〔シンポジウム 2 : 疾病と再生医療〕

骨髄由来細胞動員を介した組織再生制御機構

服部浩一^{1,*}・田代良彦^{1,2}・Heissig Beate¹¹ 東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センター幹細胞制御分野² 順天堂大学医学部下部消化管外科

(受付 2009 年 8 月 24 日, 受理 2009 年 11 月 10 日, 刊行 2009 年 12 月 15 日)

SUMMARY

Vascular endothelial growth factor (VEGF) regulates vasculogenesis and angiogenesis by signaling through two tyrosine kinase receptors, VEGF receptor-1(VEGFR1) and VEGFR2. Whereas VEGF/VEGFR2 signaling contributes to the regulation of endothelial cell lineage differentiation and proliferation, VEGF/VEGFR1 signaling in hematopoietic lineage cells can promote the mobilization of hematopoietic stem cells and induce bone marrow regeneration. These data suggest that there is a significant interaction between post-natal angiogenesis and hematopoiesis.

We reported that the activation of VEGF/VEGFR and chemokine stromal cell-derived factor-1(CXCL12)/CXCR4 signal pathways induce the mobilization of bone marrow-derived hematopoietic lineage cells. It was shown that these pathways regulate bone marrow cell differentiation and proliferation by activating matrix metalloproteinases (MMP) causing MMP-mediated hematopoietic factor, Kit ligand processing. Moreover, we have also reported that CXCL12 and VEGF are released from bone marrow-derived inflammatory cells like neutrophils or platelets.

It was demonstrated that CXCR4 positive and VEGFR1 positive lineage cells, also called hemangiocytes, can produce angiopoietin-2 which can recruit hematopoietic stem cells from the bone marrow and work as molecular HUB by augmenting revascularization in the “neo-vascular niche”. Recently, we showed that activation of the fibrinolytic system resulted in the constitutive activation of MMPs causing Kit ligand release, which promoted bone marrow regeneration after myelosuppression. These data imply that the fibrinolytic system might also play a role in regulating neoangiogenesis during tissue regeneration. Here, we will introduce recent studies from our group and several novel concepts in our current understanding of the regulation of angiogenesis.

Key words: Kit-ligand, bone marrow-derived cells, matrix metalloproteinases (MMP), SDF-1, plasmin

1. 血管新生因子による骨髄由来細胞の動員

代表的な血管新生因子である血管内皮増殖因子 VEGF-A (以下 VEGF とする) の生物学的活性は、文字通り血管構築の中心となる血管内皮細胞の増殖及び遊走の促進を始め、これに基づく血管の再生—血管新生の誘導、血管透過性の亢進、凝固・線維素溶解系(線溶系)蛋白質の産生、血管内皮細胞上へ細胞接着分子の発現の他、末梢血単球の走化性の促進等が知られている。VEGF は特異的受容体である Flt-1 (VEGF 受容体-1 : VEGFR1), Flk-1 (VEGFR2) と結合することが知られており、その関連遺伝子産物としては

VEGFR1 と特異的に結合する VEGF-B, 胎盤成長因子(PlGF) や、リンパ管内皮細胞の増殖に関与する VEGF-C, -D 等が知られている。東京医科歯科大学の渋谷らは、Flk-1 (VEGFR2) のみと特異的に結合する VEGF 関連因子 VEGF-E のクローニングを通じて、VEGF の主要な生物活性である血管内皮細胞の増殖及び遊走の促進や血管透過性の亢進といった生物学的活性が、VEGF/VEGFR2 シグナルに依存していることを示している¹⁾。これまでの研究で、VEGFR2 の発現は血管内皮系細胞に特異性が強いことが報告されているのに対し、京都大学の中畑らの解析により、VEGFR1 は造血系細胞、骨髄単球系細胞に特異的に発現しているこ

Bone marrow-derived cells play a key role in tissue regeneration

Koichi Hattori¹, Yoshihiko Tashiro^{1,2}, Beate Heissig¹

¹ Laboratory of Stem Cell Regulation, Center for Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, Institute of Medical Science at the University of Tokyo; and ²Department of Coloproctological Surgery, Juntendo University School of Medicine

* Corresponding author: Koichi Hattori; Laboratory of Stem Cell Regulation, Center for Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, Institute of Medical Science at the University of Tokyo, 4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan

第 59 回日本電気泳動学会総会

とが示唆されている²⁾。

また VEGF は、強い血管透過性亢進作用を有しているが、Regeneron 社の Yancopoulos らのグループは、近年やはり代表的な血管新生因子の一つとして研究が進められている angiopoietin (Ang) ファミリーのメンバーである Ang-1 が、VEGF の透過性亢進に対して拮抗的に働くと報告した³⁾。Ang は、血管発生の過程において、特に血管内皮と平滑筋の相互作用を制御する因子と考えられてきたが、VEGF が血管形成過程の全般に関与するのに対し、Ang は、血管形成の後期にあたる血管の成熟過程を主に制御する因子と考えられている。慶応大学の須田、大阪大学の高倉らは 2000 年に造血幹細胞が、Ang-1 を産生し、かつ血管新生を導くことを報告しており⁴⁾、これにより、以前より造血系細胞と血管内皮系細胞は、発生学上でも、その由来細胞が同一であるとの推論がなされてきているが、いわゆる血管新生の過程においても、造血幹細胞と血管内皮系細胞の両者に機能する血管新生因子 Ang/Tie シグナルを介した緊密な相互作用のあることが改めて示唆された。

2001 年、筆者らは、先の Yancopoulos らとの共同研究において、VEGF あるいは Ang-1 発現アデノウィルスベクターを重症複合免疫不全 (SCID) マウスに静注した実験で、これらの血管新生因子の一定期間の血中濃度上昇が、骨髄中の血管内皮系前駆細胞や幹細胞を含む造血系細胞を末梢血中へ動員すること、そして生体各所で異常な血管新生を誘導することを示した⁵⁾。

2. 血管新生における VEGFR1 陽性細胞の重要性

生体内において確認された VEGF によるこれらの末梢組織中への細胞動員は、興味深いことに抗 VEGFR1 及び VEGFR2 のモノクローナル抗体によって著しく障害された。そこで筆者らは、前出の VEGFR1 に単独で、特異的に結合する VEGF の関連遺伝子産物である PlGF を発現するアデノウィルスベクターを作製し、PlGF/VEGFR1、つまりは VEGF/VEGFR1 シグナルの生理学的意義を分析した。この実験を通じて筆者らは、PlGF の血中濃度依存性に末梢血中において、VEGFR1 陽性造血幹細胞及び前駆細胞の動員を認めた。その一方で、VEGF とは異なり VEGFR2 陽性の血管内皮系細胞が検出されないことや、骨髄中の VEGFR1 陽性細胞には有意な造血組織再構築能が存在すること等を確認し、2002 年に報告した⁶⁾。同時期、ベルギーのルーベン大学の Carmeliet らは、PlGF/VEGFR1 シグナルの活性化が、閉塞性動脈硬化症に伴う虚血壊死組織や腫瘍組織での異常血管新生を促進することを示唆した⁷⁾。

筆者らは、コーネル大学の Rafii らとの共同研究で、大腿動静脈結紮により一時的に虚血壊死に陥った組織の血管再生過程において、まず血液凝固の中核である血小板が、細胞動員因子であるケモカイン CXCL12 (stromal cell-driven

factor-1: SDF-1) の供給を担っていることを提示し (Fig. 1A-C)、血小板の前駆細胞である巨核球系細胞に特異性の高い細胞増殖因子トロンボポイエチン (TPO) に、こうした間接的な血管新生作用が存在することを明らかにした。筆者らはさらに組織再生過程において、形成される血管新生の至適微小環境「血管新生ニッチ」において、骨髄由来の VEGFR1 陽性 CXCR4 (CXCL12 受容体) 陽性細胞 (ヘマンジオサイト) が、ニッチの構成・構築因子として機能する、いわば「ニッチ細胞」として機能し、組織幹細胞を含む未熟な組織前駆細胞の増殖を促進することが判明している Ang-2 の産生供給や、先述の CXCL12, VEGF を組織中へ供給し、虚血壊死組織に炎症細胞として動員されてくる骨髄由来細胞との相互作用を介して、血管新生機構における「分子生物学的 HUB」の役割を担っていることを報告した (Fig. 1D-E)⁸⁾。

以上の実験結果は、いずれも血管構築に直接的に関与する VEGFR2 陽性の血管内皮系細胞以外の、VEGFR1 陽性の造血系細胞の血管新生における重要性を示唆している。

3. G-CSF による血管新生誘導機構

近年、筆者らは主に循環器系領域において、既に臨床治療も開始されている顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の血管新生における機能解析を行い、その結果を報告した (Fig. 2)⁹⁾。G-CSF は、造血幹細胞及び前駆細胞の動員および分化増殖を促進することが広く知られており、近年の末梢血幹細胞移植や大量化学療法を施行する際にも使用される重要なサイトカインである。この骨髄由来細胞の末梢血中への動員においては、各種細胞の骨髄組織中の微小環境構築に直接的に関与する細胞外マトリックス中の移動と血管基底膜の通過は不可避のプロセスであると考えられており、こうした細胞外マトリックス構成蛋白質の分解に関与するプロテアーゼの代表が、金属要求性蛋白分解酵素マトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP) である。

そのなかでも、特に血管基底膜等を構築する主要な細胞外マトリックス構成分子である IV 型コラーゲンの分解については、主に MMP-2, MMP-9 が担っていることが判明しており、筆者らは G-CSF のみならず前出の VEGF, PlGF 等の血管新生因子群、CXCL12 をはじめとするケモカイン等の生体内強制発現に伴う各種骨髄由来細胞の末梢血、末梢組織動員機構においても、特に骨髄ストローマに認められる MMP-9 活性化の重要性を確認した¹¹⁾。さらに筆者らは生体内の骨髄においては、MMP-9 の活性化によって、代表的な細胞増殖因子 Kit-ligand (stem cell factor: SCF) を膜型から可溶性へプロセッシング (細胞外ドメイン分泌) することにより、骨髄細胞の分化及び増殖が促進されることを明らかにした。最近になって、こうした MMP-9 の活性化によって誘導されるプロセッシングで生成された可溶性 Kit-

Fig. 1. Bone marrow-driven cells contribute to angiogenic niche formation.

A) In the mouse ear pinna angiogenesis model, subcutaneous recombinant TPO (200 ng every 3 d) induced substantial formation and sprouting of neovessels similar to subcutaneous treatment with VEGF-A but with less edema formation (original magnification $\times 10$). PBS-injected ear pinna was used as a control. B) Hindlimb ischemia after femoral artery ligation was performed in *Mpl*^{-/-}, *Thpo*^{-/-} or wild-type mice. Plasma levels of SDF-1 were measured at indicated time points by ELISA. Plasma SDF-1 levels were persistently higher (3.2-fold at 48 h) in wild-type mice as compared to *Mpl*^{-/-} or *Thpo*^{-/-} mice during the first 72 h after femoral artery ligation ($n=6$ per group, * $P<0.05$). C) Thrombin and VEGF-A induced dose-dependent release of SDF-1 from wild-type platelets *in vitro*. Data represent amounts of SDF-1 in 1 ml of platelet releasate obtained from 1×10^7 platelets ($n=3$ per group, * $P<0.05$). D) CXCR4⁺VEGFR1⁺ cells were predominantly localized to the perivascular and interstitial region on the abluminal aspect of the collateral CD31⁺ neovessels 7 d after transplantation (arrows in upper panels; original magnification $\times 100$). The same pattern was observed in all tested ischemic hindlimbs ($n=6$ per group). Higher magnification of the indicated area in the upper panel is shown in the lower panel (original magnification $\times 400$). E) Schematic model: SDF1-CXCR4 as the molecular hub for hematopoietic cytokine-induced neovascularization. Hemangiocytes are able to develop neovascular niche, where they express important hub molecules by stimulation with SDF-1 and VEGF in response of ischemic damage induced neovascularization. (Figure modified with permission from REF. 8).

ligand (sKitL) が、骨髄以外の末梢血管や組織の再生機構においても重要な役割を担っていることが明らかとなった (Fig. 2A-C)⁸⁾。これらの研究成果を基礎として、MMP-9 の活性化を起点とした Kit-ligand のプロセッシングを介した血管新生機構の新仮説も提唱されている (Fig. 2D)。

筆者らは、この G-CSF を含有したマトリジェルをマウス生体内に移植したところ、マトリジェル中に多数の骨髄由来細胞の動員と血管形成が認められた⁹⁾。興味深いことに G-CSF によって末梢血中に動員された細胞には、さらに骨髄由来細胞をマトリジェル内に誘導する作用が存在することが解った。また生体外でこれらの細胞を培養したところ、その上清中に高濃度の VEGF を検出した。マウス生体で下

肢虚血肢モデルを作製し、虚血壊死に陥った腓腹筋に G-CSF を連日筋注したところ、虚血壊死筋肉中に集積した Gr-1 (顆粒球系マーカー) 陽性、そして後にこれらの細胞の大半が VEGFR1 陽性であることも判明しているが、これらの造血系細胞が VEGF を組織に供給していることが明らかとなった (Fig. 3A)。そして、これらの G-CSF 投与による血管新生は抗 VEGFR1 抗体によって阻害されることから、やはり VEGF 供給の主体となる骨髄由来細胞は VEGFR1 陽性であることが示唆された (Fig. 3B)⁹⁾。このことは、先述の「血管新生ニッチ」において VEGFR1 陽性細胞が、組織に対する VEGF 供給細胞として重要な機能の一端を担っていることを暗示していると言えよう。

Fig. 2. MMP-9 activation triggers the switch in the tissue regeneration.

Hindlimb ischemia induced elevation of sKitL in plasma in *Mmp9*^{+/+} but not in *Mmp9*^{-/-} (*n* = 6 per group, **P* < 0.05). B) At 28 d after ligation, ischemic footpads showed profound swelling, ulceration and necrosis in *Mmp9*^{-/-} compared to *Mmp9*^{+/+} mice (upper panels). H&E staining of *Mmp9*^{+/+} mice showed restoration of angiomyogenesis (middle panels; original magnification × 100). *Mmp9*^{-/-} mice showed loss of viable tissues followed by necrosis and adipose replacement. CD31 (PECAM-1) staining of hindlimb muscle sections showed decreased vessel density in *Mmp9*^{-/-} mice (bottom panels; original magnification, × 400). C) H&E (left panels; original magnification, × 100) and CD31 (right panels; original magnification, × 400) staining of lower limb tissue of *Mmp9*^{-/-} mice injected with AdNull (upper panels), AdsKitL (middle panels) and AdmKitL (bottom panels) 28 d after ligation. Loss of viable tissues with adipose replacement and muscle necrosis was seen after treatment with AdNull or AdmKitL, but not in the AdsKitL-treated group, in which there was restoration of angiogenesis. (Figure modified with permission from REF. 8D) Bone marrow-derived cells induce neovascularization. Bone marrow-derived cells play a key role in tissue regeneration.

4. マスト細胞が示す血管新生促進作用

カリフォルニア大学サンフランシスコ校の Hanahan らは、MMP-9 の活性化を癌増殖に伴う異常血管新生の「血管新生スイッチ」と捉え、生体内 VEGF の産生刺激としての機能を担っているとしている¹⁰⁾。また Hanahan と Coussens らは扁平上皮の癌化機構におけるマスト細胞の関与を重要視している。ヒトパピローマウィルス 16 のトランスジェニックマウスを利用し、皮膚の前癌病変の悪性化に伴い MMP-9 活性の上昇がみられるが、MMP-9 活性はこれら悪性細胞よりもむしろ炎症により動員される好中球やマスト細胞等の骨髄由来細胞でより上昇していることを示した。そして、特に扁平上皮癌の血管新生においては、骨髄由来の炎症性マスト細胞が重要なトリガーとなっており、MMP-9 活性を上昇させる作用を持つこと等を報告した¹¹⁾。

また、筆者らは生体に対し侵襲性の少ない低線量の放射

線を照射することにより、虚血壊死組織における血管新生を介した組織再生の促進に成功しているが、この際、生体各所で MMP-9 が活性化し、末梢血液中の VEGF 濃度の上昇が認められ、VEGFR2 陽性 c-kit 陽性細胞が動員されることが示された。そして、この実験系における組織への VEGF 供給の主体は骨髄由来のマスト細胞であることが示された (Fig. 3C, D)¹²⁾。この結果から Kit-ligand の分泌増加と骨髄由来マスト細胞の増殖と末梢組織中への動員、さらには骨髄由来細胞によって供給される VEGF による血管新生、というこれらの各事象の連関が、より具体的に示唆されたことになる。

これらに加え、前出の高倉らは抗 c-kit 抗体を使用して、大腸癌の増殖を抑制することに成功しており、やはり骨髄由来の造血系細胞が血管新生を制御している可能性について言及している¹³⁾。c-kit は VEGFR と同じくチロシンキナーゼ型の受容体であるが、現在、癌に対する新たな分子標的

Fig. 3. Bone marrow-driven cells promote angiogenesis.

A) Mice were killed and ischemic gastrocnemius muscle tissue was stained using Gr-1 and VEGF antibodies. White arrows indicate Gr-1 positive cells coexpressing VEGF in the ischemic tissue. Magnification $\times 400$. Bar = 50 μm . Quantification of the number of Gr-1+VEGF+ double positive cells in the ischemic tissue. B) Representative laser Doppler perfusion images (LDPIs): Blood perfusion (red to yellow) was augmented in control and anti-VEGFR2 Ab-treated groups compared with anti-VEGFR1 Ab and combination with antibody-treated groups (green to blue) (Figure modified with permission from REF. 9). C) Hindlimb ischemia was induced in MMP-9^{+/+} mice, and mice were irradiated with 2 Gy or left unirradiated. Sections of ischemic muscle were stained with Toluidine blue to detect mast cells (a, b). Arrows indicate Toluidine positive mast cells in the ischemic muscle tissue. Adjacent sections of muscle tissue were used for VEGF mRNA in mast cells via in situ hybridization (c-f). D) Muscle tissue of mice irradiated with 2 Gy was stained for MMP-9 in WT animals on day 0 and day 10. Vessels stained strongly positive for MMP-9 after IR. Arrows indicate positively staining vessels.

療法として注目されているチロシンキナーゼ阻害剤が血管新生と造血機構の両者に作用することが報告されており、分子生物学的にもこの二つの事象の関連性が、今後さらに解明されていくことだろう。

5. 血液線溶系と組織再生の関連性

近年、生体外の実験系において、代表的な線溶系因子であるプラスミンにより、潜在型酵素 pro MMP から MMP への活性化が制御されることが判明した¹⁴⁾。これに関連して、線溶系の生体内における機能解析過程において、筆者らが、プラスミンの前駆体であるプラスミノゲンの遺伝子欠損マウス (Plg^{-/-}) に抗癌剤の投与による骨髄抑制を誘導したところ、Plg^{-/-} は、野生型マウスに比して有意な造血系細胞の分化増殖障害と致死的な骨髄組織の再生障害を呈した¹⁵⁾。また、Plg^{-/-} では MMP-9 の活性化と Kit-ligand

の産生に有意な障害が存在したこと、さらに抗癌剤による骨髄組織再生障害は、Kit-ligand の投与により有意な改善を見たこと等から、プラスミンが MMP-9 の活性化を介して、Kit-ligand のプロセッシングを誘導し、骨髄細胞動態を制御している可能性が示唆された。さらに筆者らは、驚くべきことに、既に血栓溶解薬として臨床現場に普及している組織型プラスミノゲン活性化因子 (tPA) をマウスに投与することにより、骨髄細胞の分化増殖、骨髄組織再生を促進することに成功した。こうした研究成果^{8, 15, 16)} は、線溶系の活性化による新しい組織再生療法の可能性を暗示するものと考えられ、現在、筆者らのグループでは、その副作用等の安全性の確認と、骨髄以外の生体内血管新生・組織再生における線溶系の機能解析、またこれを基礎とした各種血管閉塞性疾患に対する臨床応用の可能性について精査中である。このあたりの研究成果についてはまた別の機会

に譲ることとしたい。

生体内の血液凝固・線溶系と血管新生・組織再生との関連性については、まだまだ不明な部分が多いが、それだけに多くの発展性が見込まれる研究分野である。今後、これらの関連領域に多くの研究者が参入されることを祈念して、今回はひとまず筆を置くことにする。

文 献

- Ogawa S, Oku A, Sawano A, Yamaguchi S, Yazaki Y, Shibuya M. A novel type of vascular endothelial growth factor, VEGF-E (NZ-7 VEGF), preferentially utilizes KDR/Flk-1 receptor and carries a potent mitotic activity without heparin-binding domain. *J Biol Chem* 1998;273:31273–31282.
- Sawano A, Iwai S, Sakurai Y, Ito M, Shitara K, Nakahata T, Shibuya M. Flt-1, vascular endothelial growth factor receptor 1, is a novel cell surface marker for the lineage of monocyte-macrophages in humans. *Blood* 2001;97:785–791.
- Thurston G, Rudge JS, Ioffe E, Zhou H, Ross L, Croll SD, Glazer N, Holash J, McDonald DM, Yancopoulos GD. Angiopoietin-1 protects the adult vasculature against plasma leakage. *Nat Med* 2000;6:460–463.
- Takakura N, Watanabe T, Suenobu S, Yamada Y, Noda T, Ito Y, Satake M, Suda T. A role for hematopoietic stem cells in promoting angiogenesis. *Cell* 2000;102:199–209.
- Hattori K, Dias S, Heissig B, Hackett NR, Lyden D, Tatenos M, Hicklin DJ, Zhu Z, Witte L, Crystal RG, Moore MA, Rafii S. Vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 stimulate postnatal hematopoiesis by recruitment of vasculogenic and hematopoietic stem cells. *J Exp Med* 2001;193:1005–1014.
- Hattori K, Heissig B, Wu Y, Dias S, Tejada R, Ferris B, Hicklin DJ, Zhu Z, Bohlen P, Witte L, Hendrikx J, Hackett NR, Crystal RG, Moore MA, Werb Z, Lyden D, Rafii S. Placental growth factor reconstitutes hematopoiesis by recruiting VEGFR1(+) stem cells from bone-marrow microenvironment. *Nat Med* 2002;8:841–849.
- Luttun A, Tjwa M, Moons L, Wu Y, Angelillo-Scherrer A, Liao F, Nagy JA, Hooper A, Priller J, De Klerck B, Compernelle V, Daci E, Bohlen P, Dewerchin M, Herbert JM, Fava R, Matthys P, Carmeliet G, Collen D, Dvorak HF, Hicklin DJ, Carmeliet P. Revascularization of ischemic tissues by PlGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1. *Nat Med* 2002;8:831–840.
- Jin DK, Shido K, Kopp HG, Petit I, Shmelkov SV, Young LM, Hooper AT, Amano H, Avecilla ST, Heissig B, Hattori K, Zhang F, Hicklin DJ, Wu Y, Zhu Z, Dunn A, Salari H, Werb Z, Hackett NR, Crystal RG, Lyden D, Rafii S. Cytokine-mediated deployment of SDF-1 induces revascularization through recruitment of CXCR4⁺ hemangiocytes. *Nat Med* 2006;12:557–567.
- Ohki Y, Heissig B, Sato Y, Akiyama H, Zhu Z, Hicklin DJ, Shimada K, Ogawa H, Daida H, Hattori K, Ohsaka A. Granulocyte-colony stimulating factor promotes neovascularization by releasing vascular endothelial growth factor from neutrophils. *FASEB J* 2005;19:2005–2007.
- Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996;86:353–364.
- Bergers G, Brekken R, McMahon G, Vu TH, Itoh T, Tamaki K, Tanzawa K, Thorpe P, Itohara S, Werb Z, Hanahan D. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol* 2000;2:737–744.
- Heissig B, Rafii S, Akiyama H, Ohki Y, Sato Y, Rafael T, Zhu Z, Hicklin DJ, Okumura K, Ogawa H, Werb Z, Hattori K. Low-dose irradiation promotes tissue revascularization through VEGF release from mast cells and MMP-9 mediated progenitor cell mobilization. *J Exp Med* 2005;202:739–750.
- Okamoto R, Ueno M, Yamada Y, Takahashi N, Sano H, Suda T, Takakura N. Hematopoietic cells regulate the angiogenic switch during tumorigenesis. *Blood* 2005;105:2757–2763.
- Lijnen HR, Van Hoef B, Lupu F, Moons L, Carmeliet P, Collen D. Function of the plasminogen/plasmin and matrix metalloproteinase systems after vascular injury in mice with targeted inactivation of fibrinolytic system genes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1035–1045.
- Heissig B, Lund LR, Akiyama H, Ohki M, Morita Y, Rømer J, Nakauchi H, Okumura K, Ogawa H, Werb Z, Danø K, Hattori K. The Plasminogen fibrinolytic pathway is required for hematopoietic regeneration. *Cell Stem Cell* 2007;1:658–670.
- Heissig B, Hattori K, Dias S, Friedrich M, Ferris B, Hackett NR, Crystal RG, Besmer P, Lyden D, Moore MA, Werb Z, Rafii S. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002;109:625–637.