

血管新生因子：bFGF/FGF-2塩基性線維芽細胞増殖因子

米満 吉和

要 旨：近年，慢性重症虚血肢に対する治療戦略として血管新生療法が注目されており，すでに臨床での評価段階に入っている。虚血組織救済には血行の回復が必須であり，そのためには組織還流機能をもつ「機能的」血管新生が必要である一方，血管数の増加は必ずしも治療効果を反映しない。生体における機能的な血管新生プロセスには，単一ではなく複数の血管新生因子が関与していることが明らかになりつつあるが，では血管新生療法においても，複数の血管新生因子の補充が必須なのであろうか。機能的血管新生誘導のためには，これまでのわれわれのスクリーニングにおいて現時点でbFGF/FGF-2がもっとも有効であることが示されており，そのメカニズムとして下流で複数の内因性血管新生因子群が多段階的に誘導され，それらのタイミングのよい協調作用が重要であることが明らかになってきた。したがって，機能性血管を誘導する単一因子として，bFGF/FGF-2は優れた因子の1つであるといえる。われわれはbFGF/FGF-2を中心に，この生体でのダイナミックな血管新生因子の階層的発現制御システムの全容解明を進めている。

(J Jpn Coll Angiol, 2006, 46: 297-304)

Key words: bFGF/FGF-2, VEGF, PDGF, VEGF-C, angiogenesis/lymphangiogenesis

はじめに

血管新生とは，既存の血管から新たな血管網が形成される一連の病態生理学現象である。血管新生因子蛋白あるいは遺伝子による血管新生療法は，血管の狭窄あるいは閉塞に基づく組織あるいは臓器の虚血性障害に対して，血管新生因子の局所濃度を増加させることにより局所に新しい機能的血管を形成させ，側副血行路の獲得により虚血組織への血流を回復し，虚血状態から救済することを目的とするものである(いわゆる「therapeutic angiogenesis：治療的血管新生，血管新生療法」)。対象となる疾患は，虚血性心疾患，下肢閉塞性動脈硬化症が挙げられる。実験的虚血性心疾患モデルや下肢虚血モデルに対するVEGF(vascular endothelial growth factor)，FGF(fibroblast growth factor)-2，HGF(hepatocyte growth factor：肝細胞増殖因子)などの血管新生因子蛋白療法，遺伝子治療の有効性は，枚挙にい

とまがないほど多数報告されており，すでに多くのプロトコールは世界中で臨床の評価が開始されている。

では現時点で治療的血管新生は効果を示しているであろうか。虚血性心疾患だけでなく末梢動脈閉塞性疾患(PAD(peripheral arterial disease)：病態として，間歇性跛行：IC(intermittent claudication)および重症虚血肢：CLC(critical limb ischaemia)に大別される)においても，初期試験においては有効性が示唆されてきたにもかかわらず，残念ながらプラセボ対照試験においては，現時点で報告されているプロトコールのほとんどがnegative trialである(最近，欧州で実施されたSanofi-Aventisによるヒト酸性線維芽細胞増殖因子aFGF/FGF-1を発現するNV1-FGFプラスミドによる第II相臨床試験において，重症虚血肢におけるamputation-free survivalが有意に改善されたことがプレスリリースにて報告され，これが本稿準備時点で唯一のpositive trialである)。このように初期試験では有望視されてきた治療法が後期相試験で無効とされてきた背景として，初期試験の

千葉大学大学院医学研究院遺伝子治療学

九州大学大学院医学研究院遺伝子治療臨床研究準備室

2006年6月11日受理

結果が虚血性疾患によくみられるプラセボ効果によるものとするのが専門家の一般的見解である。したがって、血管新生療法の臨床的有効性を示すエビデンスはおろか、POC (proof of concept) を証明した試験さえ、いまだほとんどない。

われわれは血管新生療法の開発研究を開始した1999年当時、「圧倒的切れ味を示す血管新生療法の開発」を目指し、特に既知の血管新生因子を下肢虚血局所で発現させた場合の治療効果について詳細な実験的検討を加えた。そこで明らかになったことは、既知の血管新生因子の比較検討では、最も再現性よく高い治療効果を示すのは、血管新生因子として最も早く同定されていた塩基性線維芽細胞増殖因子bFGF/FGF-2であること、下肢虚血に対する治療効果はそれぞれの血管新生因子の局所濃度に鋭敏に反応すること、すなわちbFGF/FGF-2であれば高い発現レベルが必要であり、VEGFであれば低レベルの発現でも、むしろ副作用が表に出てしまうこと、そしてbFGF/FGF-2の治療効果に関しては、FGF-2単独の血管新生作用よりは、むしろ内因性血管新生因子群の発現誘導が極めて重要な役割を果たすこと、であった。

以上の成績をもとに、われわれはFGF-2遺伝子を搭載した非伝播型組換えセンダイウイルスベクターによるCLL (閉塞性動脈硬化症、パージャー病) に対する血管新生遺伝子治療臨床研究の実施申請を厚生科学審議会へ行った。3年半余りの審議の後、厚生科学審議会での承認が得られ、この世界初の遺伝子治療用ベクターを用いた臨床研究が2006年春より九州大学病院にて実施されている。

本稿では、われわれがこれまで明らかにしてきた下肢虚血の、bFGF/FGF-2による機能的血管新生の誘導における内因性血管新生因子群の重要性を整理し、「機能的血管新生とは？」の問いに対し、現時点でのわれわれの見解を提示させていただくことにする。

「機能的血管新生」と「病的血管新生」

よく誤解されることであるが、虚血臓器を救済するための重要なポイントは「血流に寄与する血管新生をいかに効率よく誘導するか」であり、「血管数の増加＝血流の増加」という短絡的な議論は必ずしも正しくない。実際、外来性に血管新生因子を投与した際、正常の生体では通常みられない血管腫のような複雑な血管網を

形成することがある。このような現象は最初BanaiらがFGF-1で報告し¹⁾、VEGFについてはわれわれが最初に報告した²⁾。このような奇妙な微小血管増生には必ずといっていいほど赤血球の漏出を伴っている (Fig. 1)。これは血管壁の構築がルーズになっていることを示唆しており、たとえば腫瘍血管新生や糖尿病性網膜症にて病理学的によくみられる構造である。形態学的には、高頻度に周皮細胞の脱落や出血などが認められ、明らかに通常の血管の形態とは異なる。これらの血管新生因子の過剰発現は少なくとも「生理的な血管を導く」とはいえず、さらに生理的な血流を十分伴うか否かについても議論が残る³⁾。そのため、われわれは10数年来、このような血管の形成を「病的血管新生：pathological angiogenesis」と呼び、生理的な血管を導き生理的な血流を伴う「機能的血管新生：physiological/functional angiogenesis」と区別している (最近、病的血管新生という用語を疾患に伴って発生してくる新生血管に対して使う研究者が散見されるが、これは定義からすると正しくない)。

では、虚血モデルにおけるVEGFの治療効果を示す論文が多数ある一方、別の条件ではこのように病的血管新生が惹起されるのはなぜであろうか。われわれは実験条件、つまり外来性血管新生因子の生体における発現状況と、内因性血管新生因子の動態を総合的に検討することが重要ではないかと考えた。また、これには生体の虚血条件も大きく寄与しているはずである。そこで、血管新生因子を強力に発現させることができる組換えセンダイウイルスベクターを用いることにより⁴⁻¹⁰⁾、プラスミドより遥かに強く発現させ、人為的に血管新生のアンバランス状態を惹起させることでどのような効果が現れてくるかを検討した^{11,12)}。

生体内における機能的血管新生過程の 多段階的・階層的制御

(1) 虚血条件下でのVEGFとFGF-2の役割

マウス重症虚血下肢骨格筋では、内因性VEGFの発現は増強されるが、外来性にVEGFおよびFGF-2を発現させるとこの効果は著しく増強され、SeV-VEGFで約7倍、SeV-FGF2では3～4倍の発現亢進を認めた。つまり前者ではVEGF単独の高発現状態 (内因性VEGF + 外来性VEGF) を、後者ではVEGFとFGF-2双方の高発現状態 (内因性VEGF + 外来性FGF-2) を実現できたことにな

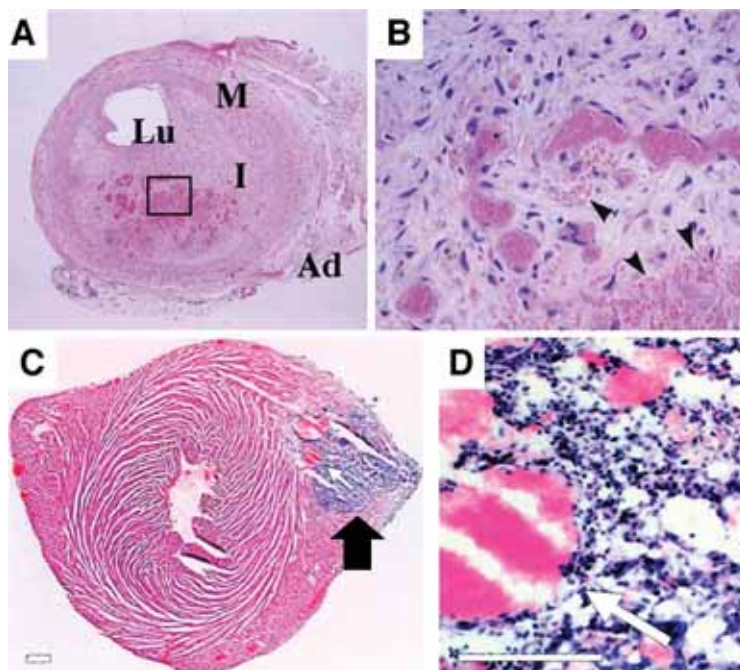


Figure 1 Abnormal vascular structure induced by vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transfer.

A and B: Cross section of human VEGF cDNA transferred rabbit carotid artery (hematoxylin-eosin staining). Modified from reference 2.

A: The intima shows markedly thickened and capillary-like proliferation of endothelial cells is demonstrated.

Lu: indicates lumen, M: media, I: intima, Ad: adventitia ($\times 40$).

B: A high-powered view of panel A. Angiomatoid proliferation of endothelial cells and extravasation of red blood cells (arrowheads) are noted ($\times 160$).

C and D: At low magnification (C), tumor (blue appearance with arrow) replaces large area of left ventricular free wall. At high magnification (D), tumor is composed primarily of dense aggregates of dark-staining spindle-shaped cells, similar histologically to endothelial cells. Although there are numerous slit-like vascular channels throughout cellular portion of tumor, some neoplastic cells enclose large blood-filled spaces (arrows designate same blood pool in C). Bars = 300 μ m

Modified from reference 15.

る。ところが結果は意外なものであった。つまりSeV-FGF2群 (VEGF + FGF-2の高発現状態) ではきわめて高い救肢効果が得られたにもかかわらず、SeV-VEGF群 (VEGF単独の高発現状態) では逆に対照群と比較して下肢の予後は著しく悪化した。

次にこのような効果の違いの原因を調べるため、下肢脱落部より中枢部の大腿骨格筋の血管新生状況を検討した。興味深いことにSeV-FGF2投与群、SeV-VEGF投与群ともにベースラインの5倍ほどの著明な血管数の増加を認め血管数そのものには差は認めなかった。ところがFGF2群ではPECAM (platelet endothelial cell adhesion molecule)-1陽性の微小血管のうち α -SMA (smooth muscle actin) 陽性周皮細胞の被覆が約50%に認められたのに対し、VEGF群では同様の細胞は20%程度にとどまった (Fig. 2)。さらにレーザードップラーにて血行回復の状況を調べたところ、VEGF群では血行回復はほとんどみられず、その結果、通常では壊死しない下肢の脱落に至ることが示された。

さらにFGF-2過剰発現における内因性VEGFの役割を調べるため、同様の実験系で全身性に抗VEGF中和抗体を投与し、VEGF活性を遮断した状態でのFGF-2の効

果を調べた。結果としてFGF-2の高い効果は内因性VEGFの活性を遮断すると完全に消失することが証明され、血管新生遺伝子治療における内因性因子、特に内因性VEGFの重要性がより明確になった。

(2) 虚血条件下でのHGFとFGF-2の役割

次にVEGFと同様に血管新生作用があることが広く知られているHGFについて検討した。HGFはすでに大阪大学でCLIへの遺伝子治療に使われているが、その発現制御機構は十分に解明されていない。これまでの培養細胞での報告では、培養細胞を虚血にするとcAMP依存性にHGFの発現が低下するとされているが、われわれはマウス虚血下肢では逆にHGFの発現が有意に亢進していることを見出した。そこでFGF-2を過剰に発現させたときの内因性HGFの誘導を検討してみると、予想どおり内因性HGFは数倍まで発現亢進した¹²⁾。またこの現象はVEGFと異なり、下肢の虚血状態に関係なく認められた。さらにそのメカニズムについて検討すると、培養細胞でも虚血にかかわらずFGF-2濃度依存性にHGFの発現が上昇し、時間経過では2峰性の発現増強パターンをとること、すなわちHGFは

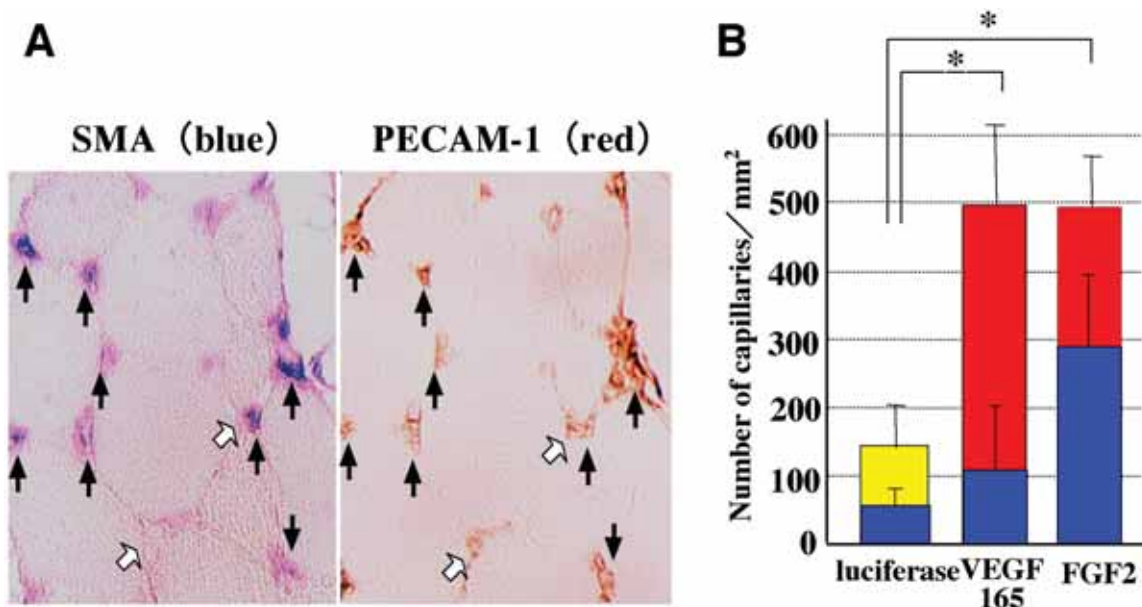


Figure 2 Assessments of angiogenesis-related events after VEGF165 or FGF2 gene transfer in a severely ischemic hind limb model.

A: Typical immunohistochemical labeling of SMA-positive cells (left, blue-labeled perivascular cells) and PECAM-1-positive cells with circumference (right, orange-labeled endothelial cells) in serial sections, assessing maturation and quantitation of capillary vessels. Typical lesion of FGF2-treated muscles with frequent double-positive vessels is demonstrated. Some PECAM-1-positive vessels are apparently lined by blue-labeled cells (arrows), suggesting mature capillaries. Some other PECAM-1-positive vessels are without blue cell lining (white arrows), suggesting immature vessels.

A: Original magnification, $\times 400$.

B: Bar graph indicating quantitations of PECAM-1-positive vessels (red bars) and PECAM-1 and SMA-double positive vessels (blue bars).

Each group included 10 mice, *: $p < 0.01$

Modified from reference 11.

FGF-2による発現を誘導させるが、その直接作用は一過性であり、後期相におけるHGFの発現持続には内因性PDGF (platelet-derived growth factor)-AA/p70S6K系が支配していることが明らかになった¹²⁾。

(3) 血管新生初期過程における内因性PDGF-AAの機能

FGF-2によるHGF誘導機構としてPDGF-AAシステムが重要であることは上述したが、われわれはさらにこのPDGF-AA/p70S6KシステムはFGF-2依存性VEGF誘導にも重要であることを明らかにした (Fig. 3)¹³⁾。特にこのPDGF-AA/p70S6Kシステムは血管内皮細胞ではなく、血管平滑筋 / 周皮細胞 / 線維芽細胞において重要であることは注目に値する。つまり、これら間葉系細胞から分泌されるVEGF・HGFという血管新生因子の発現制御が、PDGF-AAという血管内皮細胞に作用しない増殖因子で厳密に制御されているわけである。これ

まで、PDGF-AAは増殖因子であるにもかかわらず平滑筋細胞への増殖・遊走活性はほとんどなく、その生物学的機能についての位置づけは不明であったが、われわれの研究により「血管新生因子の発現制御システム」としての機能が浮かび上がってきた。

(4) 血管新生後期過程における内因性VEGF-Cの機能

FGF-2はリンパ管新生因子であるVEGF-Cを誘導し、血管新生のみならずリンパ管新生を誘導することが報告されている¹⁴⁾。一方、VEGF-Cの受容体であるVEGFR3/FLT-4の活性中和は、微小血管の破綻・出血をきたすことも報告されているが¹⁵⁾、VEGFR3の血管新生における機能は現時点で不明である。

われわれのマウスCLIモデルでは、VEGF、HGF、PDGF-AAがFGF-2投与1日目をピークに発現が增強するが、VEGF-Cとその受容体VEGFR3は血流回復が活発

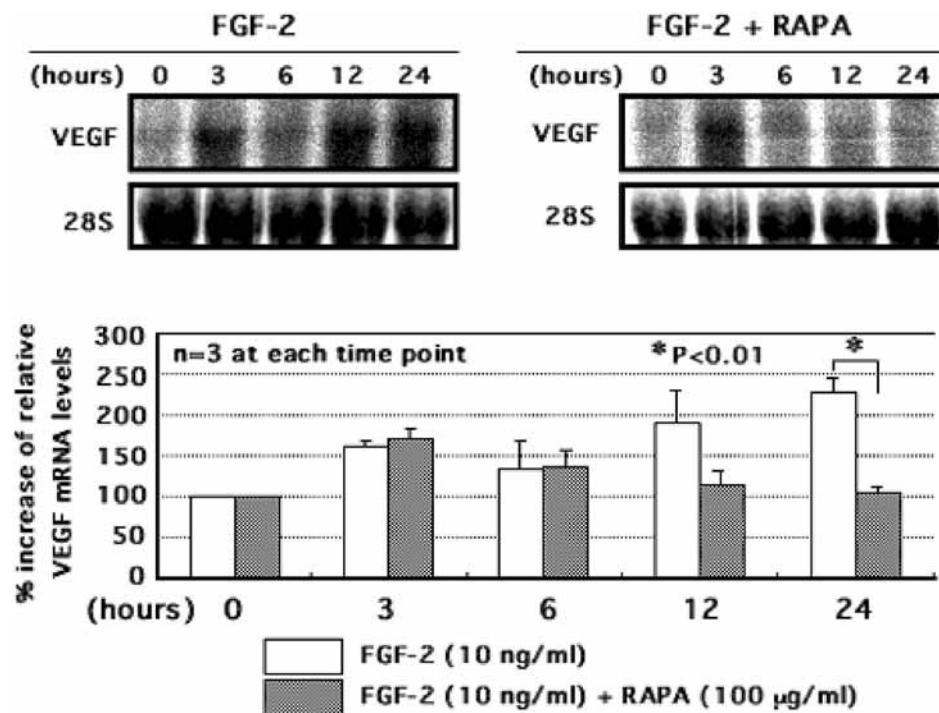


Figure 3 PDGFR α /p70S6K is essential for FGF-2-mediated sustained/bi-phasic expression of VEGF in mesenchymal cells. Forty-eight hours after preincubation with 1% FBS, cells were stimulated by 10 ng/ml of recombinant FGF-2. The cells were harvested at each designated time point, and the bands were then visualized and subjected to densitometry using a photometer. The graph shows the quantitation of relative mRNA levels of VEGF, reflecting the results from triplicate experiments. p70S6K inhibitor, RAPA: rapamycin, abolished the latter phase of FGF-2-mediated VEGF mRNA expression in MRC5 cells (human fibroblasts). Modified from reference 13.

になる7日目ピークとなる。したがって発現時期を考慮すれば、VEGF-Cは血管新生の成熟期に与する可能性が示唆される。

われわれは詳細なスクリーニングを経て、VEGF-Cの発現増強と期を一にして内因性のPDGF-BBの発現が増強されること、VEGFR3の中和抗体であるAFL-4(京都大学西川教授より供与)の投与によりPDGF-BBの発現が低下、さらにAFL-4およびPDGF-BBの中和抗体投与により、FGF-2の救済効果は消失することを見出した(投稿中)。すなわち、FGF-2/PDGF-AA/VEGF・HGFシステムは血管新生初期、FGF-2/VEGF-C/PDGF-BBシステムは血管新生後期に機能し、機能的血管新生を担保していることが明らかになった。

(5)血管新生過程における炎症性ケモカイン:MCP-1の機能
われわれは最近、単球/マクロファージの遊走・浸潤

を制御する炎症性のケモカインであるMCP-1(monocyte chemoattractant protein-1)がFGF-2依存性治療的血管新生に関与することを見出した¹⁶⁾。MCP-1のもう1つの重要な機能として、最も強力な「arteriogenesis誘導因子」であることが明らかにされている。MCP-1は腫瘍壊死因子[TNF(tumor necrosis factor)- α]などのproinflammatory cytokineによって、血管内皮細胞、周皮細胞などの間葉系細胞、単球などの多彩な細胞より分泌されることは広く知られているが、今回われわれは、FGF-2依存性MCP-1発現は間葉系細胞のみに限定して認められ、FGF-2は血管内皮細胞や単球からのMCP-1発現を誘導しないことを明らかにした。FGF-2依存性MCP-1発現は主にPKC(protein kinase C)、NF(nuclear factor)- κ B、MEK(mitogen activated ERK kinase)経路が関与しており、p70S6Kを利用するFGF-2依存性VEGF発現システムとは完全に独立している。

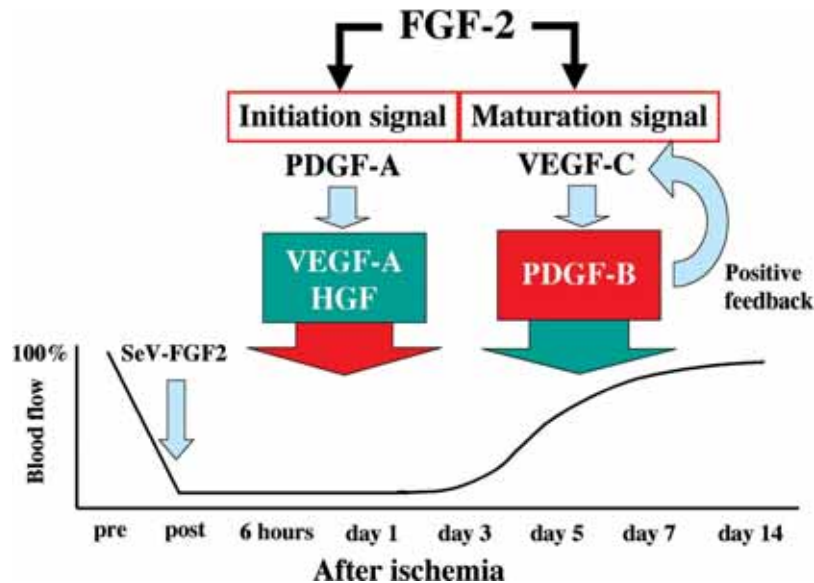


Figure 4 Schematic representation of hierarchical induction of endogenous angiogenesis-related factors in each phase during FGF-2-mediated therapeutic angiogenesis.

At the 'initiation' phase (day 0–3), upregulation of endogenous VEGF and HGF are absolutely required to start angiogenic responses, that completely governed by PDGF-AA/PDGFR α /p70S6K system. In turn, paracrine positive feedback loop of PDGF-BB and VEGF-C is absolutely necessary to form capillary stabilization and lymphangiogenesis. When a factor related above was inactivated, vascular structure and function underwent 'abnormal,' and FGF-2 regulates all these phases of therapeutic angiogenesis.

以上から、FGF-2は間葉系細胞を利用してMCP-1 (arteriogenesis) およびVEGF (angiogenesis) の両シグナルを独立して作動させることにより、還流効率の高い機能性血管誘導に有用であると考えられる。

血管新生を治療へ応用するために

以上、治療的血管新生において内因性の血管新生因子がいかに重要であることを示す例を、FGF-2を中心に紹介してきた。これらから想定されることは、機能的な血管新生の誘導には複数の血管新生因子の協調的連動が重要であり、それらのバランスが崩れることにより病的血管新生を誘発するという仮説である。さらに各血管新生因子は、おのおのが血管新生過程の重要なパートを担っており、それらのいずれかが活性低下すると血管新生因子による治療効果に歪みが出てくると考えられる。逆にプラスミド程度の弱い発現でVEGFが実験的に血流回復効果を認める理由として、他の内因性血管新生因子とのバランスが大きく崩れていないためであると考えられる。このバランスとは、言葉をかえれば

「発現量」であり、この「発現量」が血管新生の重要な決定因子であると考えられる (Fig. 4)。このことは、例えばVEGFの場合、2対のうち一方のアレルを破壊するだけで胎児仮死になることから容易に類推される¹⁷⁾。

以上から、治療的血管新生において発現レベルの増強は必ずしも治療効果に反映しないことが想定され、事実VEGFの場合、逆に副作用として虚血状態を増悪することが示された。われわれのスクリーニングによると、現時点でこれら血管新生因子群の発現をバランスよく亢進できるのはFGF-2のみである。

ノックアウトしても発生や血管系の構築にほとんど影響を及ぼさないFGF-2に、なぜこのような多機能性が備わっているのかについては、いまだ明らかではない。これまでわれわれが明らかにしてきたFGF-2の機能は、まさに創傷治癒に必須なプロセスであり、病理学総論における「炎症・修復反応」に関与する分子群である。想像をたくましくすれば、FGF-2は創傷治癒を効果的に促進させるために生体が有しているシステムなのかもしれない。

おわりに

血管新生過程とその病態への関与についてはいまだ不明な点が多く、また病的血管新生の分子メカニズムについてもいまだ十分に明確にはなっていない。これまでに得られた知見を総合すると、病的血管新生の発生には、おそらくは各種血管新生因子のアンバランスな発現が重要なのであろう。今後FGF-2による機能的血管新生と内因性諸因子群のかかわりについて、その全貌が明らかになってくると思われる。それらの情報が明らかになってくれば、より安全かつ効率的な治療的血管新生療法が可能になるのではないだろうか。

謝 辞

本研究は九州大学大学院医学研究院病理病態学 居石克夫教授、同鬼丸満穂助手ならびに大学院生諸氏、そしてディナベック株式会社とともに実施されたものである。また本研究の遂行にあたって、独立行政法人医薬品医療機器総合機構によるメディカルフロンティア(プロジェクトMF-21)、学術振興会科学研究費、ならびに三共生命科学財団の支援を受けた。ここに感謝の意を表したい。

文 献

- 1) Banai S, Jaklitsch MT, Casscells W et al: Effects of acidic fibroblast growth factor on normal and ischemic myocardium. *Circ Res*, 1991, **69**: 76–85.
- 2) Yonemitsu Y, Kaneda Y, Morishita R et al: Characterization of in vivo gene transfer into the arterial wall mediated by the Sendai virus (hemagglutinating virus of Japan) liposomes: an effective tool for the in vivo study of arterial diseases. *Lab Invest*, 1996, **75**: 313–323.
- 3) Carmeliet P: VEGF gene therapy: stimulating angiogenesis or angioma-genesis? *Nat Med*, 2000, **6**: 1102–1103.
- 4) Yonemitsu Y, Kitson C, Ferrari S et al: Efficient gene transfer to airway epithelium using recombinant Sendai virus. *Nat Biotechnol*, 2000, **18**: 970–973.
- 5) Masaki I, Yonemitsu Y, Komori K et al: Recombinant Sendai virus-mediated gene transfer to vasculature: a new class of efficient gene transfer vector to the vascular system. *FASEB J*, 2001, **15**: 1294–1296.
- 6) Yamashita A, Yonemitsu Y, Okano S et al: Fibroblast growth factor-2 determines severity of joint disease in adjuvant-induced arthritis in rats. *J Immunol*, 2002, **168**: 450–457.
- 7) Ikeda Y, Yonemitsu Y, Sakamoto T et al: Recombinant Sendai virus-mediated gene transfer into adult rat retinal tissue: efficient gene transfer by brief exposure. *Exp Eye Res*, 2002, **75**: 39–48.
- 8) 居石克夫, 米満吉和, 中島 豊 他: 血管壁細胞の遺伝子発現制御と遺伝子治療への展望. *脈管学*, 2001, **41**: 501–509.
- 9) 庄司文裕, 長谷川護, 米満吉和: 組み換えセンダイウイルスベクターによる血管壁への遺伝子導入. *脳と循環*, 2002, **7**: 53–56.
- 10) 真崎一郎, 長谷川護, 米満吉和: 組換えセンダイウイルスによる遺伝子治療. *Bioベンチャー*, 2001, **1**: 85–88.
- 11) Masaki I, Yonemitsu Y, Yamashita A et al: Angiogenic gene therapy for experimental critical limb ischemia: acceleration of limb loss by overexpression of vascular endothelial growth factor 165 but not of fibroblast growth factor-2. *Circ Res*, 2002, **90**: 966–973.
- 12) Onimaru M, Yonemitsu Y, Tani M et al: Fibroblast growth factor-2 gene transfer can stimulate hepatocyte growth factor expression irrespective of hypoxia-mediated downregulation in ischemic limbs. *Circ Res*, 2002, **91**: 923–930.
- 13) Tsutsumi N, Yonemitsu Y, Shikada Y et al: Essential role of PDGFR α -p70S6K signaling in mesenchymal cells during therapeutic and tumor angiogenesis in vivo: role of PDGFR α during angiogenesis. *Circ Res*, 2004, **94**: 1186–1194.
- 14) Kubo H, Fujiwara T, Jussila L et al: Involvement of vascular endothelial growth factor receptor-3 in maintenance of integrity of endothelial cell lining during tumor angiogenesis. *Blood*, 2000, **96**: 546–553.
- 15) Lee RJ, Springer ML, Blanco-Bose WE et al: VEGF gene delivery to myocardium: deleterious effects of unregulated expression. *Circulation*, 2000, **102**: 898–901.
- 16) Fujii T, Yonemitsu Y, Onimaru M et al: Non-endothelial mesenchymal cell-derived MCP-1 is required for FGF-2-mediated therapeutic neovascularization - critical role of the inflammatory/arteriogenic pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, in press.
- 17) Carmeliet P, Ferreira V, Breier G et al: Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature*, 1996, **380**: 435–439.

Angiogenic Factors: Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF/FGF-2)

Yoshikazu Yonemitsu

Department of Gene Therapy, Chiba University Graduate School of Medicine, Chiba, Japan

Organizing Unit for Clinical Trials of Gene Therapy, Kyushu University, Graduate School of Medical Sciences, Fukuoka, Japan

Key words: bFGF/FGF-2, VEGF, PDGF, VEGF-C, angiogenesis/lymphangiogenesis

Cytokine-based angiogenic therapy, including genes or proteins, is now under clinical evaluation. The limited clinical outcomes of angiogenic therapy, however, have been reported in multicenter and placebo-controlled trials to treat peripheral arterial diseases, such as intermittent claudication and critical limb ischemia (CLI). During the developmental process of treating peripheral arterial disease (PAD) with recombinant Sendai virus, a new gene transfer agent, extensive screening of gene transfer of angiogenic growth factors using murine models of CLI revealed marked significance in therapeutic effect of basic fibroblast growth factor (bFGF/FGF-2). We summarize the potential mechanisms of the therapeutic effect of bFGF/FGF-2 for functional neovascularization.

(J Jpn Coll Angiol, 2006, **46**: 297–304)