

冠動脈病変における Monocyte Chemoattractant Protein-1 と *c-fms*/マクロファージコロニー刺激因子受容体の関与: ヒト冠動脈粥腫切除術切片による検討

Contribution of Monocyte Chemoattractant Protein-1 and *c-fms*/Macrophage Colony-Stimulating Factor Receptor to Coronary Artery Disease: Analysis of Human Coronary Atherectomy Specimens

磯 良 崇
鈴木 洋
佐藤 貴俊
正 司 真
柴田 正行
濱 崎 裕司
木 庭 新治
酒 井 哲郎
村 上 幹高
下 司 映一
片 桐 敬

Yoshitaka ISO, MD
Hiroshi SUZUKI, MD
Takatoshi SATO, MD
Makoto SHOJI, MD
Masayuki SHIBATA, MD
Yuji HAMAZAKI, MD
Shinji KOKA, MD
Tetsuo SAKAI, MD
Mikitaka MURAKAMI, MD
Eiichi GESHI, MD
Takashi KATAGIRI, MD,

Abstract

Objectives. Primary coronary atherosclerotic lesions (de novo lesions) are a type of inflammatory vascular disease. Restenotic lesions after percutaneous coronary intervention mainly consist of proliferative vascular smooth muscle cells. Recent studies have demonstrated that locally synthesized cytokines, including chemokines, are important in both these coronary lesions. Monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) are two of the associated chemokines, but their role in coronary artery disease has not been sufficiently clarified. This study investigated the expression of MCP-1 and *c-fms*/M-CSF receptor in human coronary tissues.

Methods. Histological and immunohistochemical studies used samples obtained from patients who underwent directional coronary atherectomy (28 de novo lesions and 16 restenotic lesions). The following primary antibodies were used: anti-MCP-1, anti-*c-fms*, anti-macrophages and anti-alpha-smooth muscle actin.

Results. Focal accumulation of macrophage-derived foam cells, thrombus, cholesterol clefts and calcification tended to be more frequent in de novo lesions than in restenotic lesions. On the other hand, restenotic lesions mainly consisted of stellate vascular smooth muscle cells and extracellular matrix. The expression of MCP-1-positive cells almost coincided with the macrophages. In contrast, staining for MCP-1 was little seen in the stellate vascular smooth muscle cells. Expression of *c-fms* was found in both macrophages and stellate vascular smooth muscle cells. Expression patterns of MCP-1 and *c-fms* exhibited no difference between the two lesion types.

Conclusions. Both MCP-1 and the M-CSF/*c-fms* system are involved in the atherogenesis of de novo lesions. However, the M-CSF/*c-fms* system, rather than MCP-1, is more important in the late stage of restenosis.

J Cardiol 2003 Jul; 42(1): 29-36

昭和大学医学部 第三内科: 〒142-8666 東京都品川区旗の台1-5-8

The Third Department of Internal Medicine, Showa University School of Medicine, Tokyo

Address for correspondence: ISO Y, MD, The Third Department of Internal Medicine, Showa University School of Medicine, Hatanodai 1-5-8, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8666

Manuscript received December 17, 2002; revised February 10 and March 25, 2003; accepted March 25, 2003

Key Words

■Coronary artery disease ■Cytokines (chemokines) ■Atherosclerosis
 ■Restenosis ■Atherectomy

はじめに

冠動脈狭窄病変は、動脈硬化性の新規狭窄病変と経皮的冠動脈インターベンション(percutaneous coronary intervention: PCI)後の再狭窄病変に分けられる¹⁾。新規狭窄病変では、内皮細胞の活性化、マクロファージの浸潤と泡沫化、血管平滑筋細胞の遊走により病変が進行するとされる²⁾。一方で、再狭窄病変は、血管傷害後の創傷治癒反応により過剰に増殖した星形血管平滑筋細胞と細胞外マトリックスにより構成される³⁾。病変形成過程は異なるが、両病変ともケモカインを含むサイトカインや増殖因子が重要な役割を担っていることが注目されている。

ケモカインは、さまざまな細胞から産生され、白血球機能を活性化させる。Monocyte chemoattractant protein(MCP)-1とマクロファージコロニー刺激因子(macrophage colony-stimulating factor: M-CSF)はケモカインの一種であり、MCP-1はC-Cケモカインで、1989年にヒト単球に強い走化性を示す因子としてクローニングされた⁴⁾。M-CSFは主に単球系細胞の分化、増殖因子で、その受容体である*c-fms*は、チロシキナーゼ活性を有し、この受容体を介して骨髄における単球産生促進作用やマクロファージのイフェクター機能促進作用を示す⁵⁾。近年、これらのケモカインが単球/マクロファージの活性化だけでなく血管平滑筋細胞にも作用し、血管病変に関与していることが示されている。MCP-1とセロトニンの添加により培養血管平滑筋細胞が著明に増殖することや⁶⁾、CCR2/MCP-1受容体のノックアウトマウスと動脈硬化をきたすアポEノックアウトマウスとのダブルノックアウトマウスでは、動脈硬化病変が抑制されることが報告された⁷⁾。またM-CSFは、サイトカイン刺激により血管平滑筋細胞で発現が亢進することや⁸⁾、その受容体である*c-fms*がウサギ動脈硬化モデルの内膜合成型平滑筋細胞でマクロファージと同様に発現することが報告された⁹⁾。しかし一方で、ノックアウトマウスの検討では、M-CSFは動脈硬化に対して抑制的に作用する可能性を示唆する報告もあり¹⁰⁾、また再狭窄予測因子として

血中MCP-1濃度とM-CSF濃度のどちらが有用であるかも議論が尽きておらず¹¹⁻¹³⁾、新規狭窄病変と再狭窄病変の冠動脈病変におけるMCP-1とM-CSFの役割はいまだ十分に解明されていない。

方向性冠動脈粥腫切除術(directional coronary atherectomy: DCA)は生体における冠動脈病変の病理学的検索を可能にする数少ないデバイスの一つである。今回、我々は冠動脈病変形成におけるMCP-1、M-CSF/*c-fms*系の役割を検討するため、DCAにより採取した生体冠動脈標本を用い、免疫組織化学により新規狭窄病変および再狭窄病変局所におけるMCP-1およびM-CSF受容体*c-fms*の発現と局在を検討した。

対象と方法

1. 対象

1999年6月-2001年7月に当院でDCAを施行した連続44病変(新規狭窄病変28病変、再狭窄病変16病変)を対象とした。

Table 1に臨床背景を示す。男性38例、女性6例で、年齢、性別および糖尿病などの冠危険因子は、新規狭窄病変群と再狭窄病変群の両群間で、とくに有意差は認められなかった。また急性冠症候群例も両群において有意差はなかった。再狭窄病変群では、前回PCIからDCA施行時までの再狭窄期間は2-12ヵ月で、平均 6.4 ± 2.8 ヵ月であった。前回PCIは、バルーン血管形成術1例、ステント8例、DCA 5例、ロータブレーター1例、ロータブレーター+ステント1例で、再々狭窄は3例であった。

なお、本研究は全症例よりインフォームドコンセントを得て施行した。

2. 組織学的検討

DCA施行後、回収された切除標本をただちに10%ホルマリン溶液で固定し、パラフィン包埋した後、4 μ mの連続薄切片を作成した。ヘマトキシリン・エオシン染色、アザン染色を施行後、光顕観察を行った。組織所見の判定は本研究に関与しない2人の病理医が行った。

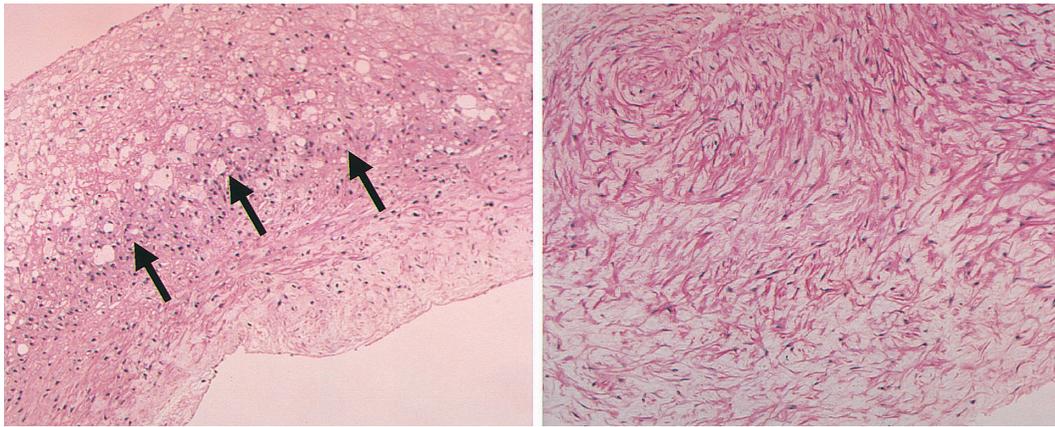


Fig. 1 Photomicrographs showing de novo and restenotic lesions with hematoxylin-eosin staining

Left: Focal accumulation of foam cells was observed in de novo lesions. *Arrows* indicate foam cells.

Right: Restenotic lesions mainly consisted of stellate vascular smooth muscle cells and loose connective tissues.

Table 1 Patient characteristics

	De novo (n = 28)	Restenosis (n = 16)	\square <i>p</i> value
Age(yr, mean \pm SD)	63.5 \pm 11.4	63.7 \pm 11.3	NS
Male sex	22(78.6)	16(100)	NS
Hypertension	20(71.4)	10(81.3)	NS
Diabetes mellitus	8(28.6)	3(18.8)	NS
Hypercholesterolemia	16(57.1)	10(62.5)	NS
Smoking	14(50.0)	8(50.0)	NS
ACS(%)	7(25.0)	1(6.3)	NS
Lesion in LAD	13(53.6)	10(62.5)	NS

() %.

ACS = acute coronary syndrome; LAD = left anterior descending artery.

3. 免疫組織化学的検討

未染薄切切片をキシレン処理およびアルコール処理で脱パラフィンを行い、3%過酸化水素水で内因性ペルオキシダーゼ阻害をした。0.01Mリン酸緩衝生理食塩水で洗浄し、ヒストファインSAB-POキット(ニチレイ)を用い、正常血清、一次抗体、二次抗体(ビオチン標識抗体)および酵素試薬(ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン)の添加、反応を行った。ジアミノベンジジン溶液で発色し、ヘマトキシリンにより核染色を行った。その後、脱水、透徹および封入を行い、観察した。一次抗体として抗MCP-1抗体(Santa Cruz製, 1:100)、抗c-fms/M-CSF受容体抗体(Santa Cruz製, 1:100)、抗マクロファージ(CD68)抗体(DAKO

製, clone KP-1, 1:100)、抗平滑筋アクチン(alpha-smooth muscle actin)抗体(DAKO製, clone 1A4, 1:50)を使用した。

4. 統計解析

比率の検定は²検定、および少数例に対してはFisherの直接法を用いた。 $p < 0.05$ を有意差の判定とした。

結 果

1. 組織所見

新規狭窄病変においては組織構成が多様であった。慢性内膜肥厚に加えマクロファージや星形血管平滑筋細胞およびコレステリン、血栓、石灰化がさまざまに分布していた(Table 2)。マクロファージ由来泡沫細胞の集簇所見は、新規狭窄病変の32.1%に認められ、再狭窄病変に比べて多い傾向であった。またコレステリン、血栓および石灰化所見も新規狭窄病変で、有意差はないものの多少多く認められた(Fig. 1 - 左)。

再狭窄病変においては、粗な結合織を伴う星形血管平滑筋細胞の増生所見が主体で68.8%に認められ、新規狭窄病変に比べて有意に高頻度であった($p < 0.01$; Fig. 1 - 右)。また、ほとんどの再狭窄病変において、マクロファージは一部内膜に散在性にみられるのみであった。

Table 2 Histological characteristics

	De novo (n = 28)	Restenosis (n = 16)	χ^2 value
Stellate SMC hyperplasia	8(28.6)	11(68.6)	<0.01
Foam cell accumulation	9(32.1)	1(6.3)	0.07
Cholesterol clefts	11(39.3)	3(18.8)	0.20
Calcification	11(39.3)	3(6.3)	0.32
Thrombus	4(14.3)	1(6.3)	0.64

() %.

SMC = smooth muscle cell.

2. 免疫組織化学的検討

免疫組織化学的検討において、MCP-1と*c-fms*のおのおのは、発現する細胞に関して新規狭窄病変および再狭窄病変の両者の間で差異は認められなかった。

MCP-1はマクロファージとほぼ一致してその発現がみられ、とくにマクロファージ由来泡沫細胞の集簇部位に強い発現が認められた。一方、星形血管平滑筋細胞にはほとんど発現が認められず、一部マクロファージ集簇部位近傍の平滑筋細胞に弱陽性所見が認められたのみであった(Fig. 2)。再狭窄病変においても、粗な結合織を伴う増生した星形血管平滑筋細胞には、再狭窄期間の長短にかかわらず、その発現はみられなかった(Fig. 3)。

一方、*c-fms*は両病変でマクロファージと多数の平滑筋細胞の両者に発現がみられ、再狭窄病変の星形血管平滑筋細胞においても強発現していた(Figs. 3, 4)。

考 案

今回、マクロファージ機能に関連するMCP-1とM-CSFの冠動脈病変組織中での役割を検討するため、DCA組織を用い、免疫染色によりMCP-1と*c-fms*/M-CSF受容体の発現と局在を観察した。MCP-1は主にマクロファージに発現が認められ、*c-fms*はマクロファージおよび星形平滑筋細胞に発現していた。これらの所見は、両病変において同様であった。以下に、各病変でのMCP-1と*c-fms*の発現意義を考察した。

1. 新規狭窄病変

新規狭窄病変は、その形成にマクロファージが重要であることが知られているが、今回の組織検討においてもマクロファージ由来泡沫細胞の集簇が多数認められ

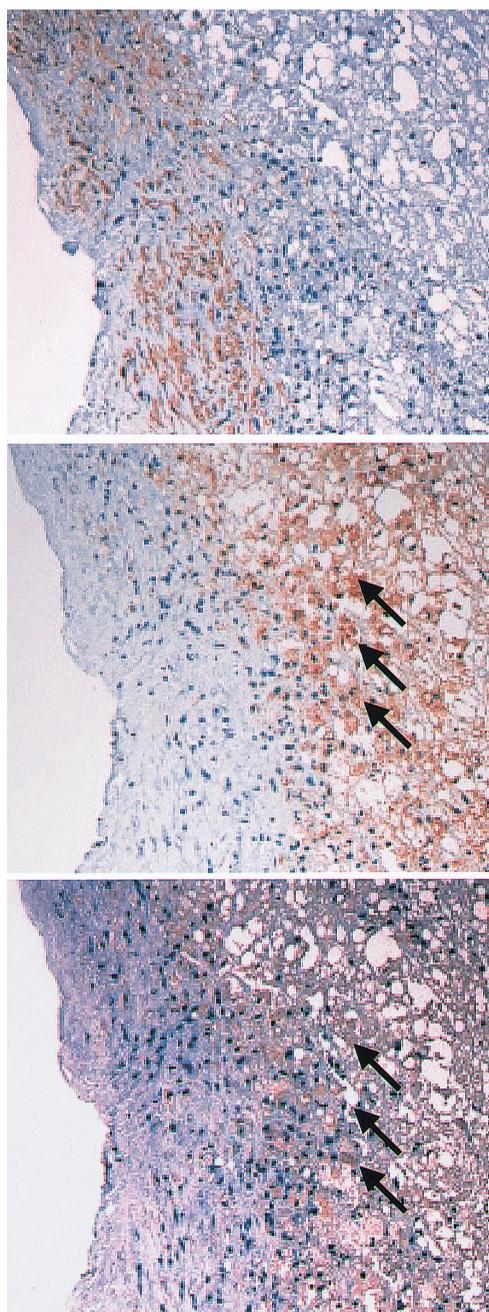


Fig. 2 Photomicrographs showing cross-sections from a de novo lesion

Upper: Staining for alpha-smooth muscle actin confirmed the presence of vascular smooth muscle cells.

Middle: Foam cells were almost all derived from macrophages(arrows)

Lower: Monocyte chemoattractant protein-1-positive cells(arrows) almost coincided with macrophages. However, a few vascular smooth muscle cells are positive for monocyte chemoattractant protein-1.

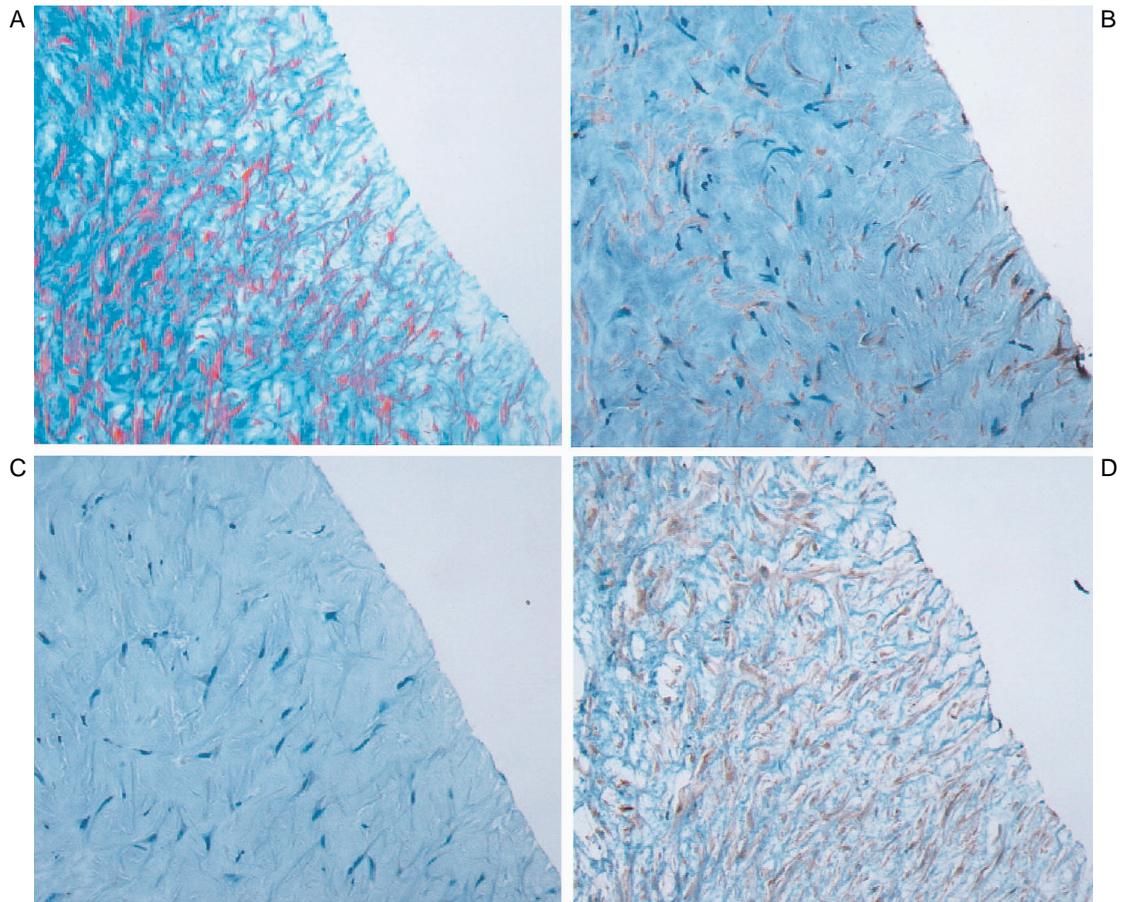


Fig. 3 Photomicrographs showing cross-sections from a restenotic lesion

Azan staining (A) and immunostaining with alpha-smooth muscle actin (B), monocyte chemoattractant protein-1 (C), and *c-fms* (D) showed monocyte chemoattractant protein-1 expression was undetectable on stellate vascular smooth muscle cells in the restenotic lesion (C). Stellate vascular smooth muscle cells in the restenotic lesion showed positive immunoreactivity for *c-fms* (D).

た。MCP-1は、マクロファージにその発現が認められ、星形血管平滑筋細胞ではほとんど認めなかった。他の剖検例による検討でも、ヒト動脈硬化病変においてMCP-1は内皮下のマクロファージに強陽性を示し、内膜平滑筋細胞ではほとんど認められなかったことが報告され¹⁴⁾、今回の検討と同様な結果であった。また、ヒトおよびウサギ動脈硬化モデルでの検討でもマクロファージ集簇病変でMCP-1のmRNAと蛋白の発現が観察されたとされている¹⁵⁾。MCP-1は、マクロファージでの産生を中心に新規狭窄病変の形成に関連していることが示唆された。

一方で、*c-fms*は、マクロファージだけでなく多数の平滑筋細胞にも発現していた。ウサギ動脈硬化モデルの実験的検討において、中膜平滑筋細胞では*c-fms*

は発現がみられず、内膜の合成型平滑筋細胞でマクロファージと同様に発現することが明らかにされた⁹⁾。また*c-fms*のリガンドであるM-CSFを遺伝子導入により血管壁で過剰発現させると、平滑筋細胞とマクロファージが浸潤し動脈硬化を進展させることが実験的に示された¹⁶⁾。今回の検討では、すべての平滑筋細胞には陽性ではなかったが、複雑な動脈硬化病変においては、分化度の異なる平滑筋細胞が混在すること起因するのではないかと考えられた。しかしながら、多数の平滑筋細胞に*c-fms*は発現しており、新規狭窄病変でM-CSF/*c-fms*系は、血管壁においてオートクライン・パラクラインに作用し動脈硬化の進展に関与していると考えられた。

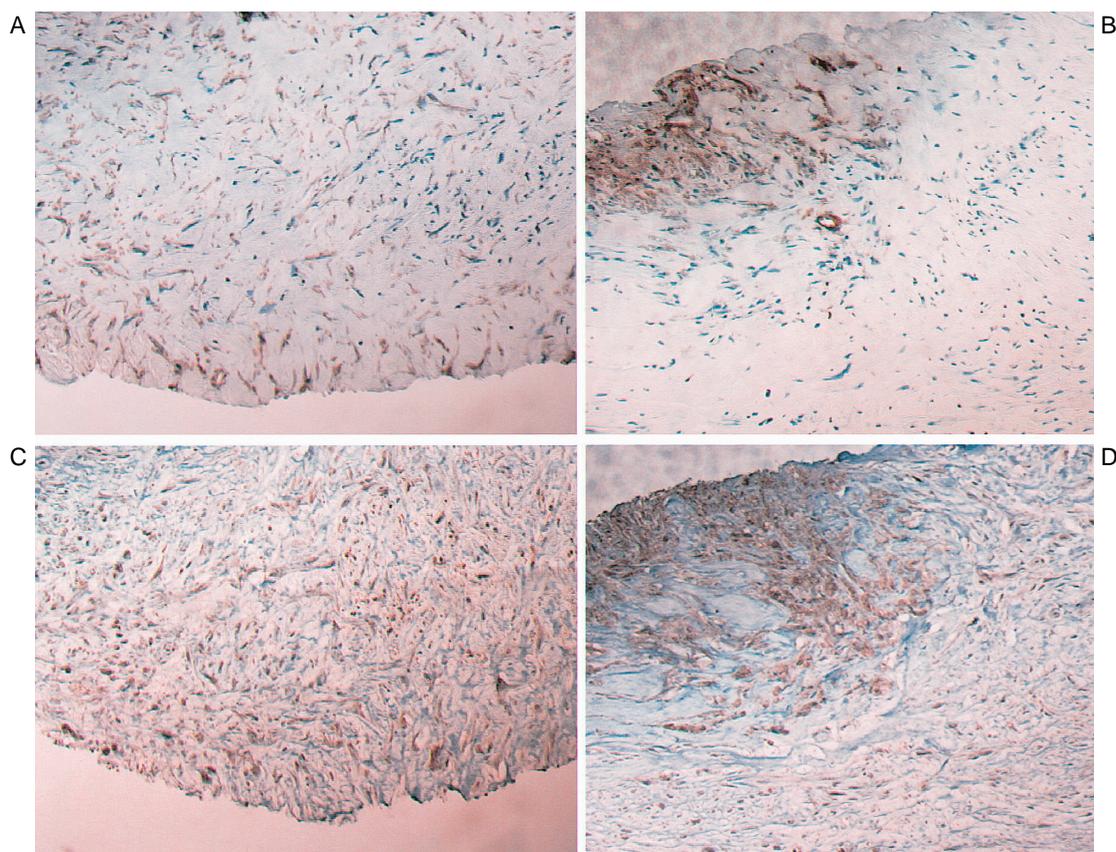


Fig. 4 Photomicrographs showing cross-sections from a de novo lesion

Immunostaining for alpha-smooth muscle actin (A), macrophage (B), and *c-fms* (C, D) showed expression of *c-fms* coincided with both vascular smooth muscle cells (A, C) and macrophages (B, D)

2. 再狭窄病変

再狭窄病変は増生した平滑筋細胞と粗な結合織で主に構成されていた。MCP-1の発現は、これら増生した星形平滑筋細胞には認められなかった。当初、MCP-1も星形平滑筋細胞に発現が認められ、再狭窄に関与していることを想定していたが、今回の組織検討では否定的な結果となった。しかし、実験的検討によれば、サイトカイン刺激によりラット培養平滑筋細胞でMCP-1 mRNAの発現が誘導されること¹⁷⁾や抗MCP-1抗体がラット血管傷害モデルにおいて4日後の新生内膜平滑筋細胞数を減少させたとの報告も認められている¹⁸⁾。また、我々の施行したブタ冠動脈ステント留置後の再狭窄モデルにおけるMCP-1の発現に関する検討では、MCP-1は非傷害血管でわずかに発現が認められたが、ステント留置1週後の新生内膜では著明に発現が増強し、2週後では発現が有意に減弱した¹⁹⁾。ブタ冠動脈再狭窄モデルは、初期では血栓形成、

炎症細胞の接着および平滑筋細胞の遊走と増殖が起こり、約2-4週後の後期では新生内膜組織の肥厚は細胞外マトリックスの増生が主体であることが観察され^{20,21)}、新生内膜平滑筋細胞の増殖活性は1週後をピークに減弱することが報告されており²²⁾、MCP-1の発現時期とほぼ一致していた。今回の検討における再狭窄病変での再狭窄までの期間は、2-12ヵ月で平均6.4ヵ月と再狭窄の中期から後期にあたり、初期の病変はほとんど含まれていなかった。それゆえ、MCP-1は血管傷害後、新生内膜において傷害後早期の炎症反応や平滑筋細胞増殖活性が亢進する時期にその発現が増強し、新生内膜増殖に関与すると考えられ、PCI後の極初期のDCAサンプルが得られれば、その発現の亢進がみられる可能性が考えられた。

再狭窄病変においても*c-fms*は、星形平滑筋細胞に発現が認められた。代表的な再狭窄モデルであるブタ冠動脈バルーン傷害モデルでは、冠動脈の傷害部位に

においてM-CSFの持続的な発現が認められ、放射線療法が新生内膜増殖とM-CSF発現を抑制したことが報告されている²³⁾。血管傷害後に形質変換した平滑筋細胞は*c-fms*を発現し、傷害後初期の細胞増殖期だけでなく後期細胞外マトリックス増生期までM-CSFにより制御されている可能性が示唆された。また、Hojoら¹²⁾は、冠循環中でのM-CSF濃度がPCI後24時間に著明に増加し、late loss indexと正相関したことを報告したが、今回の我々の検討からも、再狭窄に関してM-CSF/*c-fms*系は重要であり、M-CSFは予測因子として有用である可能性が考えられた。

3. 本研究の限界

本来、安定病変および不安定病変では、組織学的特性が異なる。また、再狭窄病変でも前回PCIのデバイスの違いによる病変形態の違いも考慮されなければならない。しかし、本研究では、急性冠症候群症例は少

数のため、安定病変を含め検討を行った。また再狭窄病変では、前回PCIのデバイスはステント以外が少数のため、デバイス間での病変形態や免疫組織学的所見の違いを検出するに至らなかった。

結 論

新規狭窄病変では、その動脈硬化性変化の進展にMCP-1およびM-CSF/*c-fms*系の両者が関与していることが示唆された。再狭窄病変、とくに時間の経過した病変においては、MCP-1よりM-CSFが、持続的に新生内膜平滑筋細胞に発現する受容体*c-fms*を介し再狭窄病変の形成、進展に関与していると考えられた。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、当教室の齋藤 司先生、大塚敏彦先生および本学第二病理学教室の松山高明先生、佐々木ヨシ子技術員より技術指導を賜りましたことを深謝いたします。

要 約

目 的: 冠動脈狭窄病変は、動脈硬化性の新規狭窄病変と冠動脈形成術後の再狭窄病変に分けられる。病変形成過程は異なるが、両病変ともサイトカイン、ケモカインが重要な役割を担っている点で共通している。近年、ケモカインである monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 とマクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF) の血管病変形成への関与が報告されており、今回、ヒト冠動脈粥腫切除術による切片を用い、MCP-1 および *c-fms*/M-CSF 受容体の発現を免疫組織化学的に検討した。

方 法: 方向性冠動脈粥腫切除術を施行した連続44病変(新規狭窄病変28病変、再狭窄病変16病変)で検討した。ヘマトキシリン・エオシン染色、アザン染色で組織学的検討を行い、抗MCP-1、*c-fms*、マクロファージ、平滑筋抗体により免疫染色を行った。

結 果: 新規狭窄病変においては、組織構成が多様であり、コレステリン、血栓および石灰化が散見され、マクロファージ由来泡沫細胞の集簇所見が多い傾向であった。一方、再狭窄病変は粗な結合織を伴う星形血管平滑筋細胞の増生所見が主体であった。免疫組織化学的検討では、MCP-1は主にマクロファージに発現が認められ、*c-fms*はマクロファージおよび多くの星形平滑筋細胞に発現していた。これらの所見は、両病変において同様であった。

結 論: 新規狭窄病変形成には、MCP-1およびM-CSF/*c-fms*系の両者が関与していることが示唆された。再狭窄病変、とくに時間の経過した病変においては、MCP-1よりM-CSFが、持続的に新生内膜平滑筋細胞に発現する受容体*c-fms*を介して、その病変形成に関与していると考えられた。

J Cardiol 2003 Jul; 42(1): 29 - 36

文 献

- 1) Garratt KN, Edwards WD, Kaufmann UP, Vlietstra RE, Holmes DR Jr: Differential histopathology of primary atherosclerotic and restenotic lesions in coronary arteries and

saphenous vein bypass grafts: Analysis of tissue obtained from 73 patients by directional atherectomy. J Am Coll Cardiol 1991; 17: 442 - 448

- 2) Ross R: Atherosclerosis: An inflammatory disease. N Engl J Med 1999; 340: 115 - 126

- 3) Inoue K, Nakamura N, Kakio T, Suyama H, Tanaka S, Goto Y, Nakazawa Y, Yamamoto Y, Nagamatsu T: Serial changes of coronary arteries after percutaneous transluminal coronary angioplasty: Histopathological and immunohistochemical study. *J Cardiol* 1994; **24**: 279 - 291(in Jpn with Eng abstr)
- 4) Furutani Y, Nomura H, Notake M, Oyamada Y, Fukui T, Yamada M, Larsen CG, Oppenheim JJ, Matsushima K: Cloning and sequencing of the cDNA for human monocyte chemoattractant and activating factor(MCAF). *Biochem Biophys Res Commun* 1989; **159**: 249 - 255
- 5) Fixe P, Praloran V: M-CSF: Haematopoietic growth factor or inflammatory cytokine? *Cytokine* 1998; **10**: 32 - 37
- 6) Watanabe T, Pakala R, Katagiri T, Benedict CR: Monocyte chemotactic protein 1 amplifies serotonin-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *J Vasc Res* 2001; **38**: 341 - 349
- 7) Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF: Decreased lesion formation in CCR2^{-/-} mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature* 1998; **394**: 894 - 897
- 8) Clinton SK, Underwood R, Hayes L, Sherman ML, Kufe DW, Libby P: Macrophage colony-stimulating factor gene expression in vascular cells and in experimental and human atherosclerosis. *Am J Pathol* 1992; **140**: 301 - 316
- 9) Inaba T, Yamada N, Gotoda T, Shimano H, Shimada M, Momomura K, Kadowaki T, Motoyoshi K, Tsukada T, Morisaki N, Saito Y, Yoshida S, Takaku F, Yazaki Y: Expression of M-CSF receptor encoded by c-fms on smooth muscle cells derived from arteriosclerotic lesion. *J Biol Chem* 1992; **267**: 5693 - 5699
- 10) Rajavashisth T, Qiao JH, Tripathi S, Tripathi J, Mishra N, Hua M, Wang XP, Loussarian A, Clinton S, Libby P, Lusis A: Heterozygous osteopetrotic mutation reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest* 1998; **101**: 2702 - 2710
- 11) Cipollone F, Marini M, Fazio M, Pini B, Iezzi A, Reale M, Paloscia L, Meterazzo G, D'Annunzio E, Conti P, Chiarelli F, Cuccurullo F, Mezzetti A: Elevated circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 in patients with restenosis after coronary angioplasty. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; **21**: 327 - 334
- 12) Hojo Y, Ikeda U, Katsuki T, Mizuno O, Fukazawa H, Fujikawa H, Shimada K: Chemokine expression in coronary circulation after coronary angioplasty as a prognostic factor for restenosis. *Atherosclerosis* 2001; **156**: 165 - 170
- 13) Ikeda U, Shimada K: Elevated circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 in patients with restenosis after coronary angioplasty. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; **21**: 1090 - 1091
- 14) Takeya M, Yoshimura T, Leonard EJ, Takahashi K: Detection of monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerotic lesions by an anti-monocyte chemoattractant protein-1 monoclonal antibody. *Hum Pathol* 1993; **24**: 534 - 539
- 15) Yla-Herttuala S, Lipton BA, Rosenfeld ME, Sarkioja T, Yoshimura T, Leonard EJ, Witztum JL, Steinberg D: Expression of monocyte chemoattractant protein 1 in macrophage-rich areas of human and rabbit atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; **88**: 5252 - 5256
- 16) Mozes G, Mohacsi T, Gloviczki P, Menawat S, Kullo I, Spector D, Taylor J, Crotty TB, O'Brien T: Adenovirus-mediated gene transfer of macrophage colony stimulating factor to the arterial wall in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; **18**: 1157 - 1163
- 17) Seino Y, Ikeda U, Takahashi M, Hojo Y, Irokawa M, Kasahara T, Shimada K: Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in vascular tissue. *Cytokine* 1995; **7**: 575 - 579
- 18) Furukawa Y, Matsumori A, Ohashi N, Shioi T, Ono K, Harada A, Matsushima K, Sasayama S: Anti-monocyte chemoattractant protein-1/monocyte chemotactic and activating factor antibody inhibits neointimal hyperplasia in injured rat carotid arteries. *Circ Res* 1999; **84**: 306 - 314
- 19) Iso Y, Suzuki H, Satou T, Shoji M, Shibata M, Hamazaki Y, Koba S, Sakai T, Otsuka T, Saitoh T, Murakami M, Geshi E, Katagiri T: Contribution of monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage-colony stimulating factor to coronary artery disease. *Circ J* 2002; **66**(Suppl): 617(abstr)
- 20) Schwartz RS, Holmes DR Jr, Topol EJ: The restenosis paradigm revisited: An alternative proposal for cellular mechanisms. *J Am Coll Cardiol* 1992; **20**: 1284 - 1293
- 21) Bayes-Genis A, Kantor B, Keelan PC, Altman JD, Lubbe DF, Kang JH, Schwartz RS: Restenosis and hyperplasia: Animal models. *Curr Interv Cardiol Rep* 2000; **2**: 303 - 308
- 22) Carter AJ, Laird JR, Farb A, Kufs W, Wortham DC, Virmani R: Morphologic characteristics of lesion formation and time course of smooth muscle cell proliferation in a porcine proliferative restenosis model. *J Am Coll Cardiol* 1994; **24**: 1398 - 1405
- 23) Finkelstein A, Makkar R, Doherty TM, Vegesna VR, Tripathi P, Liu M, Bergman J, Fishbein M, Hausleiter J, Takizawa K, Rukshin V, Shah PK, Rajavashisth TB: Increased expression of macrophage colony-stimulating factor after coronary artery balloon injury is inhibited by intracoronary brachytherapy. *Circulation* 2002; **105**: 2411 - 2415