂・増殖して筋再生に寄与すると考えられている。ドナー細胞として自家組織からの採取が可能であること、細胞の虚血耐性・増殖能が高いことなどの長所を有するため、本来の意味での心筋再生は期待できずとも増殖因子の分泌効果や菲薄化した梗塞壁を補強して壁応力耐性を向上させる効果は期待できるとして各国で臨床試験が行われるまでに至ったが、致死性不整脈の発生が問題となり評価の分かれるところとなった<sup>19)</sup>。

我々はラット慢性心筋梗塞モデルに対して骨格筋芽細胞を大量に ( $5 \times 10^7$  個) 移植することによって梗塞壁をほぼ完全に移植細胞で置換できることを確認しており (図6)<sup>20)</sup>、心筋になりうる細胞を何らかの手段を用いて大量に生着させることができれば心室壁を再生させられる可能性を示した。

その後、骨格筋芽細胞移植と bFGF 徐放投与を併用すると細胞の生着率が約 3 倍、bFGF と同様のシステムによる HGF 徐放投与との併用では約 7 倍に向上することを確認し (図7)<sup>21)</sup>、細胞の生着率改善の手段として細胞増殖因子徐放投与の併用が有用であることを示した。

心筋細胞移植でも HGF 徐放投与の併用を試みたところ、移植細胞の生着率の増加と心機能改善効果の向上を認めている。

## D. その他の細胞ソース

B. の項で触れた心筋細胞、ES 細胞および体性心筋幹細胞、C. で触れた骨格筋芽細胞の他にもこれまでに様々な細胞を用いた移植実験が試みられている。

骨髄細胞は試験管レベルでは心筋細胞へ分化誘導できることが知られており、梗塞心への移植実験において移植細胞由来の心筋細胞の存在を示した報告もあるが<sup>22)</sup>、これらが本当に移植細胞由来

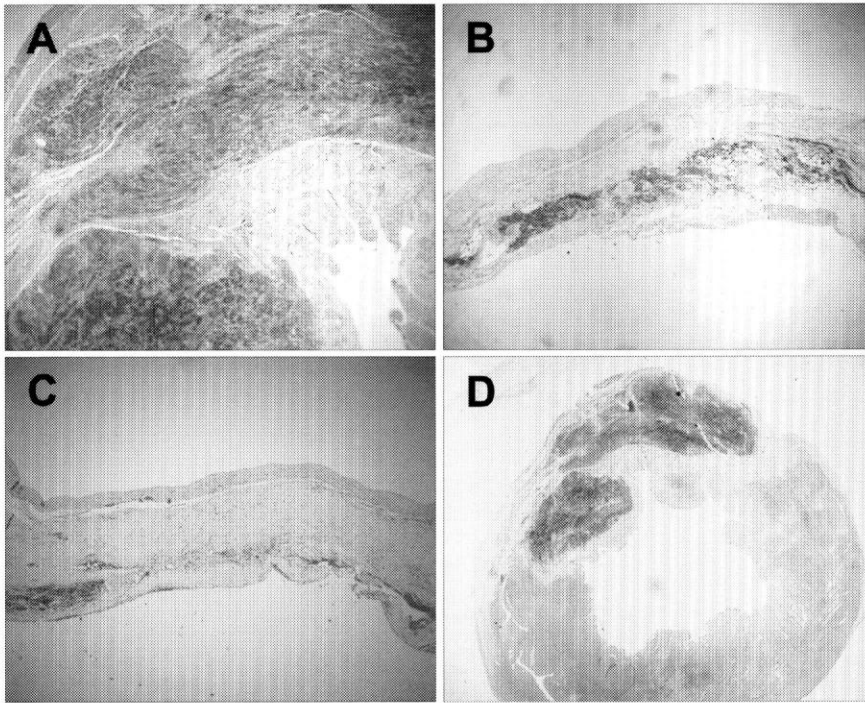


図6 大量の骨格筋芽細胞移植による梗塞壁の置換

(A) 移植細胞数  $5 \times 10^7$  個, (B)  $5 \times 10^6$  個, (C)  $5 \times 10^5$  個, (D)  $5 \times 10^7$  個の低倍率像 ( $\times 10$ ).  $5 \times 10^7$  個移植群では梗塞壁のほぼ全層が移植された骨格筋芽細胞で置換されている。

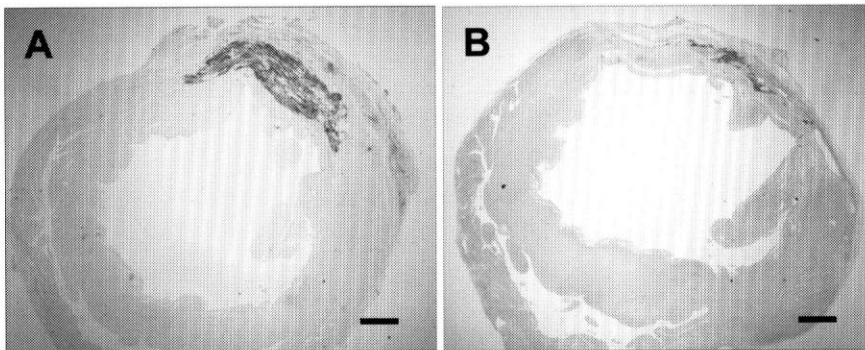


図7 骨格筋芽細胞移植と HGF の同時徐放との併用

(A) HGF 併用群, (B) 骨格筋芽細胞移植単独群 (fast skeletal myosin heavy chain に対する免疫染色). HGF 徐放投与によりグラフト体積は著増した. スケールバーは 1mm.

であるのか, 細胞融合による現象であるのかの評価は定まっていない. その後の骨髄細胞を利用した種々の実験や臨床試験においても移植細胞そのものが再生心筋として機能するというよりは, それに伴い分泌される増殖因子を介した効果に注目する考え方が主流である<sup>13)</sup>.

近年脂肪組織の中に間葉系幹細胞が多量に含まれることが知られるようになり<sup>23)</sup>, 種々のサイト

カイン分泌能や様々な細胞への分化能が報告されるに伴って, これを再生医療に利用しようという試みが様々な分野で多数行われている<sup>24,25)</sup>. ラット慢性心筋梗塞モデルを用いた我々の実験でも心機能の改善と組織内での血管新生誘導効果を認めているが, 移植細胞の心筋への分化は確認できていない. 脂肪組織由来の幹細胞は自家組織から容易にかつ大量に採取可能であるという点で大変魅

力的であり、生着後に高率に心筋細胞へ分化させることが可能になれば心筋再生のソースとして非常に有望であろう。

### E. 再生療法と左室形成術との併用

増殖因子の徐放や細胞移植といった再生療法のみで虚血性心筋症に対する治療を完結させることが出来れば画期的なことではあるが、それだけで拡張した心室の形態が修復され心機能が正常化するとは考えにくく、現実的ではない。こうした再生療法を効果的に利用できる場として、我々は前述のごとく左室形成術との併用療法を考えている。

既に左室形成術と心筋細胞移植を併用することで術後の左室の再拡大を抑制できることは示したが<sup>15)</sup>、左室形成術と種々の増殖因子の徐放を併用することでより大きな治療効果が得られるものと考えており、現在そのための動物実験の基礎データを蓄積しているところで、一日も早い臨床応用を目指している。

### 胸骨早期再生に対する bFGF 徐放の応用

#### A. 心臓手術における胸骨再生の重要性

心臓外科手術においては、胸骨正中切開により心臓にアプローチするのが一般的である。心臓の操作が終わり閉創する際には胸骨の切開面を合わせるようにワイヤーで固定するが、胸骨の切開部が癒合するまでの約3ヵ月間は体動時の創部痛出現や胸骨離開を予防するために胸部の回旋運動や荷物を持つことなど創部に対する負荷運動の制限が必要となる。胸骨癒合が不十分な場合には、胸骨切開部の虚血や壊死から感染を併発し胸骨骨髓炎を発症して最終的に縦隔洞炎へ移行する場合がある。心臓手術後の縦隔洞炎の発生率は2%程度といわれているが、発症後の死亡率は高率である。

近年では虚血性心疾患患者の高齢化と他臓器疾患を合併した重症例の増加傾向が顕著であり、これらの患者には組織癒癒力の低下や易感染性が見られる場合がある。一方、静脈グラフトの遠隔開存率に問題がある反面、動脈グラフト、特に内胸動脈の開存率が良好との報告から、バイパスのグラフトとして両側内胸動脈を使用する機会が増えている。しかし、内胸動脈は胸骨にとっての栄養血管でもあり、内胸動脈をグラフトとして使用することで胸骨への血流は減少することになる。こ

のことが胸骨の治癒経過を遅らせるだけでなく胸骨合併症の頻度を増加させることにつながる。

このような状況において胸骨の治癒を促進させ胸骨合併症のリスクを減らすことは非常に大きな意味を持つ。また、胸骨の早期治癒は感染予防のみならず、早期退院、早期社会復帰にもつながり、社会的経済的メリットも大きいと思われる。

#### B. bFGF 徐放化ゼラチンシートによる胸骨再生 (動物実験から臨床試験まで)

これまでに bFGF は優れた血管新生効果や骨新生効果を有していることが知られており、我々が求める胸骨の早期治癒には非常に有用であると考えられた。

そこでまず糖尿病ラットを用いて、胸骨正中切開後に両側内胸動脈を結紮・切離して胸骨虚血モデルを作成し、胸骨下に bFGF 徐放化ゼラチンシート (100 $\mu$ g/sheet) を接着させ胸骨を閉鎖した群 (bFGF 群) とゼラチンシートのみを接着させた群 (対照群) を比較したところ、術後4週間目の血流測定で bFGF 群では有意な血流量の増加が見られた。さらに胸骨縦隔洞炎発生率の比較においても、bFGF 群は有意に発生率が少ないという結果が得られた<sup>26)</sup>。

小動物に続いて大動物での実験を行い、ビーグル犬を用いて胸骨切開後両側内胸動脈を剥離・切除し bFGF 含有シートを縫着した群 (bFGF 群) と対照群を比較したところ、bFGF 群では小動物実験と同様に血流量の増加が見られた。さらには術後4周目のレントゲン写真と組織標本の比較にて、bFGF 群では完全な骨癒合と軟骨内骨化を認めたのに対して、対照群では一部にしか見られなかった (図8)<sup>27)</sup>。

以上の結果より bFGF が胸骨治癒に対して有用であることが確認できたため、現在倫理委員会の承認のもとに臨床試験を開始し、更なる安全性と有効性の確認を行っているところである。

### 結 語

再生医療は新たな治療戦略としての大きな期待を背負い、様々な分野で様々な手法による臨床応用が開始され、その有効性が報告されている。心臓血管外科領域でも血管新生療法を中心に研究が進んでおり、すでに一部は実用化されつつある。

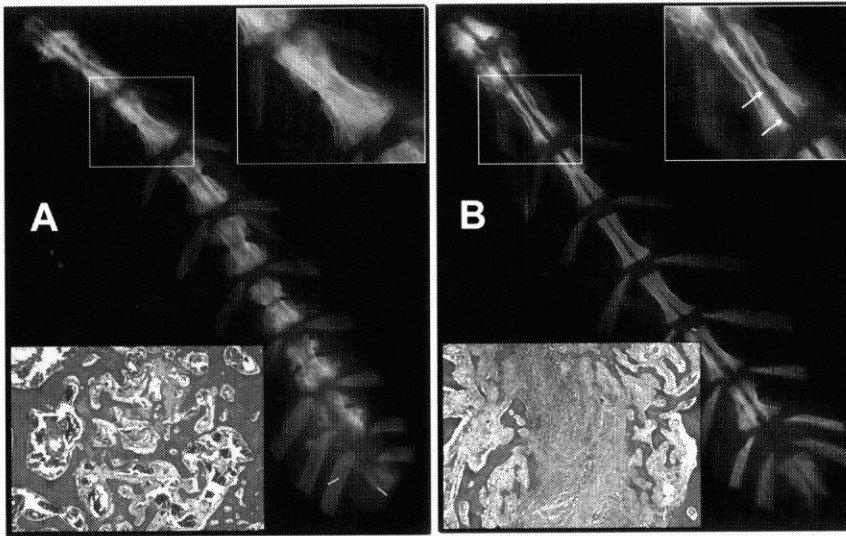


図8 治療 4 週後における胸骨レントゲン写真と組織標本(アザン染色)  
(A) bFGF 群, (B) 対照群. bFGF 群では骨癒合と軟骨内骨化が著明.

その一方で臨床の現場では動物実験とは相反する結果も報告されており、現状ではまだ十分なエビデンスやコンセンサスが得られていない部分もある。

生体吸収性ゼラチンハイドロゲルによる増殖因子の徐放化は、従来の再生療法の欠点を補う新たな可能性を秘めている。また単独療法としてのみならず、従来の内科的・外科的治療、さらには細胞移植など他の先進医療と併用することでその効果を十分発揮することが期待される。

今後は長期的な治療効果、適切な治療時期、対象病態の選択などを厳正な大規模臨床試験によって検証していかなければならないが、引き続き臨床と基礎研究が密接に連携をとることで、従来の治療法との位置づけが明確にされ、新たな治療手段として成熟していくことであろう。

## 文 献

- 1) Losordo DW, Vale PR, Symes JF, et al: Gene therapy for myocardial angiogenesis: initial clinical results with direct myocardial injection of pVEGF165 as sole therapy for myocardial ischemia. *Circulation* 1998; 98: 2800-4.
- 2) Ueda H, Nakamura T, Matsumoto K, et al: A potential cardioprotective role of hepatocyte growth factor in myocardial infarction in rats. *Cardiovasc Res* 2001; 51: 41-50.
- 3) Hamano K, Nishida M, Hirata K, et al: Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results. *Jpn Circ J* 2001; 65: 845-7.
- 4) Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al: Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1913-8.
- 5) Tabata Y, Yamada K, Miyamoto S, et al: Bone regeneration by basic fibroblast growth factor complexed with biodegradable hydrogels. *Biomaterials* 1998; 19: 807-15.
- 6) Nakajima H, Sakakibara Y, Tambara K, et al.: Therapeutic angiogenesis by the controlled release of basic fibroblast growth factor for ischemic limb and heart injury: toward safety and minimal invasiveness. *J Artif Organs* 2004; 7: 58-61.
- 7) Marui A, Kanematsu A, Yamahara K, et al: Simultaneous application of basic fibroblast growth factor and hepatocyte growth factor to enhance the blood vessels formation. *J Vasc Surg* 2005; 41: 82-90.
- 8) Iwakura A, Fujita M, Kataoka K, et al: Intramyocardial sustained delivery of basic fibroblast growth factor improves angiogenesis and ventricular function in a rat infarct model. *Heart Vessels* 2003; 18: 93-9.
- 9) Sakakibara Y, Tambara K, Sakaguchi G, et al: Toward surgical angiogenesis using slow-released basic fibroblast growth factor. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003; 24: 105-11; discussion 112.
- 10) Ueyama K, Bing G, Tabata Y, et al.: Development of biologic coronary artery bypass grafting in a rabbit model: revival of a classic concept with modern biotechnology. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 127: 1608-15.
- 11) Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, et al: Infarct



- remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation* 2003; 108: 2212-8.
- 12) Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al: Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004; 364: 141-8.
  - 13) Mangi AA, Noiseux N, Kong D, et al: Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts. *Nat Med* 2003; 9: 1195-201.
  - 14) Sakakibara Y, Tambara K, Lu F, et al: Cardiomyocyte transplantation does not reverse cardiac remodeling in rats with chronic myocardial infarction. *Ann Thorac Surg* 2002; 74: 25-30.
  - 15) Sakakibara Y, Tambara K, Lu F, et al.: Combined procedure of surgical repair and cell transplantation for left ventricular aneurysm: an experimental study. *Circulation* 2002; 106: I193-7.
  - 16) Yamashita JK, Takano M, Hiraoka-Kanie M, et al: Prospective identification of cardiac progenitors by a novel single cell-based cardiomyocyte induction. *FASEB J* 2005; 19: 1534-6.
  - 17) Matsuura K, Nagai T, Nishigaki N, et al: Adult cardiac Sca-1-positive cells differentiate into beating cardiomyocytes. *J Biol Chem* 2004; 279: 11384-91.
  - 18) Oh H, Chi X, Bradfute SB, et al: Cardiac muscle plasticity in adult and embryo by heart-derived progenitor cells. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1015: 182-9.
  - 19) Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, et al: Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1078-83.
  - 20) Tambara K, Sakakibara Y, Sakaguchi G, et al: Transplanted skeletal myoblasts can fully replace the infarcted myocardium when they survive in the host in large numbers. *Circulation* 2003; 108 Suppl 1: II259-63.
  - 21) Tambara K, Premaratne GU, Sakaguchi G, et al: Administration of control-released hepatocyte growth factor enhances the efficacy of skeletal myoblast transplantation in rat infarcted hearts by greatly increasing both quantity and quality of the graft. *Circulation* 2005; 112: I129-34.
  - 22) Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al: Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-5.
  - 23) Miranville A, Heeschen C, Sengenès C, et al: Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation* 2004; 110: 349-55.
  - 24) Guilak F, Awad HA, Fermor B, et al: Adipose-derived adult stem cells for cartilage tissue engineering. *Biorheology* 2004; 41: 389-99.
  - 25) Dudas JR, Marra KG, Cooper GM, et al: The osteogenic potential of adipose-derived stem cells for the repair of rabbit calvarial defects. *Ann Plast Surg* 2006; 56: 543-8.
  - 26) Iwakura A, Tabata Y, Tamura N, et al: Gelatin sheet incorporating basic fibroblast growth factor enhances healing of devascularized sternum in diabetic rats. *Circulation* 2001; 104: I325-9.
  - 27) Iwakura A, Tabata Y, Koyama T, et al: Gelatin sheet incorporating basic fibroblast growth factor enhances sternal healing after harvesting bilateral internal thoracic arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126: 1113-20.