

## テロメア生物学から心筋再生医療の実用化へ

王 英正

岡山大学病院 新医療研究開発センター 再生医療部

キーワード: stem cells, heart failure, telomere, regeneration, cardiac function

## Telomere biology towards cardiac stem cell therapy in patients with heart failure

Hidemasa Oh

Department of Regenerative Medicine, Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital

## はじめに

テロメアはDNA配列構造を持つ染色体末端の浸食を防ぐ重要な生物学的役割を担い、その機能は特異的酵素であるテロメララーゼによって制御され、個々の細胞レベルにおける分裂増殖後の修復機構として働いている。

これまでの研究から、テロメアの短小化は遺伝子変異が確認されているヒト疾患のうち、骨髓機能不全、再生不良性貧血、肺線維症をはじめ、がんや老化、動脈硬化症、代謝性疾患などの発症にも深く関与していることが明らかにされ、幅広い臨床疾患の基本病態の理解から遺伝子診断、患者管理や治療まで極めて重要な因子である<sup>1)</sup>。本稿では、心不全病態学及び治療法の開発に焦点を当て、テロメア生物学の基礎研究から派生した先端的心筋再生医療の実用化まで包括的に述べたい。

## テロメアとテロメララーゼ

テロメアとテロメララーゼは、ゲノムの複製段階におけるDNAの非対称性分裂の実行障害を防ぐ機能があり、テロメララーゼが存在しない環境下では細胞分裂ごとに細胞のテロメア長が短小化し、集約的には老化及び細胞死に至る。詳細な分子機構として、個々の細胞の増殖には必ずDNAの複製を伴い、それは3'末端のRNAプライマーを用いたDNAポリメラーゼ反応によって引き起こされる<sup>2)</sup>。この際にRNAプライマーは各遺伝子の一本鎖DNAに沿って複製を開始するが、各染色体末端にどうしてもDNA間のギャップを残してしまう。その結果、複製された新しいDNAは複製前のDNAに比べ短くなってしまふ欠陥が生じる(図1)。

テロメアが持つユニークな反復配列はDNA構造を呈し、一本化された染色体末端に特異的にキャッピングする形で存在する(図2)。ヒトの細胞では、(TTAGGG)<sub>n</sub>の反復配列がテロメアの突出した一本鎖DNAに存在する。DNA複製後に起こるテロメアの短小化に反応し、3'側の突出した一本鎖DNAではテロメア反復配列が付加的に修復される<sup>3)</sup>。一方、テロメア自身の短小化ならびに消耗化に対応するため、二

平成23年12月受理

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話: 086-235-6530 FAX: 086-235-6505

E-mail: hidemasa@md.okayama-u.ac.jp

## ◆プロフィール◆



平成2年 弘前大学医学部医学科卒  
 平成2年 大阪大学医学部第三内科 研修医  
 平成3年 桜橋渡辺病院循環器内科 医員  
 平成7年 大阪府立成人病センター第一内科 医員  
 平成10年 大阪大学医学部分子病態内科学 医学博士  
 平成11年 Baylor College of Medicine, Department of Medicine, 研究員  
 平成14年 Baylor College of Medicine, Department of Medicine, Assistant Professor  
 平成15年 京都大学医学部附属病院 探索医療センター 助教授  
 平成19年 京都大学医学部附属病院 探索医療センター 准教授  
 平成20年 京都府立医科大学 准教授  
 平成21年 岡山大学病院 循環器疾患集中治療部 准教授  
 平成22年 岡山大学病院 新医療研究開発センター 教授

本鎖 DNA の配列部分には図 2 に示すいくつかのテロメア結合タンパクが知られている。

## テロメア長と細胞の寿命

テロメアの機能は細胞の複製過程における染色体末端の浸食をテロメア自身の DNA 反復配列の生成によ

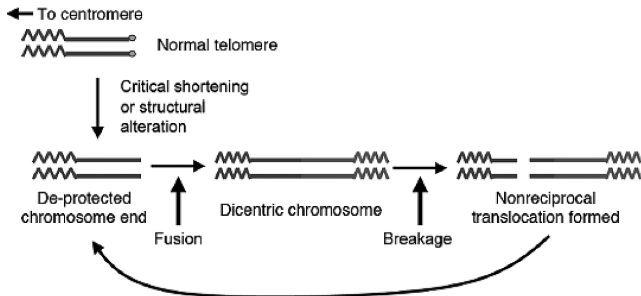


図 1 細胞分裂期において、染色体末端にテロメアのキャッピングを伴わない DNA 複製過程を経た細胞増殖  
通常の状態では染色体末端はテロメアで守られているが、細胞分裂ごとにテロメアは短小化し、末端はキャッピング構造を維持できなくなる。細胞周期の抑制因子群である p53 や p16<sup>INK4a</sup> はこれらのテロメア長を消耗した細胞の増殖を抑え、細胞のがん化を抑制する。逆に、テロメアキャッピング構造を持たない細胞が自己複製すると二極化した染色体構造をもった細胞となり、分裂後期になると非対称性の染色体断裂が生じ、次の細胞分裂となる鑄型になる。このサイクルを繰り返して複製され、テロメアキャッピングされてないまま増殖した細胞ががん細胞の発生機序として考えられている (文献 2 より引用)。

り代償することは前に述べたが、このことによりテロメア長そのものが、今後細胞が生涯かけて何回分裂を繰り返し増殖できるかを規定する重要な因子であることがわかる。言い換えれば、テロメアの短小化は細胞の増殖停止、老化や細胞死などの細胞運命を決定づける生物時計でもある。また、腫瘍増殖抑制因子である p53 や Rb が欠損または変異していると細胞は持続的に増殖可能となり、結果的にテロメア長は著しく短小化し、浸食された染色体末端における DNA 融合が起こることで染色体異常の原因となる<sup>2)</sup>。このような環境下で、さらに遺伝子操作によりテロメア長を維持すると細胞は無限に増殖できる (図 3)。

## テロメラーゼによるテロメアの機能維持

生体内では、特に生殖細胞や幹細胞においては、細胞増殖機能維持のため、DNA 合成を促進させテロメア長を維持させる活性化酵素であるテロメラーゼを産生する。具体的な活性化機序として、テロメラーゼ逆転写酵素 (TERT) を活性制御の中軸として、テロメラーゼの RNA 成分である (TERC) を鑄型として用い、テロメア DNA を合成する<sup>4)</sup>。このようにテロメアを活性化させるユニットとして、TERT, TERC と dyskerin と様々な結合タンパクがテロメア構造の安定化に関与している (図 4)。

テロメラーゼの機能はテロメアの伸長のみならず、マウス生体内では幹細胞の動員や自己複製を制御し、

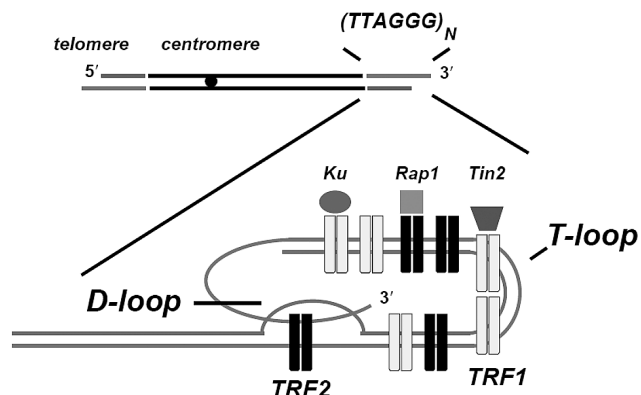


図 2 テロメアの二重輪状構造

テロメアは染色体末端に存在し、TTAGGG の反復配列から構成される。テロメアの二本鎖 DNA の構造維持に TRF1/TRF2, Ku, Rap1, Tin2 など関与している。3'末端のテロメアは一本鎖として突出し、二本鎖 DNA に向けて反転する大きなループ構造をなす (T-loop)。さらに、交差するテロメア本体とは小さな D-loop を構成し、3'末端のテロメア侵食を自ら防いでいる (文献 3 より引用)。

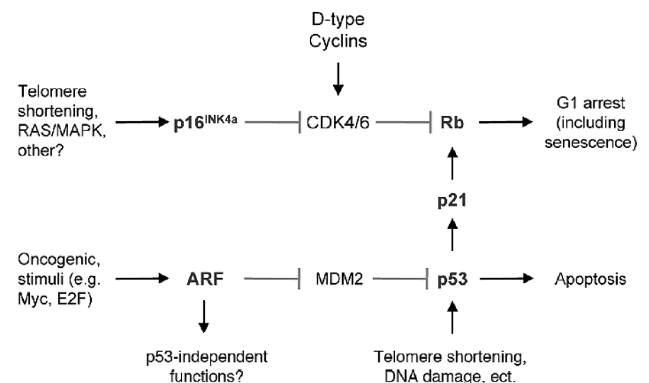


図 3 p53 と Rb を介したテロメア長の維持調節

通常の状態では p53 は ARF/MDM2 を介した抑制的制御を受けるが、細胞障害時にはセリンのリン酸化により MDM2 による抑制を受けずに細胞増殖を停止させる。p53 の下流には p21 や Rb の細胞周期抑制因子群が存在し、いずれもその上流には p16<sup>INK4a</sup> や CDK4/6 といった細胞周期抑制系及び促進系の調節因子群により一連の制御を受ける (文献 2 より引用)。

その中心的な分子機構として、Wnt-beta catenin 経路が知られている。逆に、テロメラーゼを欠損したマウスでは、6世代以降の子孫において、テロメアの短小化が著明となり、生殖細胞、造血幹細胞や心臓をはじめとする各種臓器における機能不全の表現型が報告されている。

### テロメアと老化

ヒトの生体内の多くの細胞は自己再生能をもち、一生涯を通じて新陳代謝を繰り返すことで恒常性を保とうとする。この持続的な細胞新生機構は、器官内に存在する臓器固有の予備細胞である組織幹細胞によって担われている。最近、体性幹細胞の生体内での存在数

や増殖及び分化能に関する研究が多く報告され、老化現象の機序として、組織幹細胞数の減少による組織自己修復能の低下が一因として挙げられている(図5)。一方、テロメア機能の低下により、傷ついた染色体をもった組織幹細胞が分化及び増殖することが、高齢者におけるがんの発生機序の一つとして提唱されている。

このような基礎研究成果は、ヒトにおける疫学調査においてもはっきりと裏付けられている。末梢血由来の白血球を用いた解析では、60歳以上の調査対象において、テロメアが短小化している群はそうでない群に比し生命予後が短いことが報告された。全年齢を対象とした包括的な疫学調査においても、テロメアの長さ と寿命との間に正の相関があることが明らかとなった<sup>4)</sup>。

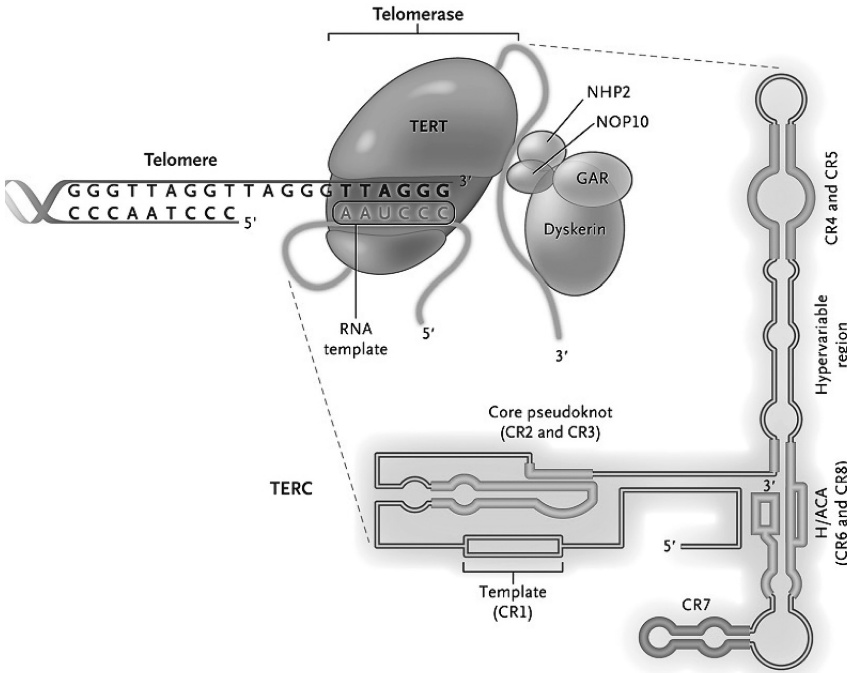


図4 テロメラーゼの複合体と関連結合タンパク  
テロメラーゼ逆転写酵素 (TERT), RNA 構成  
体 (TERC) と関連結合タンパクである  
Dyskerin, NHP2, NOP10, GAR1を示す。テ  
ロメラーゼ活性は TERC を鋳型としてテロメ  
アの 3' 突出末端に TTAGGG 反復配列を加え  
ることでテロメア長を維持する。TERC は451  
塩基からなり、CR 1 から CR 7 まで7つの保  
存された領域を持つ。H/ACA box はヘアピ  
ン構造の塩基配列で RNA の生合成に関与す  
る(文献 4 より引用)。

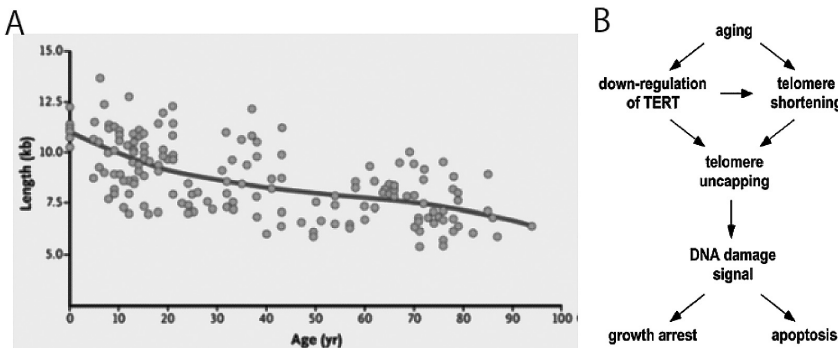


図5 ヒト細胞におけるテロメア長の加齢  
に伴う短小化  
(A)テロメア長は出生直後に約11kb と最も  
長く、90歳では 6 kb と加齢とともに短小化す  
る。(B)テロメアを中軸とした老化の分子機  
序は、テロメアの短小化ならびにその活性化  
逆転写酵素である TERT の発現低下によ  
り、染色体末端におけるテロメア構造維持が  
できなくなることで、細胞内 DNA が受けた  
障害を修復できずに増殖停止または細胞死  
に至る(文献 3, 4 より引用)。

テロメアがヒトの長寿ならびに健康維持に重要なことは様々な変性疾患やモデルマウスを用いた解析でも明らかにされている。臨床においては、先天性角化異常症は TERT もしくは TERC に遺伝子変異があることが明らかにされ、これらの患者さんは正常人と比べテロメア長が短小化し、易感染性、骨髄機能低下などにより寿命も短い。Werner 症候群や毛細血管拡張性運動失調症 (ATM) などの患者さんが示す臨床症状などもそれぞれの規定遺伝子変異からもたらされるテロメアの機能不全が重要な分子機序として報告されている。さらに、TERT や TERC の遺伝子変異は特発性肺線維症の発症とも結び付けられている。先天性疾患のみならず、テロメアの異常は後天性疾患のうち、肝硬変の発病や進行にも深く関与しているといわれている<sup>5)</sup>。

### テロメラーゼ活性と心筋再生及び心不全の発症

これまでの多くの心筋細胞再生の基礎研究は細胞周期に注目した促進因子群の過剰発現システムや逆に抑制因子群の欠損モデルマウスを用いた解析が主流であった<sup>6)</sup>。しかしながら、細胞周期をつかさどる制御因子群は数が多くかつ相互に密接な制御機構を持っているため、主要因子群を標的とした遺伝子操作だけでは、充分な心筋細胞の脱分化もしくは再分裂をきたすことは極めて困難であった。

一方、哺乳類の心臓内における心筋細胞の不可逆的細胞周期の逸脱によってもたらされる成熟心筋細胞の終末分化像は、加齢に伴うテロメア機能の低下という視点から解釈できる<sup>7)</sup>。図 6 に示すように、マウスの心臓組織は発生過程が進行するとともに、テロメラーゼ活性の低下、テロメア長の短小化さらに TERT の発

現量の低下が明らかとなった。この現象はテロメア結合タンパクの一つである TRF2 や DNA 修復タンパクである DNA-PKcs の発現量が発生とともに段階的に低下していくことから裏付けられている。

心臓特異的 TERT 過剰発現マウスはテロメラーゼ活性の低下やテロメアの短小化を防ぐことで、心筋細胞の細胞周期からの逸脱を遷延させ、結果的に心筋細胞再生につながる可能性がある。図 7 のごとく、TERT 過剰発現マウスの心筋細胞は、生後 1 ヶ月目まで心筋細胞の DNA 合成能の亢進を伴う過形成を認め、3 ヶ月目には心筋細胞増殖は停止するが、心筋保護効果を示す左心室肥大の表現型と圧負荷による心筋細胞の線維化の抑制と良好な心機能維持が観察された<sup>7,8)</sup>。これらの心筋細胞新生の現象は、不活性型 TERT 過剰発現マウスの心臓では認めないことから、テロメラーゼやテロメア依存性に導かれた循環生理学的機能と結論できる。

さらに、テロメアのヒト心臓内における役割を検討するため、正常心、肥大心ならびに不全心のテロメア長を測定した (図 8)。これまで述べたように、テロメア長は年齢に伴う短小化が必然であるが、心不全症例におけるテロメア長は対照である正常心及び肥大心に比し有意に短く、かつより鋭敏に年齢による短小化と相関する<sup>8)</sup>。すなわち、心不全の基本病態の一つとして、テロメア機能不全による心筋細胞の自己修復機構の低下、さらに心筋細胞死の抑制による代償性心筋保護効果の欠如が要因として考えられる。

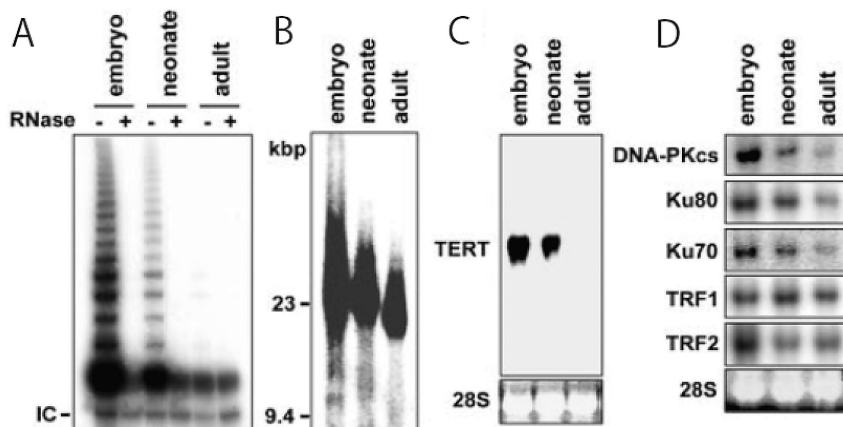


図 6 心臓の各発生段階におけるテロメラーゼ活性とテロメア長の推移

(A) 胎児期、新生児期ならびに成人期から心臓組織由来の RNA を抽出しテロメラーゼ活性を測定。(B) 同様に各発生時期におけるテロメア長。(C) 各心臓発生段階における TERT の発現量。(A-C) よりテロメア機能は胎児期に最も高いことがわかる。(D) 各種テロメア結合タンパクの発現量と心臓発生時期との関連。テロメア構造維持タンパクの TRF2 は胎児心に最もその発現量が多い (文献 7 より引用)。

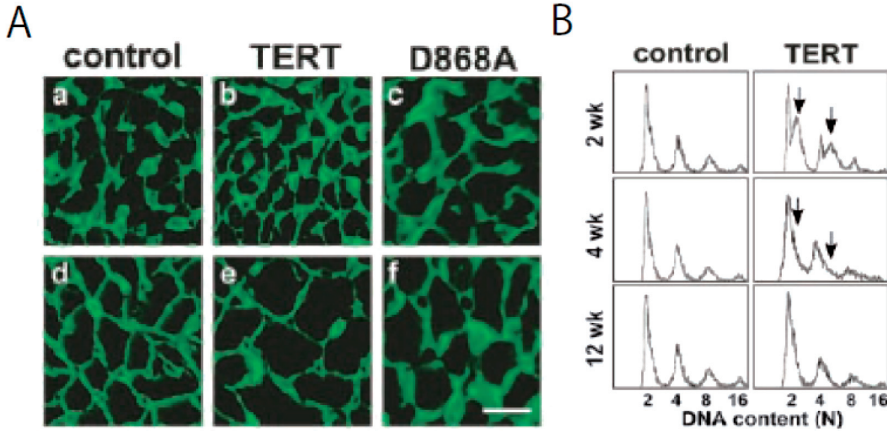


図7 テロメラーゼの活性化による心筋細胞の細胞周期へのリエントリー (A, a-c) 生後1ヵ月以内の心臓特異的 TERT 過剰発現マウスは, 同月齢の野生型及び不活性型 TERT (D868A) マウスに比し, 心筋細胞の過形成が観察される. (A, d-f) 一方, 生後3ヵ月以降の成人期では, TERT は心肥大をもたらす. (B) 各月齢における TERT 過剰発現マウスでの心筋細胞の増殖度を FACS 用いて解析. 矢印は DNA 合成能の亢進が生後1ヵ月目まで認められるが, 3ヵ月以降では野生型と同様に細胞周期停止 ( $G_{0/1}$ ) の心筋細胞が優位となる (文献7より引用).

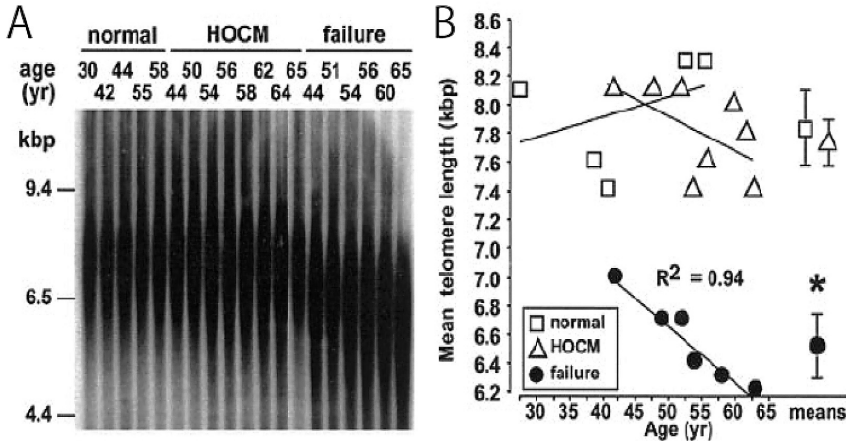


図8 ヒト正常心, 肥大心及び不全心におけるテロメア長の変化 (A) ヒト細胞におけるテロメア長の短小化は年齢とともに負に相関すると報告されている. この現象はヒト心筋不全において非不全心筋と比べ, さらに顕著な短小化として認められている. (B) ヒト心不全におけるテロメア短小化の程度は年齢依存性に進行する (文献8より引用).

**心臓内にはテロメラーゼ活性を持った幹細胞が存在する**

以上のマウスでの過剰発現系の解析や細胞死を伴うヒト心不全標本での検証結果から, 心臓内にはテロメラーゼ活性及びテロメア長の自己制御を行う予備細胞群が存在することが強く示唆される. 図9に示すように, 造血系幹細胞を認識する c-kit や stem cell antigen (Sca)-1 を用いて成熟心筋細胞を除去した全心臓内細胞を FACS にて解析すると, 心臓内には Sca-1 で標識される幹細胞が存在することが明らかとなった<sup>9)</sup>. これらの細胞群は成熟血液細胞が発現する CD45 が陰性で, これまでの既報にない新しい心臓内幹細胞であることが示唆された. 心臓内 Sca-1 陽性細胞は特定の分化誘導法によって, 心筋細胞をはじめ, 血管平滑筋細胞, 内皮細胞に分化する多能性幹細胞である<sup>10)</sup>. 小型動物の急性心筋梗塞ヌードマウスを用いた細胞治療実

験では, ヒト心臓内幹細胞移植は梗塞サイズの縮小効果及び非細胞移植群に比べ, 有意な心機能の改善効果があることが明らかとなった<sup>11)</sup>.

**ヒト心臓内幹細胞を用いた虚血性心疾患に対する細胞治療の前臨床試験**

このような小型動物での細胞治療の成果は, ヒト重症心不全への心臓内幹細胞移植の有効性を示唆する. 臨床試験に向けた研究を準備していく上で, ミニブタモデルを用いた大型動物への移植検討を実施した. 前臨床試験プロトコルはヒト心臓内幹細胞の大量純化精製法を確立し, 安全性及び有効性を主要ならびに副次エンドポイントとした. 移植後の免疫拒絶を回避するため, 全頭細胞移植前からサイクロスポリンを投与開始した.

試験対象とした慢性心筋梗塞モデルは, 心臓カテテルを用いて左前下行枝を90分閉塞し再疎通させる方

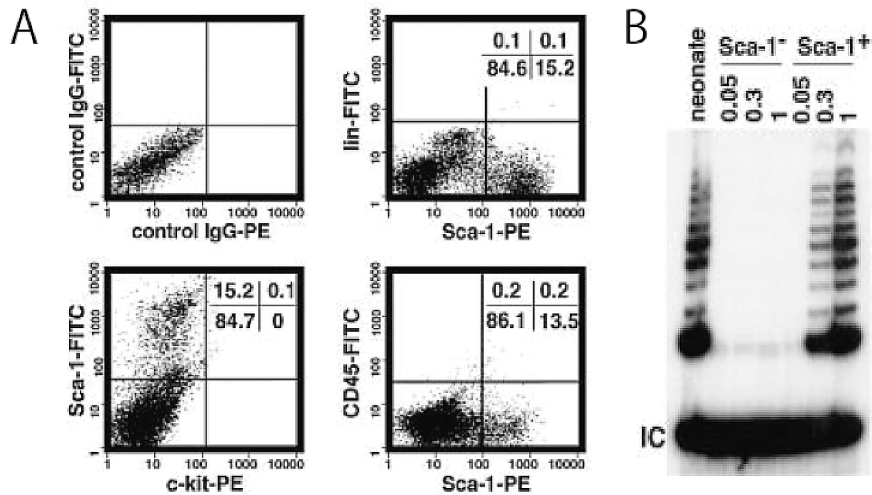


図9 成人心臓内に存在するテロメラーゼ活性細胞は心臓内幹細胞である (A)成人心臓内には細胞表面抗原である stem cell antigen (Sca-1) で認識される細胞集団がある。心臓内 Sca-1 陽性細胞は造血幹細胞や骨髄幹細胞の表面抗原である c-kit や CD45 が陰性である。(B)心臓内 Sca-1 陽性細胞は Sca-1 陰性細胞と比べ、高いテロメラーゼ活性を持ち、増殖能力が高い細胞群である (文献9より引用)。

法を用いた。その後ミニプタを1ヵ月間飼育することで、梗塞の慢性化による心不全病態を作成する。研究目的に余剰組織を使用することに同意を得た患者さんから心臓組織を心臓手術中に採取し、心臓内幹細胞を純化精製し大量培養した。

一方、これまでの多くの基礎研究から、梗塞巣及び周辺部領域は微小循環血流が極めて乏しいことが明らかにされている。このため、移植後のドナー細胞の生着性と生存率を向上させるには、血流改善効果を持つ付加的な併用療法が必要である。すでに塩基性繊維芽細胞成長因子 (bFGF) は、閉塞性動脈硬化症に対する下腿動脈の血管新生療法として臨床試験で安全性と有効性が報告されている。さらに、通常のヒト心臓内幹細胞の培養に bFGF は幹細胞の自己複製促進作用があることを突き止めた。そこで、前臨床試験における細胞移植法として、ヒト心臓内幹細胞の心筋内注入と bFGF の血中半減期が短いため、ゲラチンハイドロゲルを用いた心筋組織内徐放を併用した<sup>12)</sup>。

合計約100頭のミニプタを用いた検討から、細胞移植における技術的安全性を確立した。また、図10に示すように、bFGF の心筋組織内徐放により、移植されたドナー細胞の生着性は約15%から33%に向上した。さらに、移植効果判定のため心臓 MRI による検査では、心筋梗塞サイズならびに左室駆出率とも、血流改善効果のみが期待される bFGF 単独徐放群に比べ、bFGF に加え心筋細胞新生作用を持つ心臓内幹細胞移植併用群の方が著明に改善した。

### 右心不全モデルに対する細胞治療の前臨床試験

心臓内幹細胞は高いテロメラーゼ活性を持つ予備細胞群であることは上記に述べたが、テロメアの生物学的特徴とこれまで数多くのヒト心臓内幹細胞の培養経験から、小児心臓内での幹細胞の存在量及び増殖能力は、成人のそれに比し約4~5倍高いことが明らかとなった。このため、肺動脈結紮によるラットの右室圧負荷モデルを作成し、新生児ラットの心臓内幹細胞を純化精製後冠動脈内に注入することで、小児右心不全モデルに対する細胞治療の前臨床試験を実施した。この研究により、心臓内幹細胞の冠動脈内注入法の安全性が確認され、また、治療効果として、右室線維化領域内での心血管細胞の新生と有意な線維化瘢痕領域の減少が確認できた。

### 小児心不全への細胞治療の第I相臨床試験

上記の2つの前臨床試験の成果より、現在国内において成人の虚血性心疾患に対する bFGF 徐放下で心臓内幹細胞移植の臨床試験と岡山大学病院では機能的単心室症に対する細胞移植の第I相臨床試験 (TICAP: transcoronary infusion of cardiac progenitor cells in patients with single ventricle physiology) が実施されている (表1)。平成23年1月に厚生科学審議会科学技術部会により実施承認された TICAP 臨床試験はすでに予定の7症例をすべて実施終了し、安全性の技術的検証が完了した。現在3ヵ月目の遠隔期での有効性検証を行っているが、解析終了した連続2症例において、

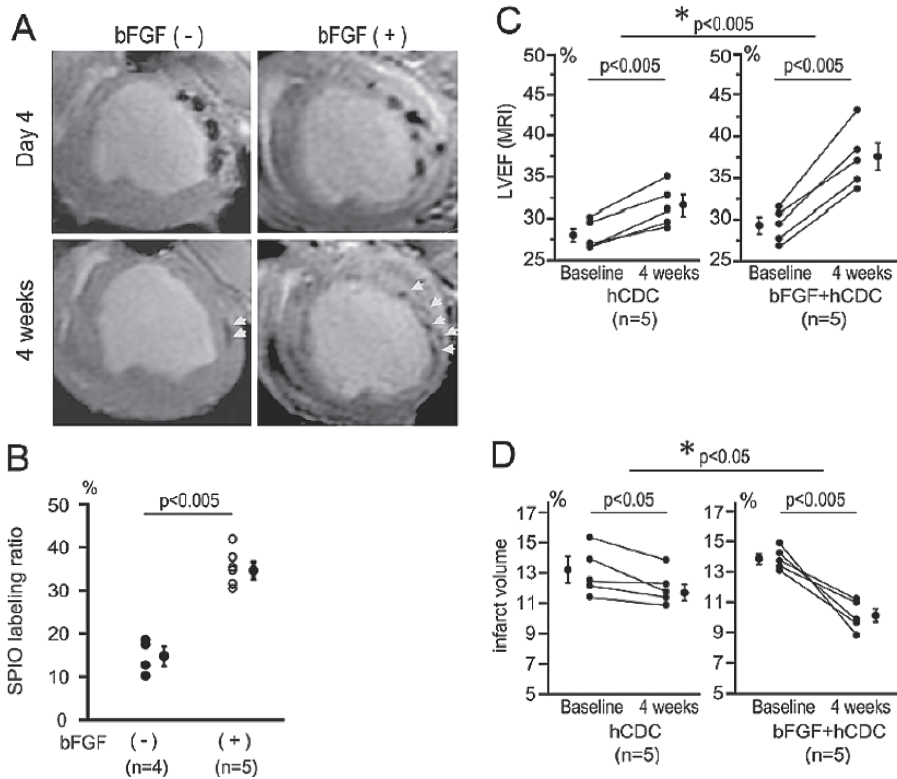


図10 大型動物モデルを用いた慢性心筋梗塞に対するヒト心臓内幹細胞移植の心機能改善効果

(A) SPIOで標識した心臓内幹細胞(hCDC)を慢性心筋梗塞モデルに移植し、心臓MRI検査にて経時的にドナー細胞の生着性を追跡。(B) 幹細胞単独移植で示した15%の生着性が、塩基性繊維芽細胞成長因子であるbFGFを心筋内徐放させることで33%以上に向上する。(C, D) bFGF心筋組織内徐放と幹細胞移植を併用することで、心機能改善及び梗塞サイズの縮小に最大限の治療効果をもたらす(文献12より引用)。

表1 岡山大学病院で実施した世界初の小児心不全への細胞治療(第I相臨床試験)

	性別	年齢	体重	診断名	心臓手術の術式
1	女兒	1歳	5.8kg	左心低形成症候群	グレン
2	男兒	1歳	4.1kg	左心低形成症候群	グレン
3	女兒	3歳	11.3kg	左心低形成症候群	フォンタン
4	男兒	5ヵ月	4.4kg	左心低形成症候群	ノーウッド・グレン
5	男兒	3歳10ヵ月	12kg	左心低形成症候群	フォンタン
6	男兒	3歳2ヵ月	11.9kg	左心低形成症候群	フォンタン
7	男兒	4歳4ヵ月	12.6kg	左心低形成症候群	フォンタン

いずれも細胞治療前に比べ、有意な心機能改善と心室重量の増加を認め、心筋再生医療の治療効果を強く示唆している。

## おわりに

末期の心不全症例には人工臓器医療に加え、心臓移植という治療法があるが、高額な医療費負担と国内では臓器提供者不足という難しい現状がある。平成15年に世界に先駆けて哺乳類の心臓内に幹細胞の存在を発見し報告してから、本細胞の純化精製技術は、世界の研究者たちによって追試され、これまでに多くの動物

実験が重ねられてきた<sup>13)</sup>。患者さん由来の心臓内幹細胞自家移植法は、平成22年には国内初の重症虚血性心不全患者さんを対象に実施され、平成23年には岡山大学病院において、世界で初めて小児心不全症例に臨床実用化された。本細胞治療法は上記の人工臓器医療及び臓器移植に比べ、治療費用が高価でなく、低侵襲でかつ繰り返して実施できることが大きな特徴である。費用対効果の側面からも、今後、本細胞治療を高度医療に引き続き、先進医療として社会還元し普及させ、有効性の検証を厳正に進めていきたい。

## 文 献

- 1) Sahin E, Depinho RA : Linking functional decline of telomeres, mitochondria and stem cells during ageing. *Nature* (2010) 464, 520-528.
- 2) Sharpless NE, DePinho RA : Telomeres, stem cells, senescence, and cancer. *J Clin Invest* (2004) 113, 160-168.
- 3) Oh H, Schneider MD : The emerging role of telomerase in cardiac muscle cell growth and survival. *J Mol Cell Cardiol* (2002) 34, 717-724.
- 4) Calado RT, Young NS : Telomere diseases. *N Engl J Med* (2009) 361, 2353-2365.
- 5) Sharpless NE, DePinho RA : How stem cells age and why this makes us grow old. *Nat Rev Mol Cell Biol* (2007) 8, 703-713.
- 6) MacLellan WR, Garcia A, Oh H, Frenkel P, Jordan MC, Roos KP, Schneider MD : Overlapping roles of pocket proteins in the myocardium are unmasked by germ line deletion of p130 plus heart-specific deletion of Rb. *Mol Cell Biol* (2005) 25, 2486-2497.
- 7) Oh H, Taffet GE, Youker KA, Entman ML, Overbeek PA, Michael LH, Schneider MD : Telomerase reverse transcriptase promotes cardiac muscle cell proliferation, hypertrophy, and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2001) 98, 10308-10313.
- 8) Oh H, Wang SC, Prahash A, Sano M, Moravec CS, Taffet GE, Michael LH, Youker KA, Entman ML, Schneider MD : Telomere attrition and Chk2 activation in human heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2003) 100, 5378-5383.
- 9) Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, Nakamura T, Gaussin V, Mishina Y, Pocius J, Michael LH, Behringer RR, Garry DJ, Entman ML, Schneider MD : Cardiac progenitor cells from adult myocardium : homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2003) 100, 12313-12318.
- 10) Tateishi K, Ashihara E, Takehara N, Nomura T, Honsho S, Nakagami T, Morikawa S, Takahashi T, Ueyama T, Matsubara H, Oh H : Clonally amplified cardiac stem cells are regulated by Sca-1 signaling for efficient cardiovascular regeneration. *J Cell Sci* (2007) 120, 1791-1800.
- 11) Tateishi K, Ashihara E, Honsho S, Takehara N, Nomura T, Takahashi T, Ueyama T, Yamagishi M, Yaku H, Matsubara H, Oh H : Human cardiac stem cells exhibit mesenchymal features and are maintained through Akt/GSK-3beta signaling. *Biochem Biophys Res Commun* (2007) 352, 635-641.
- 12) Takehara N, Tsutsumi Y, Tateishi K, Ogata T, Tanaka H, Ueyama T, Takahashi T, Takamatsu T, Fukushima M, Komeda M, Yamagishi M, Yaku H, et al. : Controlled delivery of basic fibroblast growth factor promotes human cardiosphere-derived cell engraftment to enhance cardiac repair for chronic myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* (2008) 52, 1858-1865.
- 13) Tateishi K, Takehara N, Matsubara H, Oh H : Stemming heart failure with cardiac- or reprogrammed-stem cells. *J Cell Mol Med* (2008) 12, 2217-2232.