ワークショップ 1 遺伝子導入法を用いた動脈硬化巣の修飾

血管壁における遺伝子治療の現状とその展望¹森 下 竜^{1,2,3} 荻 原 俊 男² 金 田 安 史³

はじめに

遺伝子治療が臨床の現場で開始され、はや 10 年近い時間が過ぎつつある。循環器疾患における遺伝子治療は当初その対象とすらみなされていなかったが、現在ではがんや先天性疾患における遺伝子治療以上にその将来性が語られている。事実、米国タフツ大学における VEGF 遺伝子による閉塞性動脈硬化症に対する遺伝子治療の臨床試験は、遺伝子治療のなかでももっとも成功している試験とみなされている。

現在、循環器疾患における遺伝子治療で臨床試験が開始されたものは、Table 1 に示すように、閉塞性動脈硬化症、経皮的血管拡張術 (PTA) 後再狭窄、グラフト再不全 (再狭窄)、心筋梗塞、狭心症など多岐にわたっている。これら循環器疾患の患者数は、閉塞性動脈硬化症で 10 万人、心筋

梗塞を含む虚血性心疾患で 200 万人など膨大な数字にのぼっており、その成果は国民生活に多大な影響を与えているものと推定されている。これら疾患の多くは、いまだ難治性であり、製薬会社が多数の薬剤を生みだし、医療費を押し上げる一因になっていることは周知のとおりである。遺伝子欠損症に対する遺伝子補充療法である第一世代から開始された遺伝子治療は、今やこれら難治性循環器疾患に対する切り札として期待される。本稿では、米国をはじめとする諸外国での臨床研究の紹介をするとともに、その主要なストラテジーについて解説する。

I. 閉塞性動脈硬化症に対する遺伝子治療

閉塞性動脈硬化症を含む peripheral arterial disease (PAD) は、歩行時疼痛 (間歇性跛行)、安静時疼痛、下肢の組織障害 (壊死) などの臨床症状を示す。通常、カテーテルによる血管拡張術 ([PTA] percutaneous transluminal angioplasty) による非手術的な再灌流療法や、静脈グラフトなどによる外科的血行再建法が用いられる。これらの治療法は、安静時疼痛や虚血による潰瘍をもつ間歇性跛行を示す患者に適當である。末梢の血管閉塞による安静時疼痛や虚血性潰瘍のある患者には有効な治療法はまだない。そこで、側副血行の促進をめざした治療法が考えられたが、まだ効果のあるものはない¹⁾。このことは、安静時疼痛や虚血性潰瘍のある多くの患者が、血管拡張術や外科的血行再建の対象となりえないことを考えあわせると重大な問題である。そのため、末梢閉塞が強度で PTA および手術が困難な場合、下肢切断が余儀なくされる。

さらに、慢性の下肢虚血を示す患者、ことに安静時疼痛や潰瘍を示す患者の予後はよくない。そのような患者は、がん患者と同じように quality-of-life が低いと考えられている²⁾。米国においては年間 15 万人が下腿切断を余儀なくされていると推定されている³⁾。同様に、日本においても最低でも年間 200 人をこえる患者が下腿切断手術をうけていると考えられている。さらに、下腿切断後の予後はさらに悪い⁴⁾。下腿切断手術による死亡率は 5~10%、より上位の大腿切断手術は 15~20% である。たとえ、生存したとしても、

Table 1. FDA により認可された循環器疾患に対する遺伝子治療の臨床試験。

ASO	VEGF	plasmid or hydrogel adenovirus
Restenosis	VEGF	plasmid + hydrogel adenovirus
	c-myc antisense	catheter
	TK with GK	adenovirus
Graft Failure	E2F decoy	Intra-operation
Myocardial Infarction	VEGF	plasmid
MI+CABG	VEGF	adenovirus
Angina	FGF-4	adenovirus

¹ 1998 年 11 月、平成 10 年度日本動脈硬化学会冬季大会 (千葉) において発表。

² 大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学

³ 大阪大学大学院医学系研究科加齢医学

Present and Future in the gene therapy for cardiovascular disease

Ryuichi Morishita^{2,3}, Toshio Ogihara³, and Yasufumi Kaneda²: ²Department of Geriatric Medicine, and ³Division of Gene Therapy Science, Osaka University, Osaka, Japan

Key words: Decoy, Angiogenesis, Restenosis, Gene therapy, Peripheral arterial disease, Hepatocyte growth factor

原稿受取日: 1999 年 2 月 26 日

約 40% の患者は最初の下腿切断の 2 年以内に死亡する。下腿切断は、30% の患者にのぼる。最終的な治癒率は、下腿切断患者の 50%、大腿切断患者の 25% にすぎない。また、一足の下肢切断をした患者の 10% は対側の下肢切断に至る。Consensus Document of the European Working Group on Critical Leg Ischemia が記しているように、現在までのところ、重症下肢虚血患者の薬物療法で文献的に効果があるものはない⁴⁾。間歇性跛行に関しても同様である^{5,6)}。

したがって、血管新生因子による側副血行路形成の可能性が多く研究者により追求された。血流不全に対するこの新しい治療法は、“治療的血管新生 (therapeutic angiogenesis)” と呼ばれている⁷⁾。Isner (米国タフツ大学) らは、血管内皮特異的増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) を用いた血管新生を報告した⁸⁾。ウサギ下肢虚血モデルへの 500~1,000 ug の VEGF (VEGF 165) の血管内単回投与は、血管造影および組織学的検討により側副血行路の形成を認めている。また、下肢において血行動態の改善も VEGF 投与により認められている。同様の結果は、10 日間の VEGF 筋肉内投与においても認められている⁹⁾。

また彼らは、VEGF165 プラスミド 400 ug を血管拡張用バルーンカテーテルの外側に塗布したハイドロゲルに封入し、ウサギ下肢虚血モデルの腸骨動脈に経皮的に導入した¹⁰⁾。VEGF (165) プラスミドの血管局所への導入は、RT-PCR 法により確認され、血管造影および組織学的検討により側副血行路の増加が証明された。虚血下肢における血行動態の改善も示された。同様の結果は、VEGF 165 プラスミドの筋肉内投与によっても示されている¹¹⁾。これらの結果は、局所への遺伝子導入が生理学的に意味のある血管新生をおこし、治療効果をもたらすことを示唆している。

これらの実験結果に基づき、Isner は米国においてヒトに対する遺伝子治療計画を開始した¹²⁻¹⁵⁾。彼らは、二つの異なった計画: 1) カテーテルによる血管壁への VEGF 遺伝子導入および、2) 注射器による VEGF 遺伝子の筋肉内への投与、を行っている。特に、後者の計画における最初の 10 肢での検討では、70% の患者で下肢切断を避けえたことが報告されている¹⁵⁾。また、血管内遺伝子導入および筋肉内遺伝子導入は、動物実験および 12 人以上にのぼるヒトでの臨床試験においても、いかなる免疫反応による毒性を示しておらず、すでに 100 人以上の患者の治療が終了し、予想以上の良好な成績が報告された^{14,15)}。筆者も、98 年末に数人の患者をタフツ大学において見学したが、カルテ上で見限り著明な効果が確認できた。

筆者らは、VEGF に代わり肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor: HGF) を用いて、治療的血管新生療法の効果を検討している。HGF は、各種の細胞において増殖や移

Pre

Vehicle

rHGF

Fig. 1 rHGF 投与による血管新生作用 (ウサギ下肢虚血モデル)

動性、形態形成に関わっていることが知られており、上皮-中胚葉系の相互作用を介して発生や形態形成に関与している。HGF は血管系において血管平滑筋細胞増殖に影響を与えず、内皮細胞のみを増殖させる血管内皮特異的増殖因子である^{16,17)}。FGF と異なり、VEGF 同様 HGF は典型的なシグナル配列をもち、細胞から分泌され¹⁸⁾、その特異的な受容体 c-met も内皮細胞に存在している¹⁹⁾。HGF の内皮特異的増殖因子としての性質は VEGF と同じで、acidicFGF や basicFGF が平滑筋細胞や線維芽細胞に増殖作用をもつことと異なっている。

われわれは HGF が直接血管新生作用をもつことを明らかにした。500 ug の組換え型 HGF の血管内投与は、ウサギ下肢虚血モデルで血管造影上、有意な血管新生を促した。血管造影では、新生血管に特異的な造影所見を示し、組織学的にも下肢の壊死改善などがみられた (Fig. 1)²⁰⁾。同様な結果は、HGF の 5 日間連続経静脈的投与においても認

Fig. 2 HGF 遺伝子導入による血管新生と ASO の治療

められている²⁰⁾。HGF の血管新生作用は、同様に Isner のグループからも報告されている²¹⁾。一方、内因性の血管壁 HGF は、閉塞性動脈硬化症患者の血管では正常血管に比べ著明に減少している。このことは、障害血管を救うのに HGF 量が十分でないことを示している²⁰⁾。培養ヒト血管平滑筋細胞における実験では、血管壁 HGF 産生低下は虚血によることが明らかになっている。したがって、HGF の補充は閉塞性動脈硬化症患者において側副血行を促進することが期待される (Fig. 2)。これらの結果に基づき、1998 年末大阪大学付属病院に、「HGF 遺伝子を用いた血管新生による末梢性血管疾患の治療 (TREAT-HGF)」に関する試験計画書を提出した (Table 1)。本臨床試験は、タフツ大学の Isner と共同で実施される予定である。

すでに米国で行われている VEGF による遺伝子治療と比較して HGF による血管新生療法の利点として、以下のことがあげられる。1) 透過性を亢進する VEGF の副作用である浮腫が HGF ではおこらない可能性がある。VEGF による浮腫は患者の疼痛を誘発することが知られているの

Fig. 3

で、この点は重要である。2) HGF の特異的受容体である c-met は虚血により増加することが報告されており²²⁾、HGF による血管新生を増す可能性がある。3) HGF によりコラーゲン分解能をもち、マトリックスを分解する MMP-1 やプラスミン活性化能を持つ uPA が増加する²³⁻²⁵⁾。uPA は不活化 HGF を活性化することが知られており、プロ HGF の活性化は uPA をさらに活性化する²⁴⁾。HGF により局所で増加する uPA は HGF の利用率を増すことにより組織循環を増すことが期待される。4) HGF は直接の血管新生作用と平滑筋細胞における VEGF 遺伝子発現増加を介する間接的な血管新生作用をもち、VEGF 以上に強力な血管新生作用をもつ²¹⁾。5) 内因性の血管壁 HGF 低下は HGF の安全域を高めると考えられる。6) HGF の血管新生作用は、VEGF 以上に強力である (Fig. 3)^{16,17,21)}。

VEGF 遺伝子による治療的血管新生療法は、Buerger 病においても効果が報告されている。同様な VEGF 遺伝子による末梢性血管障害の遺伝子治療は、フィンランド Kuopio 大学においても行われており、今後の治療効果が最も期待される遺伝子治療である。

II. 心筋梗塞に対する遺伝子治療

同様の治療的血管新生療法は、いまだ有効な治療法が見い出されていない心筋梗塞においても応用されている。動物実験において VEGF 遺伝子の導入により心筋梗塞後の心機能改善が明らかにされている^{26,27)}。また、同様な成績は bFGF 遺伝子導入や HGF 遺伝子により認められており²⁸⁾、治療的血管新生の有効性は明らかである。

そこで、閉塞性動脈硬化症の臨床試験において VEGF プラスミド導入の安全性を確認した Isner らは、VEGF 遺伝子による心筋梗塞治療の臨床試験開始の許可を FDA より得ることに成功し、すでに 20 例程度の患者に投与した。彼らの方法は、MIDCAB 時に使用されるミニ開胸術を行い、プラスミドを直視下で心筋内に注射する方法である。VEGF プラスミドの導入により、血流の増加と狭心症症状

の改善が認められている²⁹⁾。

また、コーネル大学の Crystal らは VEGF アイソフォーム 121 遺伝子をアデノウイルスベクターを用いて、CABG と同時に心筋内へ投与する臨床試験を開始している。フェーズ 1 では、安全性が証明されており³⁰⁾、現在有効性の検討を行っている。一方、bFGF 遺伝子を用いた狭心症患者に対する遺伝子治療も臨床試験が開始されており、慢性心不全を含む虚血性心疾患に対する遺伝子治療の効果が期待される。

III. 再狭窄に対する遺伝子治療

再狭窄の発生頻度は 6 ヶ月で 30~50% におよぶと推測されているが、50 以上の大規模無作為試験では有効な薬剤は認められていない。その病態は、血管平滑筋細胞の再増殖、血栓形成あるいは機械的なリコイルによりおこると考えられている。再狭窄の患者数は、国内で年間 4 万人と推定されている。現在までに考えられている再狭窄の遺伝子治療戦略は、1) 血管平滑筋細胞増殖抑制療法と、2) 内皮再生療法 (リモデリング療法) である。

血管平滑筋細胞増殖抑制療法としては、1) 平滑筋細胞を“自殺させる”自殺療法、2) 細胞周期進展を抑制する細胞周期調節療法、3) 細胞内シグナル遮断療法、などがある。再狭窄抑制の臨床試験として c-myc に対するアンチセンスオリゴが、リンクス社によりアルゼンチン、オランダ、アメリカで進められており、現在フェーズ 2 が行われている。

また、積極的な内皮修復による治療法として内皮特異的増殖因子である VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) 遺伝子導入による再狭窄予防が報告されている。米国タフツ大学 Isner らは、ベクターを用いずハイドロゲルによる VEGF 遺伝子導入による内皮再生を利用した再狭窄に対する遺伝子治療の認可を得た。すでに、20 例近くの臨床試験を行っており、再狭窄を 25% に予防しうることが明らかにされている³¹⁾。フィンランド Kuopio 大学でも、同様にリポソームを利用した VEGF 遺伝子の再狭窄予防の臨床試験 (KAT トライアル) が行われており、フェーズ 1 の結果では安全性に問題がなかったことが明らかにされた³²⁾。まもなく、アデノウイルスベクターを用いたフェーズ 2 が開始される予定であり、今後の成果が待たれる。筆者らも、後述する転写因子 E2F に対するデコイ (おとり型核酸医薬) のブタ冠動脈における再狭窄抑制効果を検討しており、臨床研究を予定している。

IV. バイパス後再狭窄に対する遺伝子治療

PTA 後再狭窄と類似した病態として、冠動脈バイパス (AC バイパス) 術後の血管内膜新生が知られており、同様

の遺伝子治療が期待されている。まず細胞周期調節遺伝子である PCNA と cdc2 キナーゼに対するアンチセンスオリゴを投与した移植血管は、内膜新生の抑制と静脈肥厚を示し (静脈の動脈化)、バイパス血管として理想的であることが明らかにされた³³⁾。さらに、この移植血管はコレステロール負荷による動脈硬化に対して抵抗性を示した。さらに、ハーバード大学 Dzau らは E2F デコイの有効性もグラフトモデルにおいて確認し、E2F デコイの臨床試験の許可を 1996 年 10 月 FDA より得た。現在、約 50 例の臨床試験が終了しており、患者からのグラフトを用いた *ex vivo* での実験では E2F デコイの有用性が確認されている。また、E2F デコイ投与をうけた患者ではグラフトの開存率が高いことも報告された³⁴⁾。グラフトに対する遺伝子治療は、*ex vivo* での治療であり、安全性が高いことより、その実現性は高い。

終わりに

本稿では、循環器疾患に対する遺伝子治療の臨床試験の現状を解説した。しかし、まだ解決すべき多くの問題が残っている。現在までの臨床試験は、プラスミドのみでベクターを用いないなど、効果よりも安全性に重点を置いた試験になっている。今後、安全で効率のよいベクターの開発と、組織への選択的導入を可能にする遺伝子導入用カテーテルなどの器具の開発が不可避であろう。また、現在行われている遺伝子治療の臨床計画は、従来のフェーズ 1 にあたるものであり、あくまでも臨床研究であって、治療ではない。現在の遺伝子治療の目的が、治療効果よりも安全性を検討することであることを強調したい。今後の遺伝子治療発展に科学的に貢献する必要があると思われる。

文 献

- 1) Marcus ML: The coronary collateral circulation, in Marcus ML (ed): The Coronary Circulation in Health and Disease. New York, McGraw-Hill, pp 231, 1983
- 2) Albers M, Fratezi AC, and DeLuccia N: Assessment of quality of life of patients with severe ischemia as a result of infrainguinal arterial occlusive disease. J Vasc Surg, 16: 54-59, 1992
- 3) Dormandy JA and Thomas PRS: What is the natural history of a critically ischemic patient with and without his leg? in Greenhalgh RM, Jamieson CW, Nicolaides AN (eds): Limb Salvage and Amputation for Vascular Disease. Philadelphia, WB Saunders Co., pp 11-26, 1988
- 4) European Working Group on Critical Leg Ischemia: Second European consensus document on chronic critical leg ischemia. Circulation, 84: IV-I-IV-26, 1991
- 5) Isner JM and Rosenfield K: Redefining the treatment of peripheral artery disease: Role of percutaneous revas-

- cularization. *Circulation*, 88: 1534-1557, 1993
- 6) Pentecost MJ, Criqui MH, Dorros G, Goldstone J, Johnston KW, Martin EC, Ring EJ, and Spies JB: Guidelines for peripheral percutaneous transluminal angioplasty of the abdominal aorta and lower extremity vessels: a statement for health professionals from a special writing group of the Councils on Cardiovascular "Radiology, Arteriosclerosis, Cardio-Thoracic and Vascular Surgery, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention, the American Heart Association. *Circulation*, 89: 511-531, 1994
 - 7) Hockel M, Schlenger K, Doctrow S, Kissel T, and Vaupel P: Therapeutic angiogenesis. *Arch Surg*, 128: 423-429, 1993
 - 8) Takeshita S, Pu L-Q, Zheng L, Ferrara N, Stein LA, Sniderman AD, Isner JM, and Symes JF: Vascular endothelial growth factor induces dose-dependent revascularization in a rabbit model of persistent limb ischemia. *Circulation*, 90: II-228-H-234, 1994
 - 9) Takeshita S, Pu LQ, Stein LA, Sniderman AD, Bunting S, Ferrara N, Isner JM, and Symes JF: Intramuscular administration of vascular endothelial growth factor induces dose-dependent collateral artery augmentation in a rabbit model of chronic limb ischemia. *Circulation*, 90: II-228-34, 1994
 - 10) Riessen R, Rahimzadeh H, Blessing E, Takeshita S, Barry JJ, and Isner JM: Arterial gene transfer using pure DNA applied directly to a hydrogel-coated angioplasty balloon. *Hum Gene Ther*, 4: 749-758, 1993
 - 11) Takeshita S, Isshiki T, Ochiai M, Eto K, Mori H, Tanaka E, Umetani K, Sato T: Endothelium-dependent relaxation of collateral microvessels after intramuscular gene transfer of vascular endothelial growth factor in a rat model of hindlimb ischemia. *Circulation*, 98: 1261-3, 1998
 - 12) Isner JM, Walsh K, Symes J, Pieczek A, Takeshita S, Lowry J, Rosenfield K, Weir L, Brogi E, and Jurayj D: Arterial gene transfer for therapeutic angiogenesis in patients with peripheral artery disease. *Hum Gene Ther*, 7: 959-988, 1996
 - 13) Isner JM, Walsh K, Rosenfield K, Schainfeld R, Asahara T, Hogan K, and Pieczek A: Clinical protocol: arterial gene therapy for restenosis. *Hum Gene Ther*, 7: 989-1011, 1996
 - 14) Isner JM, Pieczek A, Schainfeld R, and et al.: Clinical evidence of angiogenesis after arterial gene transfer of phVEGF165 in patient with ischaemic limb. *Lancet*, 348: 370-374, 1996
 - 15) Baumgartner I, Pieczek A, Manor O, Blair R, Kearney M, Walsh K, and Isner JM: Constitutive expression of phVEGF165 after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. *Circulation*, 97: 1114-1123, 1998
 - 16) Nakamura Y, Morishita R, Higaki J, Kida I, Aoki M, Moriguchi A, Yamada K, Hayashi S, Yo Y, Nakano H, Matsumoto K, Nakamura T, and Ogihara T: Hepatocyte growth factor is a novel member of the endothelium-specific growth factors: additive stimulatory effect of hepatocyte growth factor with basic fibroblast growth factor but not with vascular endothelial growth factor. *J Hypertens*, 14: 1067-1072, 1996
 - 17) Nakamura Y, Morishita R, Nakamura S, Aoki M, Moriguchi A, Matsumoto K, Nakamura T, Higaki J, and Ogihara T: A vascular modulator, hepatocyte growth factor, is associated with systolic pressure. *Hypertension*, 28: 409-413, 1996
 - 18) Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M, Seki T, Shimoniishi M, Sugimura A, Tashiro K, and Shimizu S: Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature*, 342: 440-443, 1989
 - 19) Nakamura Y, Morishita R, Higaki J, Kida I, Aoki M, Moriguchi A, Yamada K, Hayashi S, Yo Y, Matsumoto K, Nakamura T, and Ogihara T: Expression of local hepatocyte growth factor system in vascular tissues. *Biochem Biophys Res Commun*, 215: 483-488, 1995
 - 20) Morishita R, Nakamura S, Hayashi S, Taniyama Y, Moriguchi A, Nagano T, Taiji M, Noguchi H, Takeshita S, Matsumoto K, Nakamura T, Higaki J, and Ogihara T: Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as "cytokine supplement therapy". *Hypertension* (in press)
 - 21) Belle EV, Witzenbichler B, Chen D, Silver M, Chang L, Schwall R, and Isner JM: Potentiated angiogenic effect of scatter factor/hepatocyte growth factor via induction of vascular endothelial growth factor: the case for paracrine amplification of angiogenesis. *Circulation*, 97: 381-390, 1998
 - 22) Ono K, Matsumori A, Shioi T, Furukawa Y, and Sasayama S: Enhanced expression of hepatocyte growth factor/c-Met by myocardial ischemia and reperfusion in a rat model. *Circulation*, 95: 2552-2558, 1997
 - 23) Besser D, Bardelli A, Didichenko S, Thelen M, Comoglio PM, Ponzetto C, and Nagamine Y: Regulation of the urokinase-type plasminogen activator gene by the oncogene Tpr-Met involves GRB2. *Oncogene*, 14: 705-711, 1997
 - 24) Jeffers M, Rong S, and Vande-Woude GF: Enhanced tumorigenicity and invasion-metastasis by hepatocyte growth factor/scatter factor-met signalling in human cells concomitant with induction of the urokinase proteolysis network. *Mol Cell Biol*, 16: 1115-1125, 1996
 - 25) Naldini L, Vigna E, Bardelli A, Follenzi A, Galimi F, and Comoglio PM: Biological activation of pro-HGF (hepatocyte growth factor) by urokinase is controlled by a stoichiometric reaction. *J Biol Chem*, 270: 603-611, 1995
 - 26) Pearlman JD, Hibberd MG, Chuang ML, Harada K, Lopez JJ, Gladstone SR, Friedman M, Sellke FW, and Simons M: Magnetic resonance mapping demonstrates benefits of VEGF-induced myocardial angiogenesis. *Nat-Med*, 1: 1085-9, 1995
 - 27) Mack CA, Magovern CJ, Budenbender KT, Patel SR, Schwarz EA, Zanzonico P, Ferris B, Sanborn T, Isom P, Ferris B, Sanborn T, Isom OW, Crystal RG, and Rosengart TK: Salvage angiogenesis induced by adenovirus-mediated gene transfer of vascular endothelial growth

- factor protects against ischemic vascular occlusion. *J-Vasc-Surg*, 27 : 699-709, 1998
- 28) Banai S, Jaklitsch MT, Casscells W, Shou M, Shrivastav S, Correa R, Epstein SE, and Unger EF : Effects of acidic fibroblast growth factor on normal and ischemic myocardium. *Circ-Res*, 69 : 76-85, 1991
- 29) Losordo DW, Vale PR, Symes JF, Dunnington CH, Esakof DD, Maysky M, Ashare AB, Lathi K, and Isner JM : Gene therapy for myocardial angiogenesis : initial clinical results with direct myocardial injection of phVEGF165 as sole therapy for myocardial ischemia. *Circulation*, 98 : 2800-2804, 1998
- 30) Rosengart TK, Patel SR, Lee LY, Sanborn TA, Hachamovitch R, Kligfield PD, Hahn RT, Isom OW, and Crystal RG : Safety of direct myocardial VEGF121 cDNA adenovirus-mediated angiogenesis gene therapy in conjunction with coronary bypass surgery. *Circulation*, 98 : I-321, 1998
- 31) Vale PR, Wuensch DI, Rauh GF, Rosenfield KM, Schainfeld RM, and Isner JM : Arterail gene therapy for inhibiting restenosis in patients with claudication undergoing superficial femoral artery angioplasty. *Circulation*, 98 : I-66, 1998
- 32) Laitinen M, Hartikainen J, Eranen J, Kiviniemi M, Hiltunen MO, Laakso M, and Tla-Herttuala S : Catheter-mediated VEGF gene transfer to human coronary arteries after angioplasty. safety results from phase I Kuopio angioplasty gene transfer trial (KAT trial). *Circulation*, 98 : I-322, 1998
- 33) Mann MJ, Gibbons GH, Kernoff RS, Diet FP, Tsao PS, Cooke JP, Kaneda Y, and Dzau VJ : Genetic engineering of vein grafts resistant to atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92 : 4502-4506, 1995
- 34) Mann MJ, Whitemore AD, Donaldson MC, Belkin MA, Conte MS, Orav J, Polak JF, and Dzau VJ : The PREVENT trial of vein graft genetic engineering : preliminary molecular and clinical findings. (abstr) *Circulation*, 97 : I-321, 1998