

200821030A

平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

高齢者の切迫性尿失禁に対する
膀胱壁内A型ボツリヌス毒素注入療法の
多施設臨床試験と
腹圧性尿失禁に対する新規治療法の開発

（H19-長寿-一般-001）

平成 20 年度

総括・分担研究報告書

平成 21(2009)年 3 月

研究代表者 岡村 菊夫

国立長寿医療センター

目 次

I. 総括研究報告	
高齢者の切迫性尿失禁に対する膀胱壁内 A 型ボツリヌス毒素注入療法の多施設臨床試験と腹圧性尿失禁に対する新規治療法の開発 岡村 菊夫.....	1
II. 分担研究報告	
1. 高齢者腹圧性尿失禁に対する括約筋機能再生治療： 高齢者切迫性尿失禁に対する A 型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法の多施設臨床試験 岡村 菊夫.....	8
【資料】 プロトコール	
1) 神経因性排尿筋過活動に対する A 型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法の検討	
2) 非神経因性排尿筋過活動に対する A 型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法の検討	
2. 高齢者腹圧性尿失禁に対する新規治療法の開発： 脂肪組織由来幹細胞移植ならびに内因性筋幹細胞増殖因子・薬剤の局所注入療法の安全性検討 後藤 百万.....	73
3. 高齢者腹圧性尿失禁に対する新規治療法の開発： 括約筋機能再生治療： 失禁モデル作成と細胞移植法の確立 山本 徳則.....	77
4. 高齢者腹圧性尿失禁に対する括約筋機能再生治療： 培養・移植系の有効性・安全性総合評価 松尾 清一.....	82
5. 高齢者腹圧性尿失禁に対する括約筋機能再生治療： 脂肪細胞の培養と幹細胞化の安全性に関する検討 丸山 彰一.....	88
6. 高齢者腹圧性尿失禁に対する新規治療法の開発： 尿道括約筋機能再生医療の安全性検討 橋本 有弘.....	96
7. 高齢者腹圧性尿失禁に対する括約筋機能再生治療： 移植用筋細胞の品質管理システムの開発と筋増殖・肥大因子のスクリーニング 上住（池本） 円.....	100
8. 高齢者腹圧性尿失禁に対する括約筋機能再生治療： 移植用筋細胞の安全性検定系の開発と筋増殖・肥大因子の有効性・安全性に関する検討 宋 時榮.....	103
III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	107
研究成果の刊行物・別刷	

高齢者の切迫性尿失禁に対する膀胱壁内 A 型ボツリヌストキシン注入療法の多施設臨床試験と
腹圧性尿失禁に対する新規治療法の開発

研究代表者 岡村菊夫 国立長寿医療センター 手術・集中医療部長

研究要旨

高齢者の切迫性、腹圧性尿失禁に対する新規の治療法を開発することを目的とした。切迫性尿失禁に対しては、非神経因性過活動膀胱に対する A 型ボツリヌストキシン膀胱壁内注入療法と脊髄損傷による神経因性排尿筋過活動に対する A 型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法の臨床試験を開始し、現時点は尿失禁の改善は極めて優れていると考えられた。自己骨格筋幹細胞を用いた再生治療の研究では、高齢者からでも高い増殖能・分化能を有する筋細胞が得られ、低密度細胞培養によって筋細胞の純粋培養が可能であり、BKL-ALP と CD56 の両方が陽性である細胞の割合がよい品質管理指標となり、ヒト筋細胞を免疫不全マウスの前頸骨筋に移植すると腫瘍形成なしに筋線維を形成することを見いだした。脂肪組織由来幹細胞を用いた再生治療の研究では、基礎実験で脂肪組織由来幹細胞の注入により、平滑筋への分化、尿道閉鎖圧の上昇が認められ、臨床応用可能と考えられたため、培養なしに行う方法を考案して、倫理委員会の承認を得た後、2 例に実際の治療を行い、良好な結果を得た。

研究分担者

橋本有弘

国立長寿医療センター再生再建医学研究部長

上住（池本）円

国立長寿医療センター 細胞再生研究室長

宋 時栄

徳島文理大学 神経科学研究所 教授

後藤百万

名古屋大学大学院医学系研究科

泌尿器科学教授

山本徳則

名古屋大学医学部附属病院 泌尿器科 講師

松尾清一

名古屋大学大学院医学系研究科

腎臓内科学教授

丸山彰一

名古屋大学大学院医学系研究科

腎臓内科学講師

A. 研究目的

高齢者の尿失禁には、切迫性、腹圧性、溢流性、機能性の4つのタイプが存在し、いずれのタイプの尿失禁も高齢者の QOL を大いに障害するとされている。これまでの治療法に関しては、切迫性尿失禁に対しては抗コリン薬内服が最も有効な治療法として行われているが、効果が不十分な症例も多い。また、認知症悪化、堪えがたい口内乾燥、便秘などの副作用があり、内服を継続できない高齢者も多い。こうした難治性の切迫性尿失禁に対しては、A 型ボツリヌストキシンの膀胱壁内注入療法が有望視されている。この治療法が新たな治療法として確立できれば、抗コリン薬をもらうための通院が不要になるとともに（Polypharmacy に対する対策にもなる）、抗コリン薬が不適切な高齢者の治療が可能となる。

一方、腹圧性尿失禁は咳・くしゃみ、重いものを持ち上げた時など腹圧が加わった時に生じ、女性に多く見られる。高齢男性においても前立腺肥大症、前立腺癌の手術後にながりの頻度で発生することが知られている。骨盤底筋体操、TVT（Tension-free Vaginal Tape）手術があるが、前者は継続が難しく、後者は侵襲性・術後の尿排出障害の可能性を考慮すると高齢者には行いがたい治療法となっている。コラーゲン尿道壁内注入療法は侵襲性が低く、短期的には有効とされているが、コラーゲンがいずれ吸収されるため再発率は極めて高い。しかし、注入物質が吸収されることもなく、その場所で膨隆（漏れに対する抵抗）となり、その上に括約筋が再生できるような注入治療であれば、有効性は極めて高くなることが予想される。そのような治療法として、自己骨格筋幹細胞や脂肪組織由来幹細胞を用いた再生治療が考えられる。現時点では、体外で培養した幹細胞を移植するような治療はGMPに基づいた設備や管理体制が必要とされるため、すぐに行えるわけではない。しかし、尿失禁を有する高齢者が今後ますます増加することを鑑みれば、高齢者に適した低侵襲治療の開発は急がねばならない課題であり、採取した自己骨格筋幹細胞や脂肪組織を体外での培養なしに移植して生着させる治療法の可能性についても検討する価値があると考えられた。

昨年度、岡村、後藤は全国の研究協力者とともに切迫性尿失禁に対する治療としてA型ボツリヌス毒素の膀胱壁内注入療法の有効性・安全性を確認するためのプロトコルを作成し、橋本、上住（池本）、宋、岡村らは手術時に高齢者から採取された骨格筋から幹細胞を単離し、増殖・分化を最適化する培養法の開発、安全性の確認、細胞分取法の検討を行った。また、山本、丸山、後藤、松尾らは脂肪細胞由来幹細胞の移植実験を行って

きた。今年度の報告書では、それに引き続く成果を報告する。

B. 研究方法

1) 切迫性尿失禁に対するA型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法

この研究は、岡村・後藤が行った。昨年度、研究協力者とともに作成したプロトコルは2つあり、一つは「非神経因性難治性過活動膀胱に対するボトックス（100単位）の膀胱壁内注入療法の検討」であり、もう一つは「脊髄損傷による神経因性膀胱過活動に対するボトックス（200単位）の膀胱壁内注入療法の検討」であった。後者では、反射性の強い不随意膀胱収縮がみられるため投与量が多く必要であることがわかっている。米国の消費者団体からのA型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法における死亡例の指摘があり、説明文書の改訂や、治療に関する費用は研究費から支出することを明記する必要があり、長寿医療センター倫理委員会への再提出が必要となった。今年度、倫理委員会が4月から6ヶ月間倫理委員会が開催されなかったため、研究遂行が遅れてしまった。すべての研究参加施設において、臨床試験遂行のため倫理委員会の承認を得た。また、ボツリヌス毒素と聞いて研究参加をためらう患者も多く、ホームページ上に試験に関する情報を提供するとともに協力者を増やそうと考えている。

2) 自己骨格筋幹細胞を用いた再生治療

橋本が中心的役割を担い、上住（旧姓：池本）、宋、岡村がそれぞれの役割を分担した。橋本は自己骨格筋細胞移植による再生治療を可能とするために、効率がよく、安全性の高い細胞培養法の確立を目指し、上住は移植細胞の品質管理システム（移植に適した筋細胞を識別し、移植に適した細胞のみを迅速かつ生きてまま識別する方法）を確立するために

適切な表面マーカーの洗い出し、宋は移植細胞の安全性検定系の確立を目指した。岡村は、これらの研究に使用されるヒト骨格筋組織を前立腺癌のため前立腺全摘除術を行う患者から得た。

(倫理面への配慮)

動物およびヒト材料を用いた実験に関しては、国立長寿医療センターの動物実験倫理委員会、倫理委員会の承認を得、規定に従って実施した。

3) 脂肪組織由来幹細胞を用いた再生治療

山本が中心的役割を担い、丸山、松尾、後藤がそれぞれの役割を果たした。山本と後藤は、昨年度の基礎実験データを根拠に、Cytos Therapeutics, Inc.の脂肪幹細胞分離装置を用いて細胞培養を行わずに脂肪組織由来幹細胞の膀胱頸部注入手術が可能かどうかの基礎実験を行い、臨床への応用を模索した。丸山はラット膀胱頸部に移植した脂肪組織由来間葉系細胞の経時的観察を行い、松尾は移植により尿道閉鎖圧が上昇するかどうか検討すると共に、腫瘍化があり得るかどうか安全性の評価を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験については、名古屋大学医学部動物実験施設における規程に準じて行った。また、臨床への応用に関しては、名古屋大学倫理委員会の承認を受けた。

C. 研究結果

1) 切迫性尿失禁に対する A 型ボツリヌストキシン膀胱壁内注入療法

前者に登録された非神経因性過活動膀胱は 3 例 (男性、年齢: 71.6 ± 5.7 歳)、経過観察期間は 1~6 ヶ月であった。術前の尿流動態検査で全例排尿筋不随意収縮 ($49 \pm 13 \text{ cmH}_2\text{O}$) を認め、最大膀胱容量は $24-170 (121 \pm 84) \text{ ml}$ 、最大尿流時排尿筋圧は $23-42 \text{ cmH}_2\text{O}$ であっ

たが、術後 1 ヶ月目には不随意収縮は消失、膀胱容量の増大と収縮力の低下を認めた。排尿機能検査では、排尿の勢いは術後 1 ヶ月目に低下し、残尿も増加したが、その後はもとに復するものと思われた。1 ヶ月目には排尿の勢いが低下し、残尿が増加した。自覚症状の変化では、昼間頻尿、尿失禁は術後 1 ヶ月目に大いに改善したが、切迫感の頻度はあまり変わらないようであった。治療 1 ヶ月目の患者満足度は極めて高かった。排尿記録における昼間排尿回数は減少し、昼間・夜間の 1 回排尿量は若干増加、昼間・夜間の強い尿意回数は減少、尿失禁回数も減少した。後者に登録された症例は 6 例 (男 5 例、女 1 例、年齢: $23-66$ 歳)、経過観察期間は 1~7 ヶ月であった。尿流動態検査では全例に排尿筋不随意収縮 ($37-119 \text{ cmH}_2\text{O}$) を認め、最大膀胱容量は $23-500 \text{ ml}$ 、最大容量時膀胱内圧は $6-80 \text{ cmH}_2\text{O}$ であった。治療の合併症はほとんど認められず、術後 1 ヶ月目に尿流動態検査が行われた 5 例中 3 例で不随意収縮が消失し、2 例で不随意収縮は残ったものの $119 \rightarrow 44 \text{ cmH}_2\text{O}$ 、 $50 \rightarrow 25 \text{ cmH}_2\text{O}$ へ低下し、最大膀胱容量は全例で 2 倍以上に増加した。自覚症状では、治療 1 ヶ月目では、尿失禁の頻度、量、程度ともに軽快し、患者満足度は 1 ヶ月以降も高いようである。排尿記録における尿失禁回数は劇的に減少した。

2) 自己骨格筋幹細胞を用いた再生治療

今年度は、前立腺全摘除術時に、同意を得た前立腺癌患者 4 人 (61 歳~75 歳) の腹直筋あるいは錐体筋を約 1 g 摘出し、直径 100 mm の I 型コラーゲン・コート培養ディッシュ上で筋細胞を分離・培養した。全例で 14~21 日間の初代培養によって、重量 30 mg 前後の微量な筋組織から百万個以上の増殖・分化能を有する筋細胞を得ることに成功した。低密度培養後、蛍光タンパクで標識した初代培養

筋細胞を免疫抑制マウスに移植したところ、移植されたヒト筋細胞は、マウス筋組織における筋線維形成に参画し、筋再生に貢献したことが明らかになった。また、宿主筋組織に腫瘍形成は認められなかった。上住は、培養・増幅された筋幹細胞を BKL-ALP と CD56 でラベルし、フローサイトメーターを用いて分画後、ソーティングを行い、再度培養を行ったところ、CD56、BKL-ALP とも陽性の細胞が高い筋分化能を示したのに対し、CD56 陰性かつ ALP 陽性細胞の分化能は低いことが示された。CD56 の発現が筋細胞の高い分化能力を反映する可能性が示唆され、このマーカーを用いて移植後の治療効果および安全性を担保するための品質管理が可能になると思われた。宋は、0.2% bupivacaine 投与による成熟ラット腓腹筋壊死後の筋再生モデルを用いて、0.2% bupivacaine と同時にコラーゲン三重鎖形成とコラーゲン合成を妨げる 2, 2'-dipyridyl を同時投与すると、筋管形成時に観察される、筋管周囲の肥厚した IV 型コラーゲンの代わりに菲薄な IV 型コラーゲンしか認められず、筋再生が著しく遅延することを見いだした。また、マウスの初代培養筋芽細胞を、増殖条件で IV 型コラーゲンゲル上で培養すると、培養開始 48 時間後には自発的収縮を示すよじれた紐状の細長い構造を形成する。この構造物を電子顕微鏡で観察すると、多くの細胞で良く発達した粗面小胞体が観察され、一部の細胞突起はアクチン細線維を豊富に持ち、収縮構造の形成があると推定された。IV 型コラーゲンは筋管形成時に収縮蛋白の発現を促進する効果を持ち、基底膜の他の成分とともに筋管形成を促進することが示唆された。

3) 脂肪組織由来幹細胞を用いた再生治療

丸山の研究では、7 週齢の雄 SD Tg (CAG-EGFP) ラットの皮下脂肪組織から得

た Stromal Vascular Fraction (SVF) を経代培養した脂肪由来間葉系細胞を、7 週齢雌 344/N-rnu/rnu rat の尿道壁内に注入し、Day28 でラットを sacrifice して尿道組織を抗 GFP 抗体と α SMA 抗体を用いた免疫染色をしたところ、GFP 陽性細胞と α SMA 陽性細胞が複数の細胞で一致したため、注入した細胞が平滑筋細胞に分化したのではないかと考えられた。松尾の研究では、昨年度開発したラット膀胱内圧測定方法の手技を用いて、ヒト脂肪から低血清培養で得られた幹細胞を 7 週齢♀ヌードラット尿道壁内に注入した効果を確認したところ、細胞治療群で尿道閉鎖圧の上昇を認めた。後藤と山本は、昨年度・今年度の基礎実験結果をもとに、吸引した脂肪組織を体外で細胞分離装置 (Cytori Therapeutics, Inc.) を用いて自己脂肪組織由来幹細胞を分離できることを利用して、細胞培養法を用いることなく移植を行うことを考えた。方法論を考え、倫理委員会の承認を得た。平成 21 年 1 月 31 日より、2 例の前立腺癌術後腹圧性尿失禁症例に対して、自己脂肪組織由来幹細胞治療 (非培養法) を行った。副作用なく、安全に施行でき、現時点では、経過観察は短いものの良好な結果を得ている。

D. 考察

1) 切迫性尿失禁に対する A 型ボツリヌストキシン膀胱壁内注入療法

現在、3 例の非神経因性過活動膀胱、6 例の神経因性排尿筋過活動に治療を行った。術後 1 ヶ月ぐらい排尿障害が起こるが、その他の副作用はほとんど認められない。また、尿失禁に対する効果は極めて優れていると考えられる。今後、さまざまな手段を用いて切迫性あるいは脊髄損傷による反射性尿失禁を有する患者に研究を紹介するとともに、研究協力者をさらに募って、臨床試験を進める予定である。

2) 自己骨格筋幹細胞を用いた再生治療

橋本が開発した筋細胞培養法により筋幹細胞を分離・増幅することが可能となり、増殖・分化を調節できることがわかった。また、腫瘍化することもなく、安全性も高いと考えられた。上住の研究によって、移植に最適な細胞を迅速に識別することも可能となり、臨床応用が近づいたといえる。宋の研究では、IV型コラーゲンが筋管形成時に収縮蛋白の発現を促進する効果を持ち、基底膜の他の成分とともに筋管形成を促進することが示唆された。これらの知見は、自己筋幹細胞移植を成功させるための基本的な知識となろう。

3) 脂肪組織由来幹細胞を用いた再生治療

昨年度と今年度に行った基礎実験結果により、脂肪組織由来幹細胞の尿道内注入療法が腹圧性尿失禁の治療手段として有効であり、安全性も高いという確信を得た。細胞分離装置 (Cytori Therapeutics, Inc.) を用いることで、自己脂肪組織由来幹細胞を細胞培養法を用いることなく移植できる手段を見だし、倫理委員会で承認を得た後、前立腺手術後の尿失禁 2 例に治療を試み、経過観察期間は短いものの良好な治療成績を得ている。今後、経過観察を十分に行うとともに、症例を重ね、必要があればさらなる改善を行っていききたい。

E. 結論

非神経因性過活動膀胱に対する A 型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法と脊髄損傷による神経因性排尿筋過活動に対する A 型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法の臨床試験を開始した。経過観察期間は短い、注入に伴う合併症はほとんど認めず、尿失禁の改善は極めて優れていると考えられた。治療後 1~2 ヶ月程度、残尿の増加が認められたが、尿閉となった症例はいなかった。治療前に、

膀胱出口閉塞を除外しておくことが重要であると考えられた。自己骨格筋幹細胞を用いた再生治療の研究では、1) 高齢者からも高い増殖能・分化能を有する筋細胞が得られ、2) 低密度細胞培養によって筋細胞の純粋培養が可能であり、3) 動物由来成分を用いない筋幹細胞の分離・調製法を確立し、4) 高齢者の骨格筋 1 g から 40 日間の二次培養で 109 の細胞を得ることが可能、5) BKL-ALP と CD56 の両方が陽性である細胞の割合がよい品質管理指標となり、フローサイトメーターで分取が可能である、6) ヒト筋細胞を免疫不全マウスの前頸骨筋に移植すると、腫瘍形成なしに筋線維を形成することを見いだした。国立長寿医療センターにはまだ CPC がいないため、臨床へのトランスレーションには至っていないが、臨床応用に向け、大変にポジティブな結果を得ている。脂肪組織由来幹細胞を用いた再生治療の研究では、1) 基礎実験で脂肪組織由来幹細胞の注入により、平滑筋への分化、尿道閉鎖圧の上昇が認められ、2) 臨床応用可能と考えられたため、培養なしに行う方法を考案して、倫理委員会の承認を得た後、2 例に実際の治療を行い、良好な結果を得た。今後、経過観察を十分に行うとともに、症例を重ね、必要があればさらなる改善をしていく予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Urahama Y, Ohsaki Y, Fujita Y, Maruyama S, Yuzawa Y, Matsuo S, Fujimoto T. Lipid droplet-associated proteins protect renal tubular cells from fatty acid-induced apoptosis. *Am J Pathol* 173: 1286-94. 2008.

- 2) 後藤百万、山本徳則 腎臓・膀胱微小循環と再生 unite 2008 35-36, 2008
 - 3) Imamura T, Yamamoto T, Ishizuka O, Gotoh M, Nishizawa O. Freeze-injured urinary bladders in mice provide a microenvironment for bone marrow-derived cells to regenerate smooth muscle layers. *Tissue Engineering* accepted, 2009.
2. 学会発表
- 1) 岡村菊夫、野尻佳克、石田陽子. A型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法が著効した過活動膀胱の1例. 第243回日本泌尿器科学会東海地方会. 名古屋 2009年3月8日.
 - 2) 渡辺達人、丸山彰一、松尾清一、山本徳則、後藤百万. ラット尿失禁モデルにおける低血清培養脂肪由来間葉系細胞を用いた治療実験. 第7回日本再生医療学会総会 名古屋 平成20年3月13日~14日
 - 3) 坂 洋祐、丸山彰一、岩島重二郎、渡辺達人、安田 香、尾崎武徳、湯澤由紀夫、松尾清一. 脂肪由来間葉系細胞を用いた低血清培養法の検討. 第7回日本再生医療学会総会 名古屋 平成20年3月13日~14日
 - 4) 向敦史、橋本有弘. Specification of fusion-competent areas of plasma membrane in myogenic cells. 日本発生物学会第41回大会 徳島、2008年5月28日~30日
 - 5) 柳澤美智子、橋本有弘. Inhibition of myogenesis and myogenin promoter activity by mutated ALK2 found in a heritable human disease. 日本発生物学会第41回大会 徳島、2008年5月28日~30日
 - 6) 向敦史、橋本有弘. 骨格筋細胞融合における脂質ラフトの役割. 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 神戸、2008年12月9日~11日
 - 7) 塩見浩介、清野透、後藤雄一、橋本有弘. 細胞周期調節因子とテロメラーゼによるヒト多能性筋前駆細胞の不死化. 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 神戸、2008年12月9日~11日
 - 8) Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Tsuchida K, Fukada S, Hashimoto. Age-related changes of directly isolated satellite cells by genome-wide gene expression analysis. 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会神戸、2008年12月9日~11日
 - 9) 橋本有弘. 骨格筋幹細胞を用いた腹圧性尿失禁に対する再生治療法開発のための基礎研究. 第11階UTPシンポジウム. 東京、2009年1月17日~18日
 - 10) Mukai A, Hashimoto N. Specification of fusion-competent areas of plasma membrane in myogenic cells. The molecular and cellular mechanisms regulating skeletal muscle development and regeneration. EMBO Conference: スペイン、Sant Feliu de Guixols, 2008年9月23日~10月1日
 - 11) Song S-Y., Hashimoto N., Kato C., and Adachi E. Functional significance of thick type IV collagen around regenerating muscles in myotube formation. 第31回に本神経科学大会 2008年7月9~11日 東京(Proceedings in Neuroscience Res 61 Suppl 1, S58, O2-F08)
 - 12) Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Tsuchida K, Fukada S and Hashimoto

N.Age-related changes of directly isolated muscle satellite cells by genome-wide gene expression analysis. 第 23 回内藤コンファレンス, 神奈川 2008 年 11 月 11 日~14 日

- 13) Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Tsuchida K, Fukada S and Hashimoto N. Age-related changes of directly isolated muscle satellite cells by genome-wide gene expression analysis. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会, 神戸 2008 年 12 月 9 日~12 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

研究要旨

切迫性尿失禁は高齢者によく見られる尿失禁のタイプであり、抗コリン薬が第一に選択される治療であるが、抗コリン薬には口内乾燥、便秘、認知症悪化など高齢者に優しくない副作用があることが知られている。抗コリン薬不応あるいは副作用により内服ができない切迫性尿失禁を有する難治性非神経因性過活動膀胱と脊髄損傷による（反射性）排尿筋過活動道に対する A 型ボツリヌストキシン膀胱壁内注入療法の有効性、安全性について検討した。前者に登録された非神経因性過活動膀胱は 3 例（男性、年齢：71.6±5.7 歳）、経過観察期間は 1-6 ヶ月であった。術前の尿流動態検査で全例排尿筋不随意収縮（49±13cmH₂O）を認め、最大膀胱容量は 24-170（121±84）ml、最大尿流時排尿筋圧は 23-42cmH₂O であったが、術後 1 ヶ月目には不随意収縮は消失、膀胱容量の増大と収縮力の低下を認めた。排尿機能検査では、排尿の勢いは術後 1 ヶ月目に低下し、残尿も増加したが、その後はもとに復するものと思われた。1 ヶ月目には排尿の勢いが低下し、残尿が増加した。自覚症状の変化では、昼間頻尿、尿失禁は術後 1 ヶ月目に大いに改善したが、切迫感の頻度はあまり変わらないようであった。治療 1 ヶ月目の患者満足度は極めて高かった。排尿記録における昼間排尿回数は減少し、昼間・夜間の 1 回排尿量は若干増加、昼間・夜間の強い尿意回数は減少、尿失禁回数も減少した。後者に登録された症例は 6 例（男 5 例、女 1 例、年齢：23-66 歳）、経過観察期間は 1-7 ヶ月であった。尿流動態検査では全例に排尿筋不随意収縮（37-119cmH₂O）を認め、最大膀胱容量は 23-500ml、最大容量時膀胱内圧は 6-80cmH₂O であった。治療の合併症はほとんど認められず、術後 1 ヶ月目に尿流動態検査が行われた 5 例中 3 例で不随意収縮が消失し、2 例で不随意収縮は残ったものの 119→44 cmH₂O、50→25 cmH₂O へ低下し、最大膀胱容量は全例で 2 倍以上に増加した。自覚症状では、治療 1 ヶ月目では、尿失禁の頻度、量、程度ともに軽快し、患者満足度は 1 ヶ月以降も高いようである。排尿記録における尿失禁回数は劇的に減少した。

A. 研究目的

高齢者の尿失禁には切迫性、腹圧性、溢流性、機能性の 4 つのタイプがあり、どのタイプの尿失禁も高齢者の「生活の質」を大きく障害すると考えられるが、この研究では難治性であっても治療可能と考えられる切迫性尿

失禁をターゲットにして、A 型ボツリヌストキシン膀胱壁内注入療法の有用性を検討する。

本間らによれば、本邦において過活動膀胱（尿意切迫感を主症状とし、頻尿、切迫性尿失禁を伴うことのある症候群）を有する 40 歳以上の人々は 810 万人にのぼるとされてい

る。治療としては、抗コリン薬が治療の第一選択とされているが、十分な量の抗コリン薬によっても症状が軽快しなかったり、口内乾燥、便秘、認知症悪化などの副作用により薬剤の継続使用ができない症例も多い。

A 型ボツリヌス毒素（ボトックス[®]）は末梢の神経筋接合部における神経終末内でのアセチルコリン放出抑制により神経筋伝達を阻害し、筋弛緩作用を示す薬剤ボトックスとして Allergan inc. (USA) から販売されている。本邦では、眼瞼痙攣、片側顔面痙攣、痙性斜頸の治療にすでに保険適応（グラクソ・スミスクライン株式会社が本邦では販売）が通っており、臨床場において痙攣、筋硬直を取り除く目的で使用されている。

近年、諸外国では泌尿器科領域において抗コリン薬の効果が不十分な過活動膀胱に A 型ボツリヌス毒素の膀胱壁内注入療法の有用性が報告されている。A 型ボツリヌス毒素の致死量は 2000-3000 単位であるとされるが、これまでに報告されている尿路系への注入量は 100-300 単位であり、重篤な副作用の報告はない。平成 16-18 年度の厚生労働省科学研究（長寿総合）において得られた岡村と宮川の知見をもとに、臨床試験を組み立てた。本研究では、抗コリン薬の効果が不十分であるか、副作用のため抗コリン薬の継続使用ができない非神経因性過活動膀胱と脊髄損傷による神経因性排尿筋過活動に対して、それぞれ A 型ボツリヌス毒素 100 単位と 200 単位の膀胱壁内注入療法の検討を多施設共同研究として行うこととした。

B. 研究方法

昨年度は多施設共同研究を行うための組織作り、プロトコルの作成を行った。昨年 1 月に米国の消費者団体である Public Citizen が「A 型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入による死亡例があること」を公開し、日本において

も報道が過敏に反応したため、毒性の再調査・説明文書を改訂した。死亡の原因は誤嚥あるいは誤嚥性肺炎であり、明らかな因果関係がはっきりしているわけではないことがわかった。この研究では、高齢者が研究対象に含まれることから嚥下困難のある症例は除外することとした。また、治療に関する費用は研究費から支出することを明記するとともに、海外の研究者（ピッツバーグ大学 Michel Chancellor 教授）からのアドバイスにより神経因性排尿筋過活動に対しては投与量を 200 単位に変更することとした。当院において 4 月から 6 ヶ月間倫理委員会が開催されなかったため、研究遂行が遅れてしまった。プロトコルは付録 1, 2 に示す。

当院の 2 回目の倫理委員会承認の前に倫理委員会の承認が得られた研究参加施設では平成 20 年 7 月から症例登録が開始された。しかし、ボツリヌス毒素と聞いて研究参加をためらう患者も多く、症例登録がなかなか進まないため、平成 21 年 1 月にさらに 2 施設に研究参加していただくこととなった。現在の研究者は、主任研究者と本間孝之（東京大学）、後藤百万（名古屋大学）、木元康介（総合せき損センター）、仙石 淳（兵庫県立総合リハビリテーションセンター）、飴田 要（北海道泌尿器科記念病院）、波間孝重（東北労災病院）、朝倉博孝（東京電力病院）、長井辰哉（豊橋市民病院）、小松和人（福井赤十字病院）、上田朋宏（京都市立病院）、夏目 修（宇陀市立病院）、百瀬 均（星ヶ丘厚生年金病院）、小川隆敏（海南市民病院）、寺井章人（倉敷中央病院）、武井実根雄（原三信病院）、森田 肇（北海道中央労災病院せき損センター）、細木 茂（横浜労災病院）（敬称略）である。国立長寿医療センターホームページに研究に関する情報を掲載し、また、Umin の臨床試験情報にも掲載した。

(倫理面への配慮)

A型ボツリヌス毒素を用いた臨床試験であるため、作成したプロトコールは国立長寿医療センターおよび各参加施設の倫理委員会の承認を受けることとする。研究成果の発表にあつては、個人情報を発表することは一切ない。

C. 研究結果

平成21年2月28日の段階で、非神経因性過活動膀胱には3症例が組み入れられ、神経因性排尿筋過活動には6症例が組み入れられた。これらの症例の中間解析を実施した。症例数も少なく、経過観察期間も短いので、今後の症例の集積、経過観察が必要である。

1) 非神経因性過活動膀胱に対するA型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法

登録された3例はすべて男性で、年齢は65-76(71.6±5.7)歳、術前の尿路感染症はなく、尿流動体検査では排尿筋の不随意収縮(49±13cmH₂O)を認め、最大膀胱容量は24-170(121±84)ml、最大尿流時排尿筋圧は23-42cmH₂Oであった。合併症はほとんど認められず、経過観察期間は1-6(1, 3, 6)ヶ月であった。術後1ヶ月目の初発尿意時膀胱容量の増加、不随意収縮消失、最大膀胱容量増加、最大尿流時排尿筋圧(Pdet/Qmax)が認められた(図1a-d)。

尿流測定の前最大排尿率と残尿量変化を図2, 3に示す。1ヶ月目には排尿の勢いが低下し残尿が増加したが、3ヶ月目にはもとに復した。

自覚症状の変化は、国際尿失禁会議質問票ショートフォーム(ICIQ-SF)、過活動膀胱質問票(OABSS)、国際前立腺症状スコア(I-PSS)、QOLスコアを使って評価した。ICIQ-SF(総合点)を図4に示す。術前10-12点が術後1ヶ月目には1-4点になった。尿失禁の頻度(図4a)では1日に1回以上が

術後1週間に1回以下になった。失禁量(図4b)については、術後は、なし-少量となった。ICIQ-SF困窮度は術前4-5点が1-3点になった(図4c)。

OABSS総合点は、術前8-10点が術後1ヶ月では1-6点になり、その後6-7点で推移した(図5)。OABSSの昼間排尿回数では、2例で8-14回が7回以下に減少した(図5a)。夜間排尿回数では、一定の傾向を認めなかった(図5b)5尿意切迫感の頻度はさほど減らないようであったが、切迫性尿失禁の頻度は、術前1日に1回以上が術後1ヶ月目にはなしとなり、その後も1週に1回程度になった(図5c, 5d)。

I-PSS総合点は術後も同程度に推移したが(図5)、蓄尿症状で若干低下(図6a)、排尿症状は同程度が悪化が示された(図6b)。QOLスコアでは、1例を除き、1ヶ月目以後低下した(図7)。患者の満足度では、治療1ヶ月目では極めて高い満足度を示した(図8)。

排尿記録(FVC: Frequency Volume Chart)における昼間排尿回数は減少傾向にあり(図9)、夜間の排尿回数には一定の傾向は見られなかった(図10)。昼間・夜間の1回排尿量は若干増加した(図11, 12)。また、昼間・夜間の強い尿意回数は減少し(図13, 14)、尿失禁回数も減少した(図15)。

2) 神経因性排尿筋過活動に対するA型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法

登録された症例はすべて男性で、年齢は33-66(43.5±15.0)歳、経過観察期間は1-7ヶ月であった。術前の尿路感染症はなかった。尿流動体検査では全例に排尿筋不随意収縮(37-119cmH₂O)を認め、最大膀胱容量は23-500ml、最大膀胱容量時膀胱内圧は6-80cmH₂Oであった。治療の合併症はほとんど認められず、術後1ヶ月目に尿流動体検査が行われた5例中3例で不随意収縮が消失し、

2例で不随意収縮は残ったものの119→44 cmH₂O、50→25 cmH₂Oへ低下し、最大膀胱容量は2倍以上に増加した。(図16a,b)。

自覚症状の変化は、国際尿失禁会議質問票ショートフォーム(ICIQ-SF)を使って評価した。ICIQ-SF(総合点)を図17に示す。術前10-21点が術後1ヶ月目には2-18点になり、その後は増加する傾向があるが、効果が継続する症例もあるようである。尿失禁の頻度、困窮度の推移を図17a,b,cに示す。1ヶ月

目に減少したが、その後についてはさらなる経過観察が必要である。患者の満足度では、治療1ヶ月目以降も高い満足度を示すようである(図18)。

排尿記録(FVC)における導尿回数は変わらないか減少(図19)、最大1回導尿量は1ヶ月目に増加、その後減少の傾向(図20)、尿失禁回数は1ヶ月目には劇的に減少した(図21)。

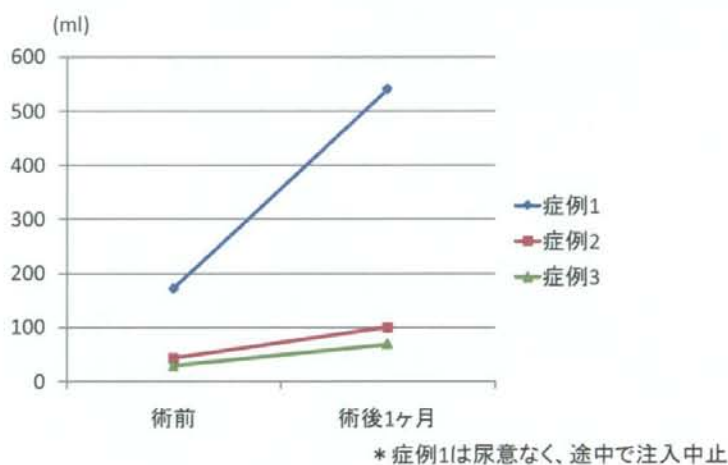


図1a. 初発尿意時膀胱容量

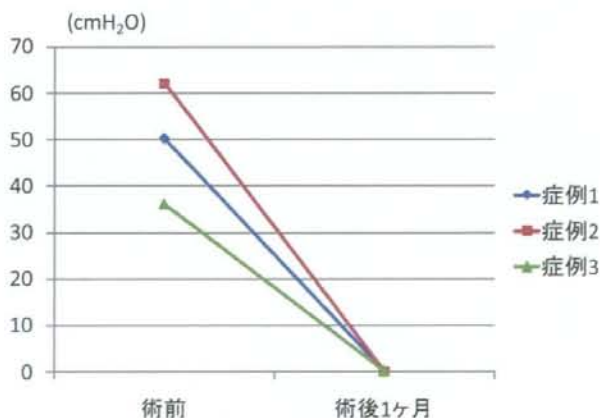


図1b. 不随意収縮圧

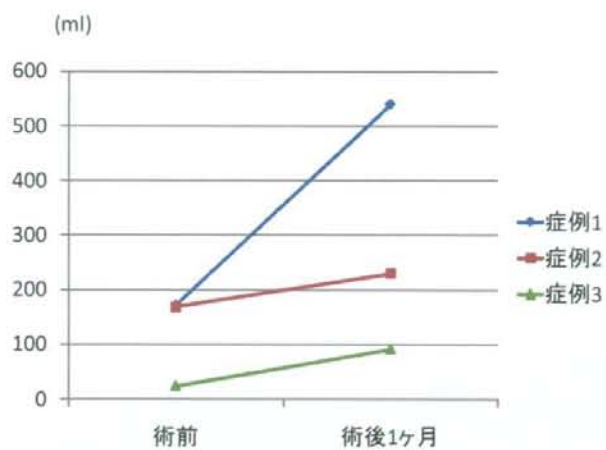


図 1c. 最大膀胱容量(ml)

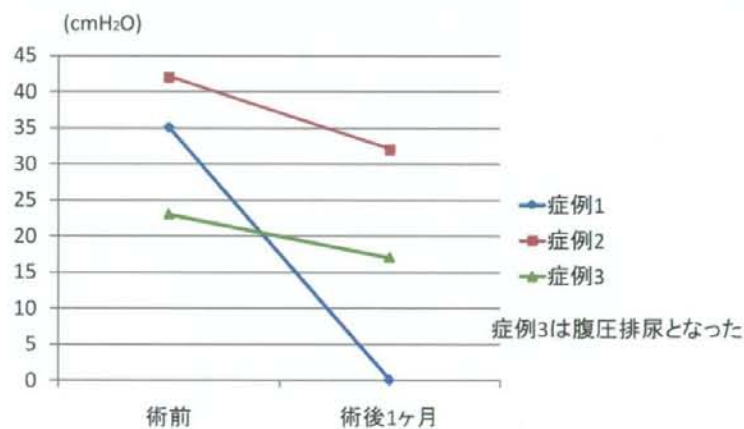


図 1d. PdetQmax

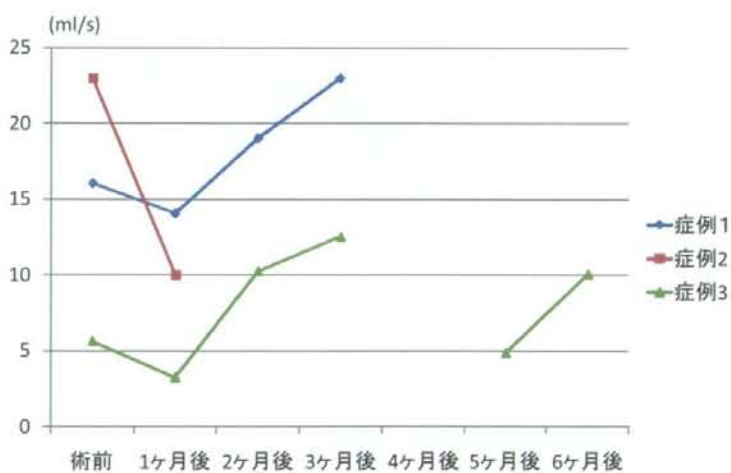


図 2. 最大尿流率

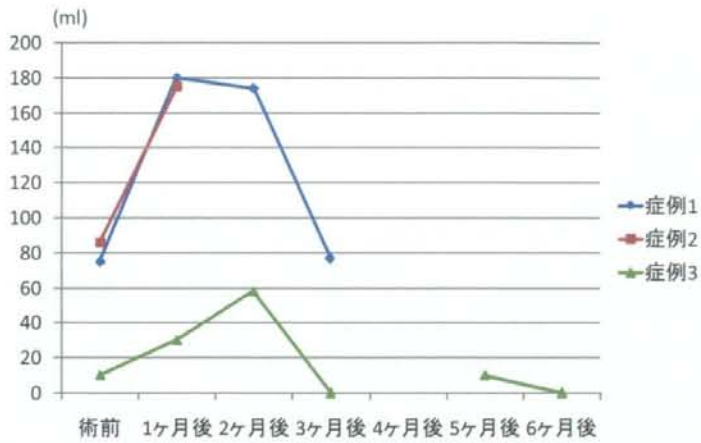


図 3. 残尿

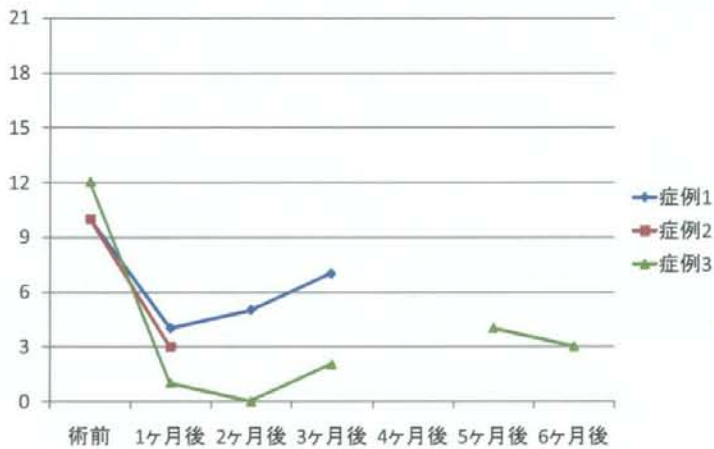


図 4. ICIQ-SF (総合点)

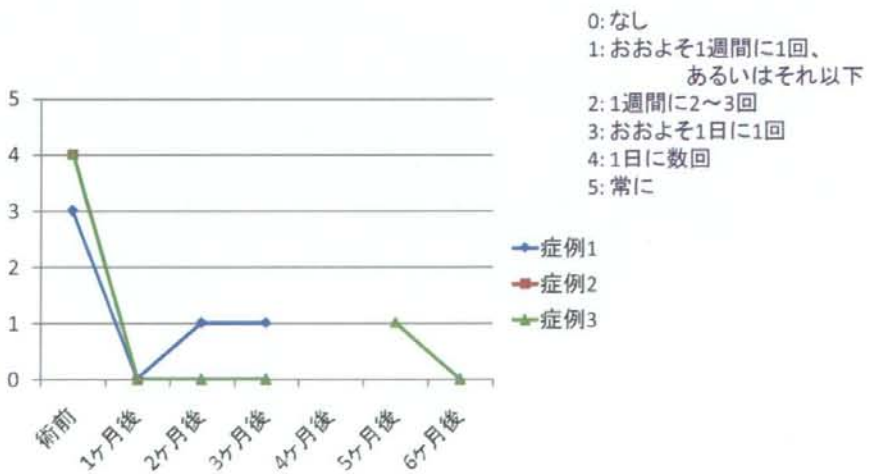


図 4a. ICIQSF (頻度)

- 0: なし
- 1: おおよそ1週間に1回、
あるいはそれ以下
- 2: 1週間に2~3回
- 3: おおよそ1日に1回
- 4: 1日に数回
- 5: 常に

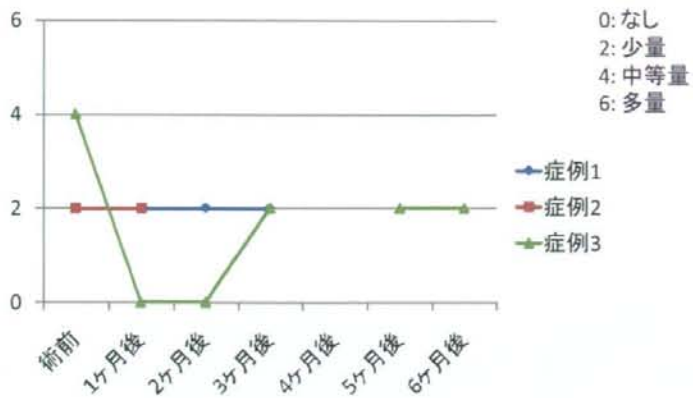


図 4b. ICIQSF (量)

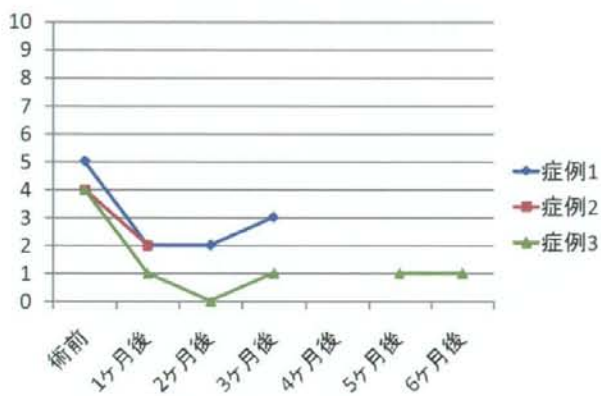


図 4c. ICIQSF (困窮度: 0-10)

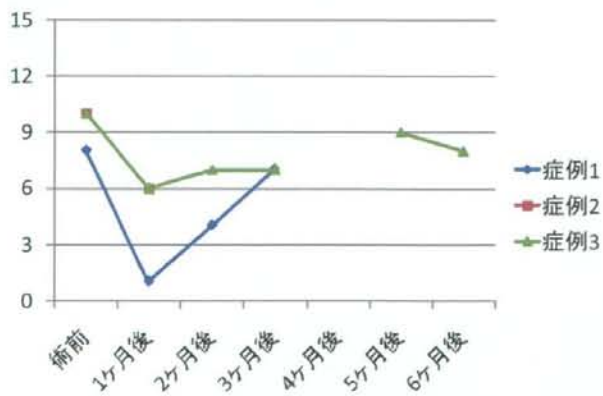


図 5. OABSS (総合点: 0-15)

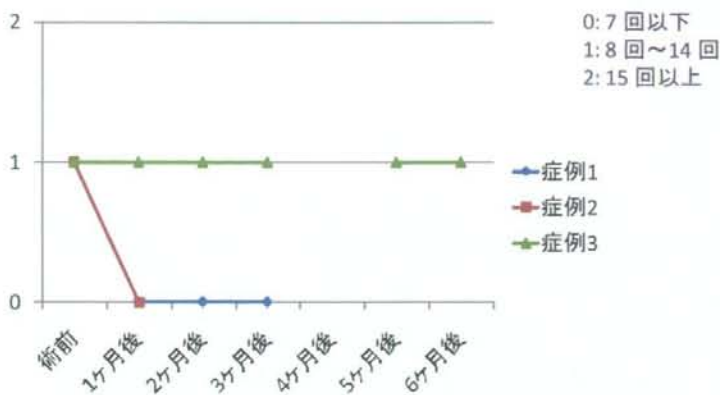


図 5a. OABSS (昼間排尿回数)

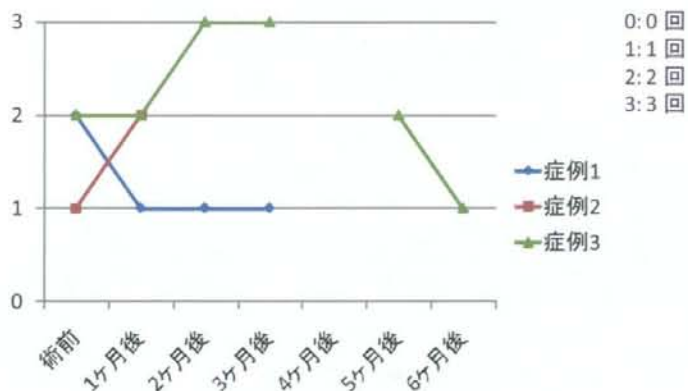


図 5b. OABSS (夜間排尿回数)

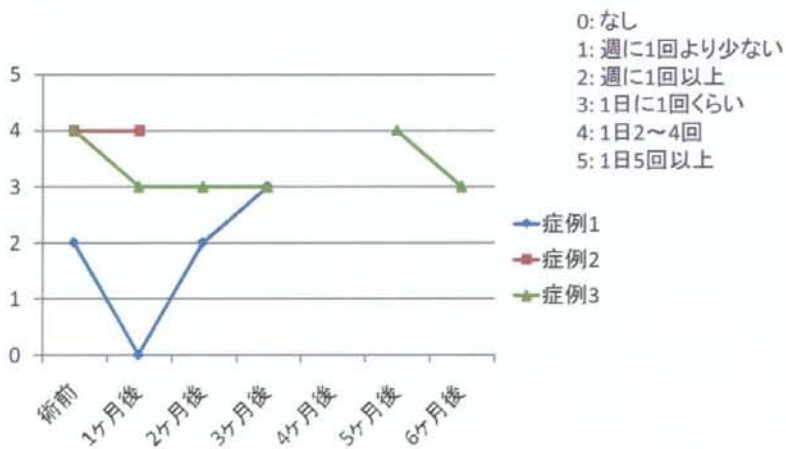


図 5c. OABSS (尿意切迫感)

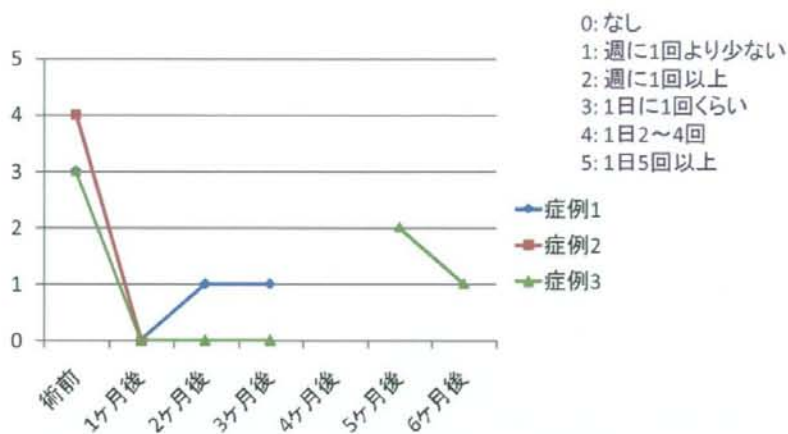


図 5d. OABSS (切迫性尿失禁)

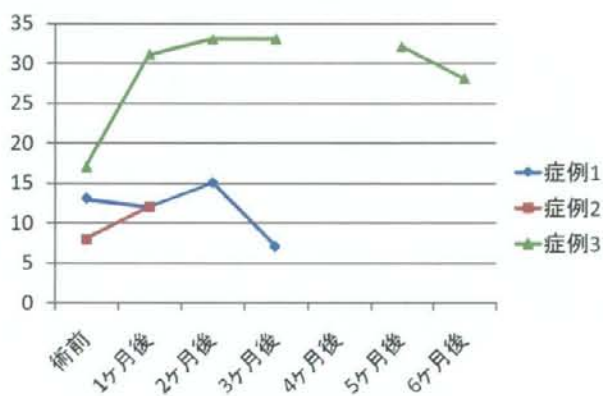


図 6. IPSS (総合点: 0~35)

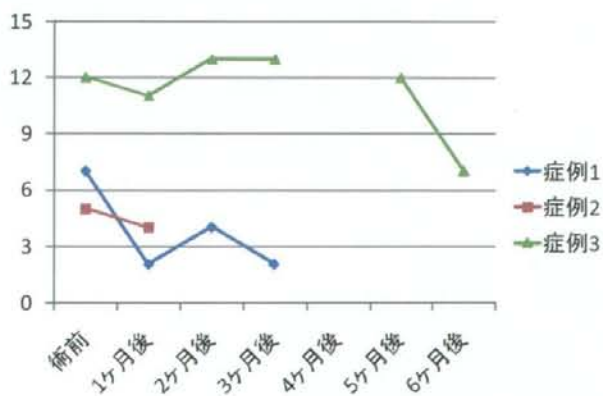


図 6a. IPSS (蓄尿症状: 0~15)

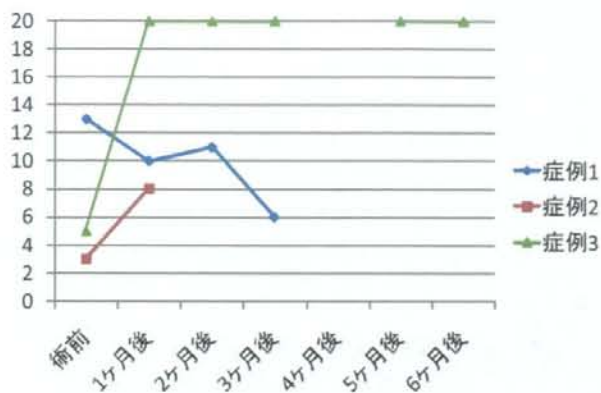


図 6b. IPSS (排尿症状: 0-20)

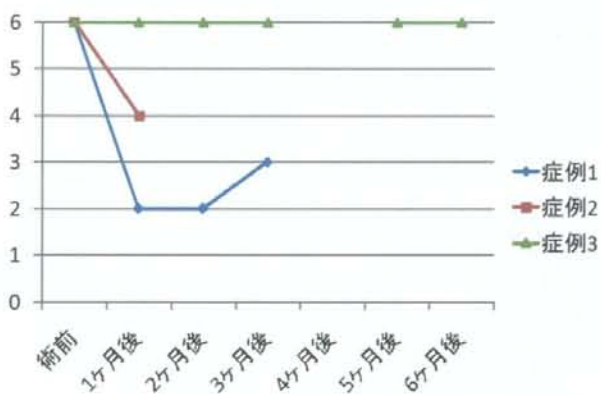


図 7. QoL スコア: 0-6

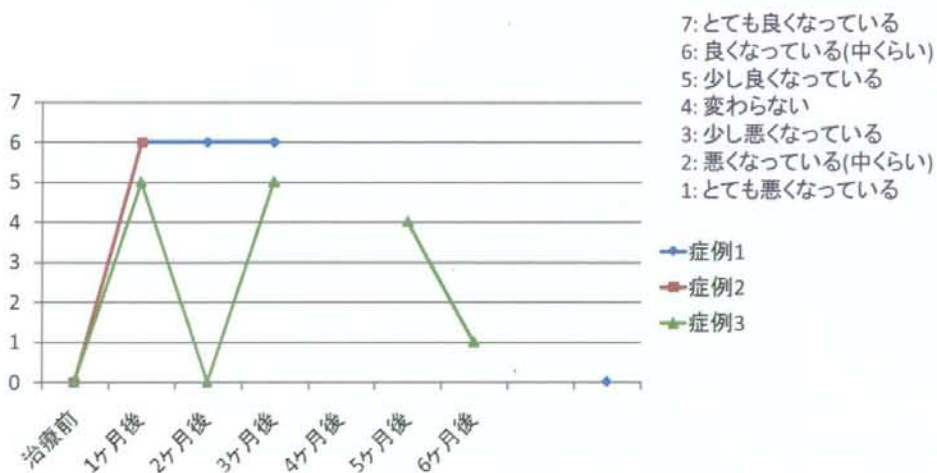


図 8. 満足度

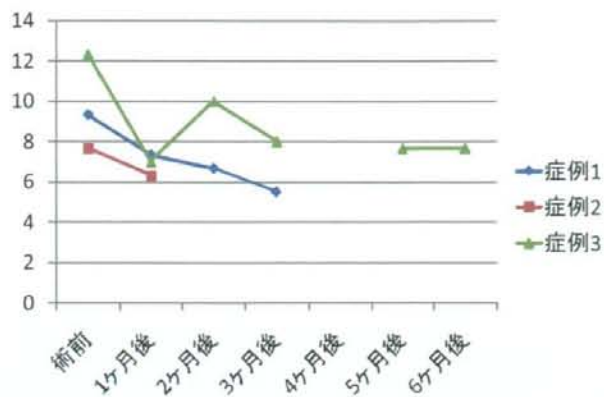


図9. FVC 昼間平均排尿回数

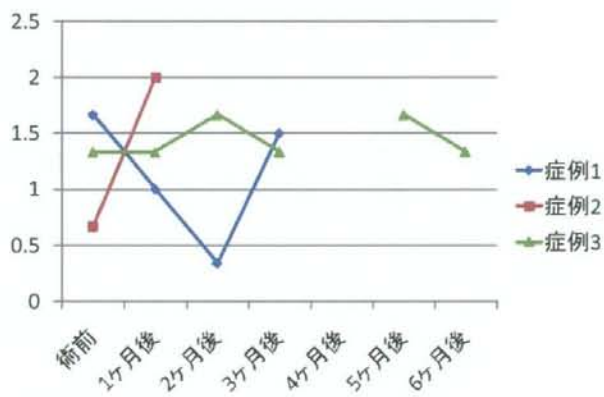


図10. FVC 夜間平均排尿回数

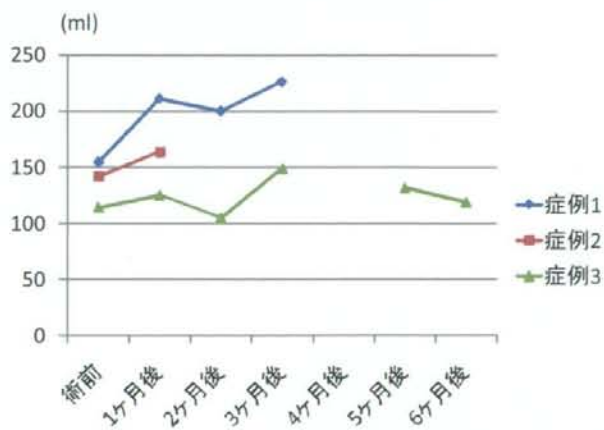


図11. FVC 昼間平均1回排尿量