

血管内皮前駆細胞(EPC)を用いた再生治療

岩崎 弘登^{1,2} 川本 篤彦¹ 村澤 聡¹ 浅原 孝之^{1,3}

要 旨：骨髄に由来する血管内皮前駆細胞(endothelial progenitor cell: EPC)は1997年、浅原らにより末梢血中の単核球成分の一部(CD34陽性分画)として存在することが証明され、また既存隣接血管の血管内皮細胞による増殖、遊走により成立する血管新生(angiogenesis)のみならず、胎児期のみ存在するとされた血管発生(vasculogenesis)の機序が成体でも成立していることが証明された。現在、この機序(vasculogenesis)を利用して重症の冠動脈疾患や下肢虚血疾患(閉塞性動脈硬化症、パージャー病)患者の血管再生療法が臨床試験として開始され、その効果が期待されている。一方、CD34陽性細胞の可塑性において、血管系以外のlineageに分化する機序は、いまだ一定した見解が得られていない。今回われわれのグループは、*in vitro*また、*in vivo*のラット心筋梗塞モデル/ラット大腿骨難治性骨折モデルにおいてCD34陽性細胞移植による血管再生効果のみならず、心筋・平滑筋・骨芽細胞の再生効果を認め、また機能・組織学的に改善を示すことを証明した。これらの結果から末梢血CD34陽性細胞が多分化能を持つことが明らかになり、さらにこの細胞を用いた移植療法の新たな展開が期待されている。(J Jpn Coll Angiol, 2006, 46: 273-280)

Key words: endothelial progenitor cell, CD34⁺ cell, cell therapy, vasculogenesis, cardiomyogenesis

はじめに

近年の高齢化、食生活の変化などに伴い、動脈硬化を基盤とした虚血性心疾患が増加し、わが国でも死因の上位を占めている。しかし、その病態が重度(慢性心不全)になると既存の薬物治療、カテーテル治療、バイパス手術などのconventional strategiesでは治療効果が不十分、あるいは無効な症例も少なくなく、新しい治療方法の確立が望まれている。そこで登場してきたのが、さまざまな幹細胞を用いた臓器形成や組織再生の治療である。骨髄に由来する血管内皮前駆細胞(endothelial progenitor cell: EPC)が末梢血中の単核球成分の一部として存在し、また単核球中のCD34陽性分画がEPCのenriched populationであることが証明されて以来、多くの*in vivo/in vitro*の実験を通じて虚血性疾患に対しての

治療応用の有用性を示唆する知見が集積されている。現在、重症の冠動脈疾患や下肢虚血疾患(閉塞性動脈硬化症、パージャー病)患者に対する血管再生療法の臨床試験が開始されている。また一方で、近年、末梢血CD34陽性細胞はヘテロな細胞分画のため、その場の環境に応じてほかのlineageへの多分化能を示すことが期待されている。多くの場合、臓器機能の低下はその機能固有の細胞(たとえば心臓における心筋細胞)の絶対数の低下、あるいはそれらが機能を発揮するに十分な血流が供給されていないことに起因する。両因子ともに重要であるが、内因性血管形成能の低下した組織に、その臓器固有の細胞に分化しうる幹細胞を移植しても顕著な機能回復は期待し難い。したがって再生された臓器や組織を養う血管系の再構築が重要であり、血管新生・血管再生医療は残存臓器の機能改善のための治療に留まらず、再生医療の基盤技術になると考えられる。その機能を担う細胞起源として血管発生(vasculogenesis)とともにほかのlineageへ分化する作用

¹神戸先端医療センター血管再生研究グループ/理化学研究所幹細胞医療応用研究チーム

²大阪市立大学心臓血管外科

³東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学

2006年5月31日受理

を持つ末梢血CD34陽性細胞の有用性が期待されている。本稿では今後、再生医療において大きな可能性を秘めている末梢血CD34陽性細胞を用いた心・血管・骨再生研究の動向とその臨床応用について著述する。

血管内皮前駆細胞の発見と血管形成への関与

近年、骨髄造血幹細胞 (hematopoietic stem cell: HSC) 以外にも、肝臓、骨髄間葉系、中枢神経系などのさまざまな組織において、多系統の細胞へ分化しうる多能性幹細胞 (multipotent stem cell) や、特定の細胞系列への分化能を持つ前駆細胞 (precursorまたはprogenitor cell) の存在が明らかにされている¹⁻³⁾。

そのような中、われわれのグループはEPC (末梢血CD34陽性細胞) が成体の循環血液中に存在し、新たに血管が形成されつつある局所に取り込まれ、分化・増殖・遊走し、血管形成に関与することを証明した⁴⁾。この機序は、胎児期のみが存在するとされた血管発生に一致し、これまで考えられてきた成体の血管形成、すなわち既存隣接血管における血管内皮細胞の増殖、遊走による血管新生 (angiogenesis)⁵⁾とは異なる概念が生まれた。すなわち“既存血管内皮細胞の再形成”ではなく、“EPCからの発生”の機序が成体における血管形成に関与することが明らかになった。さらに血管内皮系細胞に特異的な遺伝子 (Flk-1, Tie-2) のプロモータによるβ-ガラクトシダーゼを発現するトランスジェニックマウスの骨髄移植モデルを作製し、虚血、癌、創傷治癒、あるいは子宮、卵巣の血管形成を誘発すると、それぞれの組織において、ドナー骨髄由来のFlk-1,あるいはTie-2を発現している細胞が新たな血管を構成していることが示された^{6,7)}。つまり成体での血管形成において、骨髄由来のEPCが体循環を経て局所にたどり着き、血管発生の機序で新規血管を形成することが判明した。成体でのEPCの動態はVEGF (vascular endothelial growth factor), SDF (stromal cell derived factor)-1, アンジオポエチン1, GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor), G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) などのサイトカイン、増殖因子により骨髄から末梢血への動員が調節される。腫瘍、虚血性疾患、糖尿病網膜症、創傷治癒などの組織はさまざまなサイトカインを分泌し、EPCの骨髄から末梢血への動員と血管の新規形成部への取り込みを促進するものと考えられている。

末梢血CD34陽性細胞による血管再生療法

EPCを用いた血管再生療法の研究は、重症虚血性疾患に対する新たな治療法として大きな可能性を秘めている。その基礎的研究として、免疫不全マウスの下肢虚血モデルにヒトの培養EPCを投与すると、新生血管の増加がもたらされ、虚血筋肉組織内の血流改善の促進が確認された⁸⁾。また、培養EPCだけでなく末梢血CD34陽性細胞を免疫不全ラットの心筋梗塞モデルに移植した研究では、組織学的に新生血管の増生・心筋壊死の減少が誘導され、左室機能の改善にも役立つことが判明した^{9,10)} (Fig. 1)。この方法は、EPCの前駆細胞としての増殖能・分化能を利用した強力かつ生理的な先進的医療として注目を受け、現在、重症の冠動脈疾患や下肢虚血疾患 (閉塞性動脈硬化症、パージャー病) 患者に対する血管再生療法として末梢血CD34陽性細胞を用いた臨床試験が開始されている。VEGF等の成長因子遺伝子導入による血管新生療法が内因性の血管内皮細胞機能低下のため無効に終わるような症例に対しても、増殖能・分化能に富んだEPCを局所に補充すると、より高い治療効果を期待することができる。またEPC移植治療の利点として移植担体が細胞であることから、遺伝子導入などの操作が比較的容易にできることもあげられる。安全性等については検討する必要があるが、現在の分子生物学的テクニックを用いれば、治療に用いる細胞の機能を高めることも可能である。

EPCの心筋細胞への分化 (in vitro)

EPCによる血管発生の機序が明らかになって以来、重症下肢虚血および心筋虚血患者に対する血管再生療法として臨床応用が試みられ、その有効性が明らかになりつつある。一方、EPCの可塑性、すなわち血管系以外の細胞系列への分化能を応用した心血管再生治療も近年注目を集めている。当研究室の村澤らは微小環境下 (ニッチェ) における末梢血EPCの分化様式を調べるため、*in vitro*の系として1週間、ヒトEPCとラット心筋芽細胞株 (H9C2) を1:3の割合で共培養し、細胞融合、および心筋細胞へのEPCの分化効率について検討を行った。ヒト特異的心筋マーカーであるcardiac troponin-I (cTn-I) およびα-myosin heavy chain (α-MHC) 遺伝子発現を共培養のサンプルから調整したRNAを用いてRT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction)

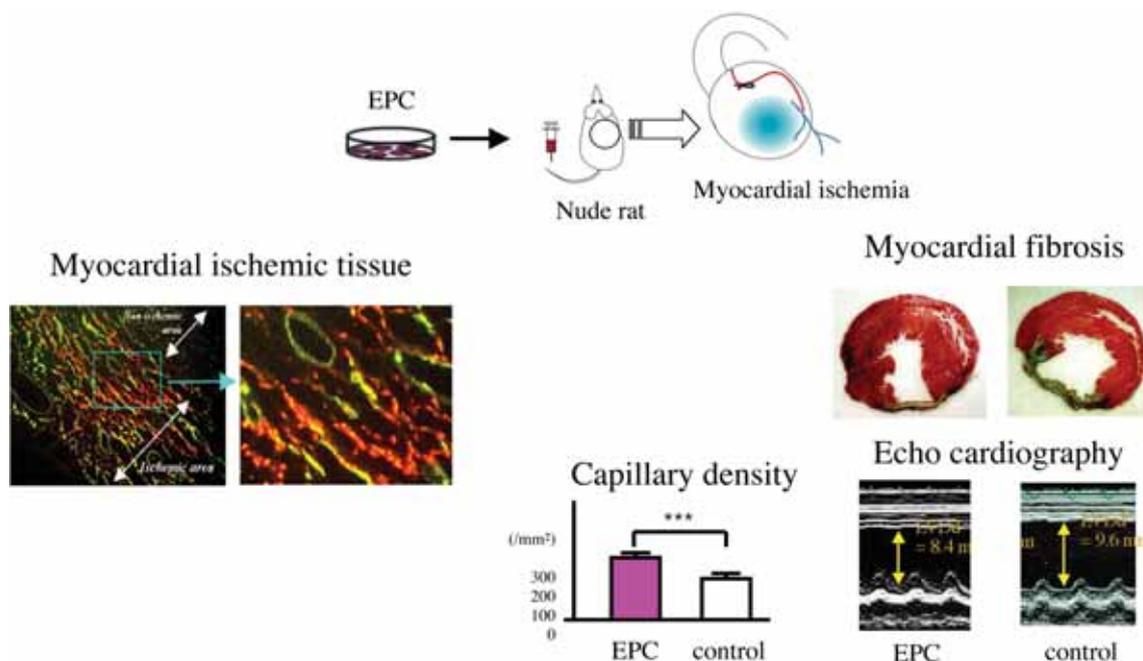


Figure 1 *Ex vivo* expanded EPCs incorporate into foci and preserve left ventricular function after myocardial ischemia. Myocardial ischemic tissue: green; BS-1 lectin, red; Dil-EPCs

で検討した。共培養前のヒト由来EPC単独のサンプルおよびラット由来H9C2単独のサンプルでは、いずれのマーカーの発現も認められなかったが、共培養後のサンプルでは、すべてのヒト特異的心筋マーカーが発現していた (Fig. 2)。ヒト特異的心筋抗体 α/β -MHCに対する蛍光免疫細胞染色では共培養後 1 週間で陽性細胞を検出した。さらに、ヒト細胞の検出のためにhuman leukocyte antigen (HLA)-ABCとcTn-Iの二重染色を行い、同様に陽性細胞を検出した。 α -MHC蛍光免疫細胞染色より計測したヒト心筋抗体陽性細胞の割合は、播種した全EPC中の約0.5%であった。また心筋細胞への分化機序を検討するため、Qtracker(Quantum Dot社製)による細胞染色システムを用いてEPCを赤色、H9C2を緑色に染色後、共培養を行い細胞融合の有無を検討した (Fig. 3)。本研究に用いた染色試薬は、細胞毒性が少なく長時間の染色が可能となつて、従来の染色システムに見られた周辺細胞への色素のもれ込みを最小限に抑える特徴を持つ。蛍光顕微鏡で観察した結果、細胞融合の割合は全体の約0.03%であった。今回の検討により、心筋虚血において、EPCが血管系への分化のみならず

心筋細胞へ分化する可能性が示された。この機序には、おもに細胞融合ではなくtransdifferentiationが関与していると考えられた¹¹⁾。

末梢血CD34陽性細胞移植による心筋再生 (*in vivo*)

われわれのグループは前項の*in vitro*での研究に加え、*in vivo*においてもEPCの心筋細胞への分化に関する検討を行った。CD34陽性細胞は、G-CSFによる骨髄からの強制動員・アフェレーシス・磁気細胞分離により、慢性重症下肢虚血患者の末梢血から採取し、低用量 (Low)、中用量 (Mid)、または高用量 (High) のCD34陽性細胞あるいはPBS(phosphate buffered solution)を免疫不全ラットの心筋梗塞モデルの心筋内へ移植した。移植後 4 週目に心機能を心エコー、Millarカテーテル検査で、分化機序を免疫組織化学、RT-PCR、fluorescence *in situ* hybridization (FISH) などで評価した。心機能 (FS, \pm dP/dt) や組織学的指標 (微小血管密度、左室梗塞範囲) はCD34陽性細胞移植後に用量依存性に改善した。human nuclei antibody (HNA) とcTn-Iとの二重染色

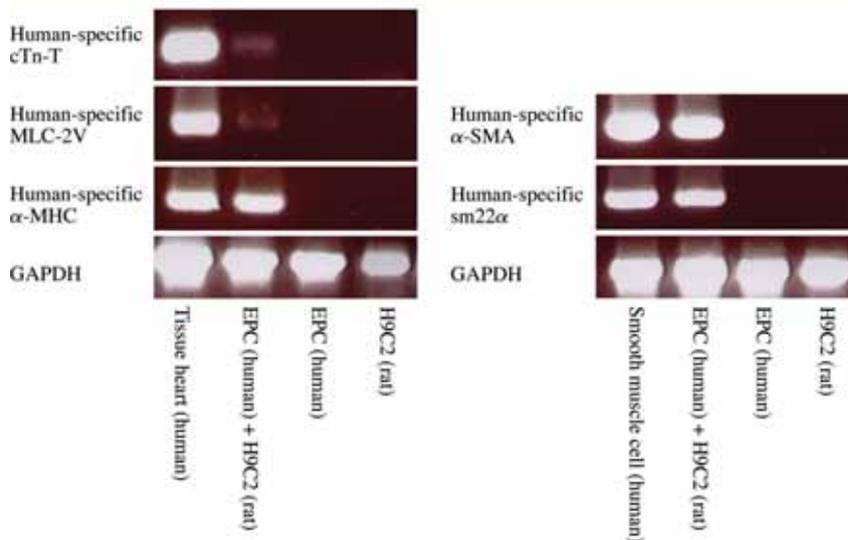
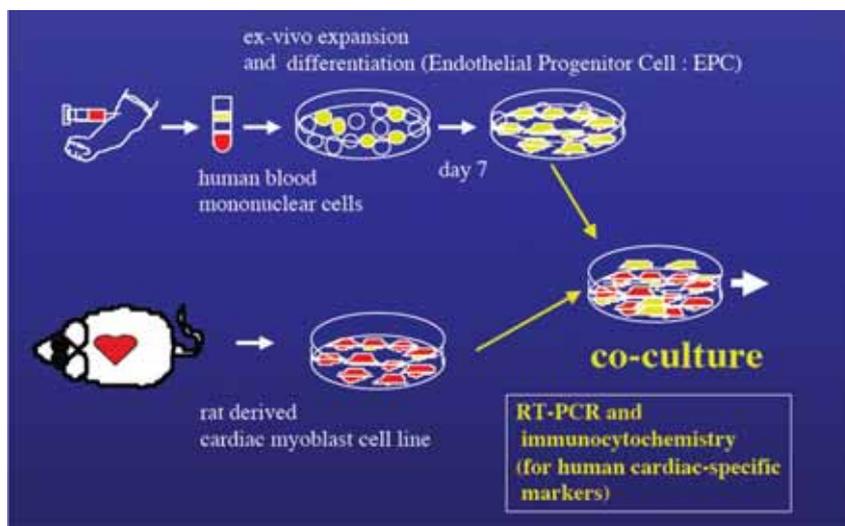


Figure 2 Coculture of human EPCs and rat cardiac myoblasts (H9C2) expressed human-specific cardiac and smooth muscle markers. RNA samples from various culture conditions were analyzed by RT-PCR. cTn-T, MLC-2V, and -MHC are specific markers for cardiomyocyte, and -SMA and sm22 are specific markers for smooth muscle cells. Left lane of each column shows positive control, and right lane of each column shows negative control (only rat-derived H9C2). Human EPC did not express both cardiac and smooth muscle cell markers. After coculture with human EPC and rat H9C2, both cardiac and smooth muscle markers were observed.

により検出されたヒト細胞, すなわち虚血部位でのヒトCD34陽性細胞由来の心筋細胞数も用量依存性に増加していた(Fig. 4)。また, ヒト特異的brain natriuretic peptide(BNP)抗体を用いた免疫組織化学検査でも, ヒト特異的BNP陽性心筋細胞密度がHigh群; 2480 ± 149, Mid群; 1860 ± 141, Low群; 423 ± 9, PBS群; 0 ± 0/mm², と用量依存性に高くなり, また, 移植細胞由来のヒト血管平滑筋・内皮細胞も用量依存性に再生されたことが証明された。FISH解析よりこのCD34陽性細胞の多分化能にはcell fusionによらない機序, すなわちEPCの transdifferentiation, multipotent stem cellあるいはmultiple

progenitor cellsからの心筋細胞への分化等も関与していることが確認された。さらに詳細に検討した結果, 虚血組織から抽出したRNAのRT-PCRにおいてもヒト特異的心筋・血管平滑筋・内皮マーカー(BNP, MHC, cTn-I, Nkx2.5, sm22α, SMA, KDR等)の遺伝子が用量依存性に増幅発現することも判明した¹²⁾。以上のことから慢性重症下肢虚血患者の強制動員CD34陽性細胞は, 多分化能を持ち, 心筋梗塞への移植治療において用量依存性に心筋・血管再生効果を示し, 機能・組織学的に臓器再生に貢献することが証明された。心筋細胞・血管細胞の両者を再生するポテンシャルを有する

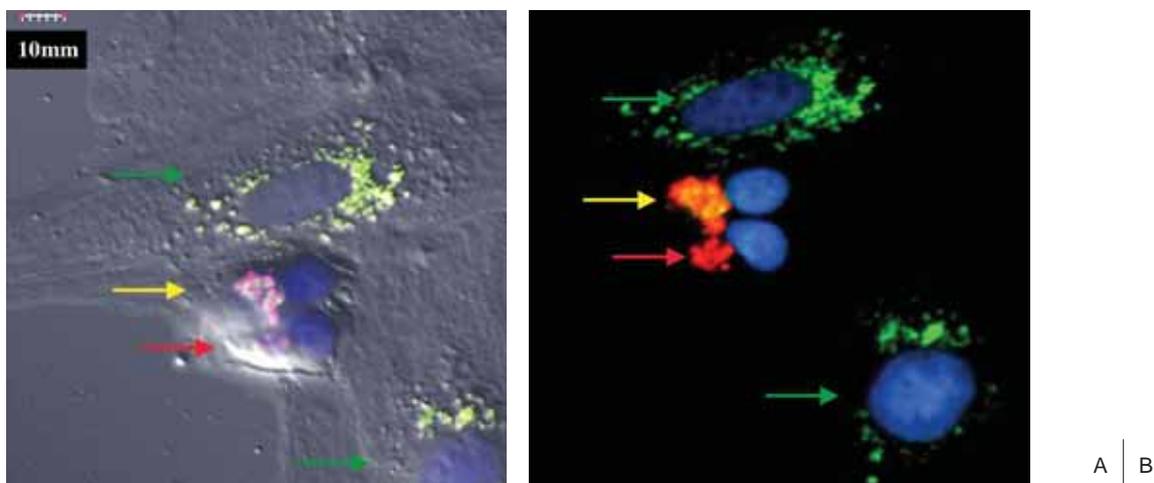


Figure 3 Evaluation of frequency of cell fusion in coculture system. We performed coculture using Qtracker (Quantum Dot Corp.), which is a nanocrystal labeling marker incorporated in the vesicles of the cytoplasm. H9C2 were labeled with the Qtracker 565 (green arrows), and hEPCs cells were labeled with Qtracker 655 (red arrows) (A and B). Cell fusion was observed in the EPCs attached to H9C2 (yellow arrows).

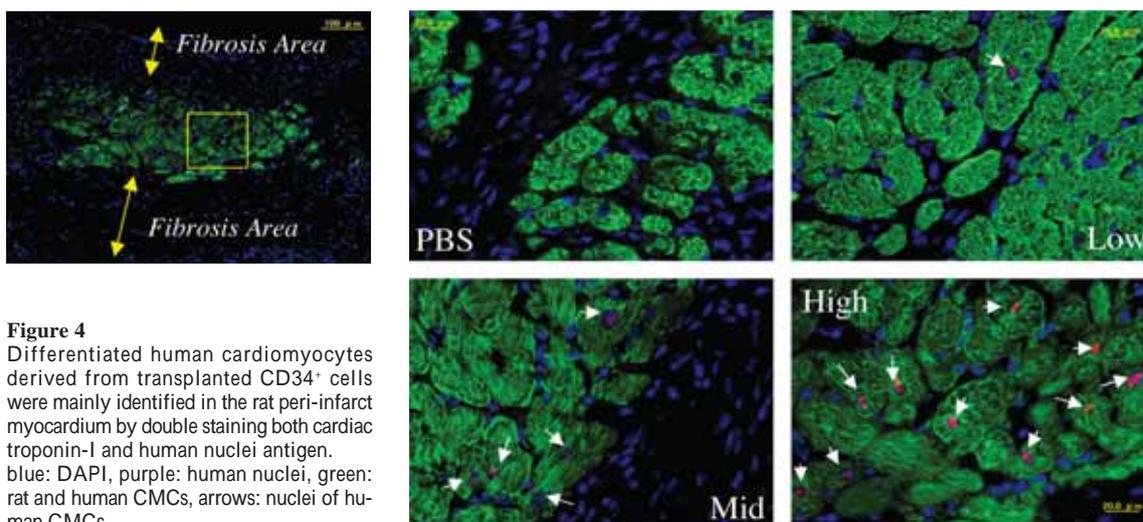


Figure 4 Differentiated human cardiomyocytes derived from transplanted CD34⁺ cells were mainly identified in the rat peri-infarct myocardium by double staining both cardiac troponin-I and human nuclei antigen. blue: DAPI, purple: human nuclei, green: rat and human CMCs, arrows: nuclei of human CMCs

点で、骨髄由来CD34陽性細胞移植は心不全、心筋梗塞治療にきわめて有用であることが示唆された。

血管内皮前駆細胞(EPC)移植の臨床試験と安全性

当研究室では、2003年11月から慢性重症下肢虚血患者に対する自家EPC移植による血管再生治療に関する

第I/II相臨床試験を開始した。試験デザインは単盲検下での用量漸増試験である。対象はFontaine分類III度、IV度の慢性重症下肢虚血患者で、血管形成術やバイパス手術の適応にならない重症例である。EPCは、G-CSFの皮下投与により骨髄から動員された単核球をアフエーシスで採取した後に、磁気細胞分離法により単核球中のCD34陽性細胞として分離する。EPCの投与は、

腰椎麻酔下で、治療効率を高めるため局所投与(虚血肢の筋肉内への投与)を行っており、その治療成果を上げている。また心筋梗塞等の慢性虚血性心疾患に対する自家EPC移植による血管再生治療に関する第I/II相臨床試験も準備中である。血管再生療法の適応となるのは、慢性虚血性心疾患のうち経皮的冠動脈形成術(percutaneous coronary artery intervention: PCI)や冠動脈バイパス術(coronary artery bypass graft: CABG)の適応にならない重症例である。細胞移植に関しては、NOGA mapping system(Cordis社製)を用いて心筋虚血部を同定し、CD34陽性細胞を心腔内から局所投与するものである。NOGA mapping systemを用いると、開胸手術と比較してより低侵襲で患者負担が軽減するため、心機能が極度に低下している症例でも比較的安全に血行再建・心筋再生が可能であると期待される。

EPC移植の臨床応用における 問題点と将来展望

EPC移植の臨床応用においては、現在のところ自家移植が主体になっている。その最大の理由は、同種移植や胚性幹細胞移植と比較して、倫理面・免疫学的にも問題が少ないことがあげられる。これまでに一定の安全性・有効性を示唆するデータが集積されつつあるが、今後克服すべき技術的な問題点として、より高用量のEPCを確保する技術の確立が望まれる。現在、その解決法の1つとして、細胞の全身投与でなく局所投与が試みられているが、下肢閉塞性動脈硬化症による広範な組織における虚血などでは、局所投与用であっても十分な細胞数の確保は困難である。十分な細胞数の確保のために、VEGFや、GM-CSFなどのサイトカインにより骨髄から強制動員をかけ^{13, 14)}、さらにアフエレーシスと併用することにより収量を増やすこともできる。また、すでに臨床で行われているHSC移植のように、数回に分けて細胞を採取、凍結保存することにより全収量を増やすことも可能である。もちろん、体外でのEPCの増殖も十分考えられる。サイトカインや増殖因子を添加することによる細胞の培養・増幅も可能であるが、臨床応用においてはその安全性を十分に検討する必要がある。また、これまでに報告されてきたEPC培養法では動物血清が使用されてきたため、臨床応用に際しては人畜感染症のリスクを有する。今後は自己血清あるいは無血清培地を用いた培養法の確立

も必要な項目の1つである。その他の方法として、細胞を得るソースとして臍帯血が期待されている。国内外で臍帯血バンクの整備も進み、かつ、内容も充実しつつあり、HSC移植のためだけではなく、EPCを用いた治療にも利用が可能になることが期待される。臍帯血には骨髄に比してより未分化な細胞が含まれており、臍帯血より得られるEPCは成体から得られるものより長いテロメアを有し、より強い血管形成能を示す可能性が報告されている¹⁵⁾。さらに、採取が全くの非侵襲であるということも併せて考えると、今後、自己および同種移植における幹細胞の重要な供給源になることが予想される。

おわりに

最近、体性幹細胞あるいは前駆細胞の多分化能が示唆されるようになり、CD34陽性細胞についても、心機能改善が従来の血管発生(vasculogenesis)の機序のみならず、心筋再生(cardiomyogenesis)の機序によっても制御される可能性が報告されている¹⁶⁻¹⁸⁾。われわれのグループも同様に、培養EPCやCD34陽性細胞が*in vitro/in vivo*両方の系において心筋関連遺伝子発現や免疫染色による蛋白レベルでの心筋マーカーを発現し、心筋再生に貢献する結果を得た。さらに*in vitro*でEPCが心筋細胞に分化する機序において、細胞融合の割合は約0.03%と、非常に少ないものであり、このデータは、30~50%の高率で細胞融合を認めるとするLagasseら¹⁹⁾の報告と異なりBadorffら¹⁸⁾の報告に比較的近いものであった。しかし、いまだ一定した見解が得られていないのが現状である。さらに重要な点は、いずれの系においても心筋細胞への分化の割合が約0.5~6%にすぎなかったことであり、今後、心筋再生の機序を応用した臨床治療のためには、この割合を増やすための検討が必要であると考えられる。

最後に、さまざまな臓器の機能低下を改善する目的で行われる組織幹細胞による器官再生(organogenesis)・組織再生(tissue regeneration)過程における血管形成の研究は、再生医学発展の中心的役割を果たす可能性を持っているとともに、必須の戦略になると考えられる。また、さまざまな幹細胞を用いて臓器再生が試みられているが、移植される幹細胞の生着・分化・機能発現にCD34陽性細胞を用いた血管再生が支持療法として重要になる可能性がある。

現在，われわれの研究室では臨床の場における安全でより効率的な治療を目標として，さらに慎重な基礎研究の積み重ねと，動物を用いた前臨床試験を行っている。

文 献

- 1) Malouf NN, Coleman WB, Grisham JW et al: Adult-derived stem cells from the liver become myocytes in the heart in vivo. *Am J Pathol*, 2001, **158**: 1929–1935.
- 2) Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC et al: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, **284**: 143–147.
- 3) Pagano SF, Impagnatiello F, Girelli M et al: Isolation and characterization of neural stem cells from the adult human olfactory bulb. *Stem Cells*, 2000, **18**: 295–300.
- 4) Asahara T, Murohara T, Sullivan A et al: Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 1997, **275**: 964–967.
- 5) Folkman J, Klagsbrun M: Angiogenic factors. *Science*, 1987, **235**: 442–447.
- 6) Isner JM, Asahara T: Angiogenesis and vasculogenesis as therapeutic strategies for postnatal neovascularization. *J Clin Invest*, 1999, **103**: 1231–1236.
- 7) Asahara T, Masuda H, Takahashi T et al: Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res*, 1999, **85**: 221–228.
- 8) Kalka C, Masuda H, Takahashi T et al: Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 3422–3427.
- 9) Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H et al: Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *Circulation*, 2001, **103**: 634–637.
- 10) Kawamoto A, Tkebuchava T, Yamaguchi J et al: Intramyocardial transplantation of autologous endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization of myocardial ischemia. *Circulation*, 2003, **107**: 461–468.
- 11) Murasawa S, Kawamoto A, Horii M et al: Niche-dependent translineage commitment of endothelial progenitor cells, not cell fusion in general, into myocardial lineage cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25**: 1388–1394.
- 12) Wajski H, Kawamoto A, Ishikawa M et al: Dose-dependent contribution of CD34-positive cell transplantation to concurrent vasculogenesis and cardiomyogenesis for functional regenerative recovery after myocardial infarction. *Circulation*, 2006, **113**: 1311–1325.
- 13) Asahara T, Takahashi T, Masuda H et al: VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *EMBO J*, 1999, **18**: 3964–3972.
- 14) Takahashi T, Kalka C, Masuda H et al: Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*, 1999, **5**: 434–438.
- 15) Murohara T, Ikeda H, Duan J et al: Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *J Clin Invest*, 2000, **105**: 1527–1536.
- 16) Yeh ET, Zhang S, Wu HD et al: Transdifferentiation of human peripheral blood CD34⁺-enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells in vivo. *Circulation*, 2003, **108**: 2070–2073.
- 17) Galli R, Borello U, Gritti A et al: Skeletal myogenic potential of human and mouse neural stem cells. *Nat Neurosci*, 2000, **3**: 986–991.
- 18) Badorff C, Brandes RP, Popp R et al: Transdifferentiation of blood-derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes. *Circulation*, 2003, **107**: 1024–1032.
- 19) Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M et al: Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med*, 2000, **6**: 1229–1234.

Vasculogenesis and Cardiomyogenesis by Endothelial Progenitor Cell (EPC)

Hiroto Iwasaki,^{1,2} Atsuhiko Kawamoto,¹ Satoshi Murasawa,¹ and Takayuki Asahara^{1,3}

¹Laboratory for Stem Cell Translational Research Institute of Biomedical Research and Innovation/RIKEN,
Center for Developmental Biology, Hyogo, Japan

²Department of Cardiovascular Surgery, Osaka City University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

³Department of Regenerative Medicine, Tokai University School of Medicine, Kanagawa, Japan

Key words: endothelial progenitor cell, CD34⁺ cell, cell therapy, vasculogenesis, cardiomyogenesis

Many researchers have been investigating the mechanism of organ and tissue regeneration. Endothelial progenitor cells (EPCs) were identified in adult peripheral blood, which were capable of incorporating into foci of neovascularization and differentiating into mature endothelial cells (ECs) *in situ*. These findings are consistent with vasculogenesis in embryonic neovascularization. Recently, our group results of human CD34⁺ cell (EPCs) transplantation into an immunodeficient rat myocardial ischemia model demonstrated that collaborative multilineage differentiation potential of EPCs into not only ECs but cardiomyocytes (CMCs) and smooth muscle cells was enhanced by cell dose escalation and was conducive to heart regeneration in terms of functional and histological recovery through vasculogenesis and cardiomyogenesis.

Now, researchers attempt to utilize this strategy for new blood vessel formation and CMCs development in clinical trials. The availability of EPCs in human have promised the advance in the field of regeneration medicine. This exciting achievement opened the way to clinical application of stem cell therapy. Considering the importance of blood vessel development in the process of cardiomyogenesis and vasculogenesis by EPCs may be an essential cascade for tissue and organ regeneration following pathological damages in various critical diseases.

Basic background and clinical application of therapeutic neovascularization and cardiomyogenesis by EPC transplantation for tissue/organ regeneration is summarized in this article. (J Jpn Coll Angiol, 2006, **46**: 273–280)