

2009-2100/A

平成 21 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 21 年度

総括・分担研究報告書

平成 22(2010)年 3 月

研究代表者 岡村 菊夫

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 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 型ボツリヌストキシン膀胱壁内注入療法の多施設臨床試験 岡村 菊夫.....	9
2. 腹圧性尿失禁に対する非培養自己皮下脂肪由来間葉系前駆細胞（adipose-derived regeneration cell: ADRC）の傍尿道注入治療の有効性と安全性に関する研究 後藤 百万.....	16
3. 高齢者腹圧性尿失禁に対する新規治療法の開発： 脂肪由来幹細胞の平滑筋への分化と安全性の検討 山本 徳則.....	22
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.....	27
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.....	30
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.....	33
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.....	38
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.....	42
III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	49
研究成果の刊行物・別刷	

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

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行い、中間解析の現時点では尿失禁の改善効果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、ヒト細胞由来の不死化細胞株を樹立し、培養の安全性を高めるための方法を確立し、品質確保のためのマーカー選定、安全性に関する検定系を確立した。自己脂肪組織由来幹細胞を用いた再生治療の研究では、細胞分離装置（Cytori Therapeutics, Inc.）を用い臨床応用を果たした。5 例に試み、1 例が著効、3 例が有効であった。今後、「幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に則ったトランスレーショナルリサーチに取り組んでいく所存である。

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（Poly-pharmacy 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かな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）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ると考えられた。

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

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。

多施設（14 施設）共同研究プロトコールは平成 20 年 1 月 16 日付で当院の倫理委員会で

承認された後、「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」が報道されたり、本省から研究費から入院治療にかかる費用を賄うよう指導があり、プロトコールの変更を余儀なくされた。調査の結果、死亡の原因は神経疾患を有する患者での誤嚥あるいは誤嚥性肺炎であり、A 型ボツリヌス毒素との因果関係が明らかでないことがわかった。この研究では、嚥下困難のある症例は除外することとした。また、平成 20 年 1 月下旬に海外の研究者（ピッツバーグ大学 Michel Chancellor 教授）からの神経因性排尿筋過活動に対しては投与量を 200 単位に減量した方がよいとのアドバイスがあり、投与量を 300 単位から 200 単位に減量することとした。また、平成 20 年 3 月 25 日付けで倫理委員会へ再審査依頼をしたが、9 月 24 日まで倫理委員会が開催されず、承認を受けたのは 10 月に入ってからになってしまい、研究進行がおくれてしまう原因にもなった。

研究参加施設の中には当院より先に倫理委員会の再承認を得られた施設もあり、実際の登録は平成 20 年 7 月から始まった。しかし、ボツリヌス毒素の副作用として、「極めてまれだが死亡がある」との説明を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、2 度に渡って、研究参加施設（18 施設）を拡充した。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。

注入方法は、脊髄麻酔、仙骨ブロック下に患者を砕石位として、尿道から膀胱鏡を入れ、三角部をさけて粘膜下層に注入する。非神経因性過活動膀胱症例では Botox100 単位を、神経因性排尿筋過活動症例では Botox200 単位を生理食塩水 15ml で溶解して 30 箇所注入する。

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て、分離・培養行程に関する安全性の見直しを行い、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たまま単離する方法）の確立を目指し、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泌尿器科で何らかの開腹手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、規定にしたがって実施した。

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、これまでの基礎実験データを根拠に、Cytori 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、臨床応用を行った。丸山はラット膀胱頸部に移植・生着した脂肪組織由来間葉系細胞の経時的容積を観察し、松尾は動物実験系において脂肪組織由来間葉系細胞が平滑筋に分化しているか否かを組織学的に検討した。

（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。自己脂肪組織由来幹細胞を利用した腹圧性尿失禁治療の研究は名古屋大学倫理委員会承認を得ている。

C. 研究結果

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

この分担研究は岡村が担当した。平成 22 年 2 月 22 日の段階で、非神経因性過活動膀胱には 18 症例が神経因性排尿筋過活動には 18 症例が登録された。この報告書では、前者 5 例、後者 9 例の中間解析を報告する。

A) 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

5 例はすべて男性で、年齢は 66～77 (71.5 ± 4.1) 歳、術前の尿路感染症はなく、尿流動態検査では全例で排尿筋の不随意収縮 (70 ± 29 cmH₂O) を認め、最大膀胱容量は 24～250 (161 ± 83) ml、最大尿流時排尿筋圧は 23～132 (64 ± 63) cmH₂O であった。合併症では中等度の排尿困難が見られた。術後 1 ヶ月目の最大膀胱容量の増加、不随意収縮消失、最大尿流時排尿筋圧の低下が認められた。1 ヶ月目には排尿の勢いが低下し残尿が増加したが、2 ヶ月目にはもとに戻るように思われた。毎月の 3 日間の排尿記録では、尿意切迫感、切迫性尿失禁回数の著明な低下が 6～8 ヶ月間認められた。国際尿失禁会議質問票ショートフォーム (ICIQ-SF) における困窮度では、およそ 6 ヶ月間困窮度は低下するよう思われた。

B) 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

9 症例の年齢は 22～66 (42 ± 16) 歳、男性 7 例、女性 2 例であった。麻痺のレベルは、頸髄損傷 3 例、胸髄損傷 5 例、腰髄損傷 1 例である。麻痺の程度は完全麻痺 (ASIA:A) 7 例、不全麻痺 (ASIA:B) 2 例であり、受傷後期間は 3 年 4 ヶ月～27 年 1 ヶ月 (中央値 6 年 11 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 (84 ± 47 cmH₂O) を認め、

最大膀胱容量は 126 ± 137 ml 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8例中4例で不随意収縮が消失し、4例で不随意収縮は残ったものの 28.0 ± 11.4 cmH₂O へ低下し、最大膀胱容量は2倍以上に増加した。導尿・尿失禁記録 (FVC) における尿失禁回数は、1ヶ月後、平均 $4.9 \pm 6.2 \rightarrow 1.1 \pm 2.2$ 回に、1日導尿回数も平均 $10.0 \pm 5.1 \rightarrow 7.9 \pm 4.4$ 回に劇的に減少し、1回導尿量は平均 $97.7 \pm 44.7 \rightarrow 184.0 \pm 78.3$ ml/回に劇的に増加した。脊髄損傷患者では間欠導尿は避けることができないので、導尿回数が減少し、一回量が増加するのは望ましいことである。国際尿失禁会議質問票シヨートフォーム (ICIQ-SF) の困窮度は $7.1 \pm 2.6 \rightarrow 1.1 \pm 2.3$ に劇的に低下した。

② 腹圧性尿失禁に対する自己骨格筋幹細胞を用いた再生治療

平成21年3月から平成21年12月に、60歳から86歳の男性7名、女性1名から、開腹手術時に開腹部位の腹直筋あるいは錐体筋を約1g摘出し、摘出後2時間以内に凍結保存あるいは実験に供した。

分担研究者の橋本は、初代培養細胞を用いた解析で問題となる個体差および細胞老化の影響を排除するため、単一細胞に由来する初代培養筋細胞クローン Hu5 (分担研究報告書参照) に、レンチおよびレトロウイルスベクターを用いて、ヒト telomerase 遺伝子、変異型ヒト CDK4 遺伝子 (CDK4R24C)、およびヒト Cyclin D1 遺伝子を導入し発現させ、ヒト筋細胞クローン KD3 を独自に樹立した。また、再生医療のための細胞培養に添加する試薬を減らすべく検討を行い、ウシ胎児血清の低減は難しいものの、グルココルチコイドによって部分的に増殖が回復する傾向が示された。

分担研究者の上住は、移植用筋細胞の増

殖・分化能力を、迅速かつ正確に評価するための品質管理マーカーとして、細胞接着分子 CD56 (NCAM) と骨・肝臓・腎臓型アルカリフォスファターゼ (BLK-ALP) の有用性を示してきた。今年度は、高齢者の筋組織中での CD56 と BLK-ALP の発現を調べ、骨格筋幹細胞の増殖・分化能を反映するマーカーとして有用であることを示した。

前年度までに移植用筋細胞の移植による安全性検定系として、免疫不全マウス骨格筋への移植実験系を確立したが、この実験系では移植されたヒト筋細胞を識別するために、移植前にウイルスベクターを用いてマーカー遺伝子を発現させる必要があった。この実験操作によって培養期間は長くなるため、細胞老化の危険性が高まるうえ、遺伝子組換えウイルスの感染およびマーカー遺伝子の発現による細胞機能の低下も懸念される。そこで、分担研究者の宋は、今年度は、橋本が樹立した不死化ヒト筋前駆細胞を免疫不全マウスに移植し、顕微鏡下に同定された再生筋線維を laser capture microdissection によって切り出し、そこから抽出した RNA を定量的 PCR にかけて細胞増殖にかかわる遺伝子発現を検討した。Ki67-mRNA の発現は、細胞増殖能をもつマウス筋芽細胞 Ric10 の 4.6% であり、対照となる周囲の正常マウス筋組織とは大差ないことがわかった。こうした遺伝子発現の面からも、移植したヒト筋前駆細胞が著しい増殖能を持ち、腫瘍化している危険性は否定的であると判断された。

③ 腹圧性尿失禁に対する自己脂肪組織由来幹細胞を用いた再生医療

臨床への応用として、分担研究者の後藤、山本が前立腺全摘除術後1年以上経過した70歳以上の難治性腹圧性尿失禁5症例に、吸引自己脂肪から分離した細胞群を内視鏡下に傍尿道周囲に注入する新規治療を施行した。名

古屋大学医学部附属病院手術室にて、細胞分離装置 (Cytori Therapeutics, Inc.) を用いて、腹部脂肪層から脂肪組織を吸引して、脂肪由来幹細胞を含む細胞成分を分離した。5 症例のうち、1 例が著効、3 例が有効、1 例が悪化であった。特に、症例 1 は尿失禁の程度は経過とともに軽快し、術後 16 週間にはパットテストは 0ml と著効を示した。5 症例のうち 1 例で、幹細胞注入後が一過性の尿閉があり導尿を 2 回行うこととなったが、その後自排尿可能となった。

山本は上記治療を施した 5 例の細胞分離成分のテストを行った。エンドトキシン、マイコプラズマニューモニエ DNA (PCR)、培養好気性菌、培養真菌、培養マイコプラズマはすべて陰性であった。FACS による分離直後の細胞表面マーカーの検索では、間葉系幹細胞マーカー、CD29 および CD44 が陽性であることが示された。1 次培養された細胞は Fibroblastic な形態を示し、4 日目には 70-80% confluent となっていた。脂肪への分化を誘導すると 7 日目には脂肪滴の形成が確認された。Oil-Red による染色により脂肪への分化を確認した。また、平滑筋分化誘導 2 週間では、 α -smooth muscle と細胞の核が全視野の細胞に染色され、平滑筋への分化誘導も確認した。今回、治療に用いた細胞分離装置により採取された脂肪由来幹細胞/間質細胞の viability は 90% 前後 (n=4) であり、対象が高齢者であっても「活きのいい」細胞が得られることがわかった。

丸山と松尾らの研究によると、動物実験において移植した脂肪由来幹細胞群が真に増大し、平滑筋に分化するか否か検討し、増大した移植細胞により尿道閉鎖圧が上昇することが示された。移植された細胞の多くは α -SMA 染色陽性であり、平滑筋細胞に分化していることが示唆された。

D. 考察

尿失禁は、認知症、転倒・骨折、骨粗鬆症などとともに高齢者の QOL を著しく損なう問題であり、介護者にとっても、肉体的・費用的負担がたいへんに大きい問題である。新たな尿失禁の治療法が開発されれば、高齢者・介護者の QOL も向上し、健康長寿社会の確立に大いに貢献できるものと考えられる。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の間中検討ではたいへん有望であると思われた。自己脂肪組織由来幹細胞を用いた腹圧性尿失禁治療の臨床試験では、尿失禁の減少、局所での血流増加を認め、1 例では尿失禁消失、3 例で失禁量が半減するなどの効果が得られ、今後期待できる治療になるものと思われた。尿失禁も次第に軽快していく経過も捉えられ、尿道括約筋機能が再生されていることが推測される。しかし、このことは松尾が指摘したように、検証が必要である。骨格筋幹細胞を用いた腹圧性尿失禁に対する移植治療では、高齢者骨格筋組織から高い増殖・分化能を保持した筋細胞を、必要量 (10^7 細胞) 調製するための分離培養方法を確立し、有効な細胞の品質および安全性評価も確立することができた。しかし、臨床応用を実現するためには、前臨床研究で用いた全ての試薬・器具、作業環境および作業工程を、GMP 基準に適合したレベルのものに置き換えねばならない(「橋渡し研究」に相当する)。現在、国立長寿医療センターでは、GMP 基準に適合した施設の設置準備が進められている。当該施設完成と同時に臨床研究に移行できるよう、本研究を「橋渡し研究」に発展させるとともに、安全性を担保するための研究評価組織の構築および施設運用規則の整備など、ソフト面とハード面の両面から、再生医療実現のための体制作りを進める予定である。

E. 結論

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では前者に 18 例、後者にも 18 例が登録された。中間解析では、いずれに対しても注入に伴う合併症はほとんど認めず、尿失禁の改善は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) 初代培養細胞を用いた解析で問題となる個体差および細胞老化の影響を排除するため、不死化ヒト細胞株を樹立した、2) CD56 と BLK-ALP は骨格筋幹細胞の増殖・分化能を反映するマーカーとして有用であることを示した、3) ヒト筋前駆細胞移植によってできる再生筋線維が癌化する危険性は低いことを示した。自己脂肪組織由来幹細胞を用いた再生治療の研究では、1) 吸引自己脂肪から分離した細胞群を内視鏡下に傍尿道周囲に注入する新規治療を 5 例に施行し、1 例が著効、3 例が有効であった、2) 吸引自己脂肪から分離した細胞群の FACS による分離直後の細胞表面マーカーの検索では、間葉系幹細胞マーカー、CD29 および CD44 が陽性であり、3) 1 次培養された細胞は Fibroblastic な形態を示し、4 日目には 70-80% confluent となり、4) 脂肪への分化を誘導すると 7 日目には脂肪滴の形成が確認され、5) Oil-Red による染色により脂肪への分化が確認され、6) 平滑筋への分化を誘導すると、2 週間目で α -smooth muscle と細胞の核が全視野の細胞に染色され、平滑筋への分化が確認された。7) しかし、動物実験系では平滑筋に分化したか否かはさらなる検討が必要であることがわかった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 野尻佳克, 岡村菊夫. A 型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法の標準的方法と有効性は? EBM 泌尿器科疾患の治療. 342-347, 2009.
- 2) Yamamoto T, Gotoh M, Hattori R, Toriyama K, Kamei Y, Iwaguro H, Matsukawa Y, Funahashi Y: Periurethral injection of autologous adipose-derived stem cells for the treatment of stress urinary incontinence in patients undergoing radical prostatectomy: Report of two initial cases. *Int J Urol*, 17:75-82, 2010
- 3) Imamura T, Ishizuka O, Yamamoto T, Gotoh M, Nishizawa O. Bone Marrow-Derived Cells Implanted into Freeze-injured Urinary Bladders Reconstruct Functional Smooth Muscle Layers LUTUS 2010 in press
- 4) Funahashi Y, Hattori R, Yamamoto T, Kamihira O, Moriya Y, Gotoh M. Change in contralateral renal parenchymal volume 1 week after unilateral nephrectomy. *Urology*. 2009 Sep;74(3):708-12.
- 5) Imamura T, Yamamoto T, Ishizuka O, Gotoh M, Nishizawa O: The Microenvironment of Freeze-injured Mouse Urinary Bladders Enables Successful Tissue Engineering *Tissue Eng Part A*. 2009 Nov;15(11):3367-75.
- 6) Funahashi Y, Hattori R, Yamamoto T, Mizutani K, Yoshino Y, Matsukawa Y, Sassa N, Okumura K, Gotoh M. Ewing's

- sarcoma / primitive neuroectodermal tumor of the kidney. *Aktuelle Urol.* 2009 Aug;40(4):247-9. Epub 2009 Mar 17.
- 7) Sassa N, Hattori R, Yamamoto T, Katoh M, Komastu T, Matstukawa T, Funahashi Y. Direct visualization of renal hemodynamics affected by carbon-dioxide induced pneumoperitoneum *Urology.* 73: 311-5, 2009.
- 8) Mukai, A., Kurisaki, T., Sato, A. B., Kobayashi, T., Kondoh, G. and Hashimoto N.: Dynamic clustering and dispersion of lipid rafts contribute to fusion competence of myogenic cells. *Exp.Cell Res.* 315: 3052-3063, 2009.
2. 学会発表
- 1) 仙石 淳, 小川隆敏, 波間孝重, 木元康介, 朝倉博孝, 百瀬 均, 森田 肇, 細木 茂, 岡村菊夫. 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が多施設臨床試験. 第16回排尿機能学会. 2009年9月11日.福岡.
- 2) 岡村菊夫, 本間之夫, 後藤百万, 武井実根雄, 飴田 要, 長井辰哉, 小松和人, 上田朋宏, 夏目 修, 寺井章人. 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が多施設臨床試験. 第16回排尿機能学会. 2009年9月11日.福岡.
- 3) 岡村菊夫, 野尻佳克, 石田陽子. A型ボツリヌストキシン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. 2009年3月8日.名古屋
- 4) Yamamoto T, Toriyama I, Wagauro H, Funahashi Y, Hattori R, Gotoh M. First Patient Treated in Adipose Stem & Regenerative Cell Study for Stress Urinary Incontinence Workshop IFAT2009
- 5) 山本徳則, 後藤百万. 自己皮下脂肪からの脂肪由来幹細胞を用いた前立腺全摘後難治性尿失禁の治療経験. 第一回臨床再生キックオフミーティング講演会. 獨協医科大学. 2010
- 6) 山本徳則, 鳥山和宏, 亀井 讓, 丸山彰一, 岩畔英樹, 岩崎 豊, 舟橋康人, 服部良平, 後藤百万. 難治性泌尿器科臨床疾患を対象とした臓器機能回復を目的とした自己脂肪組織由来幹細胞/間質細胞移植治療経験: (吸引皮下脂肪組織から細胞分離装置を用いた臨床的検討). 間葉系幹細胞治療ワークショップ. 再生医療学会. 2010
- 7) 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
- 8) 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
- 9) 向 敦史, 栗崎知浩, 橋本有弘. 骨格筋細胞融合における脂質ラフトの役割. 第42回日本発生生物学会, 新潟, 2009年5月28-31日
- 10) Michiko Yanagisawa and Naohiro Hashimoto: Fibrodysplasia Ossificans Progressiva as a Candidate for Muscle Stem Cell Disease: A Synergistic Induction of Osteogenesis by Inflammatory Cytokine and mutated ALK2. 第32回日本分子生物学会年会, 横浜, 2009年12月9-12日

- 11) Atsushi Mukai and Naohiro Hashimoto: Dynamic clustering and dispersion of lipid rafts contribute to fusion competence of myogenic cells. 第32回日本分子生物学会年会、横浜、2009年12月9-12日
- 12) 塩見浩介、上住 円、清野 透、岡村菊夫、橋本有弘：CDK4/Cyclin D1/hTERTによって不死化されたヒト筋前駆細胞の増殖・分化特性 第32回日本分子生物学会年会、横浜、2009年12月9-12日
- 13) Nobuyoshi Shimoda, Toshiaki Izawa, Yutaka Kikuchi and Naohiro Hashimoto: Zebrafish age with localized hypomethylation and extensive fragmentation of the genome. 第32回日本分子生物学会年会、横浜、2009年12月9-12日
- 14) Michiko Yanagisawa and Naohiro Hashimoto: Fibrodysplasia Ossificans Progressiva as a Candidate for Muscle Stem Cell Disease: A Synergistic Induction of Osteogenesis by Inflammatory Cytokine and mutated ALK2. The Society for Muscle Biology and FASEB Conference "Making Muscle in the Embryo and Adult", New York, USA, May 27-June 2, 2009.
- 15) Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Tsuchida K, Fukada S, Hashimoto N.: Age-related changes in prospectively isolated muscle satellite cells 第7回幹細胞シンポジウム 2009, 5/15 - 5/16、東京
- 16) Madoka Ikemoto-Uezumi, Akiyoshi Uezumi, Kunihiro Tsuchida, So-ichiro Fukada, Naohiro Hashimoto: Age-related Changes in Prospectively Isolated Muscle Satellite Cells Making Muscle in the Embryo and the Adult (A joint meeting of

Frontier in Myogenesis and Skeletal Muscle Stem and Satellite Cells) 2009, 5/28 - 6/2, New York, NY, U.S.A

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

- 1) 脂肪組織由来間葉系幹細胞を含有する、前立腺癌治療用細胞製剤
山本徳則、小出直史、後藤百万、武井佳史
特許願人：名古屋大学
出願日：平成21年12月7日（特願2009-277437）
 - 2) 脂肪組織由来間葉系幹細胞を含有する、勃起不全または尿意障害の細胞製剤
山本徳則、後藤百万
特許願人：名古屋大学
出願日：平成21年10月6日（特願2009-232068）
 - 3) 脂肪組織由来多分化能幹細胞を含有する細胞製剤
尾崎武徳、安田香、丸山彰一、山本徳則、後藤百万、松尾清一、北川泰雄
特許願人：名古屋大学
出願日：平成18年8月9日（特願2006-216234）
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排尿筋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の有効性、安全性について検討した。現在、前者に 18 例、後者にも 18 例が登録されているが、ここではこれまでに解析された中間結果を報告する。前者の 5 例では、治療前、全例で排尿筋の不随意収縮を認めた。術後 1 ヶ月目には最大膀胱容量の増加、不随意収縮消失、最大尿流時の排尿筋圧低下が認められた。治療後 1 ヶ月目には、排尿の勢いが低下し残尿が増加したが、2 ヶ月目にはほぼもとに復した。排尿記録上、治療後 6-8 ヶ月間、尿意切迫感の著明な低下と切迫性尿失禁回数の著明な減少が認められた。国際尿失禁会議質問票ショートフォーム（ICIQ-SF）では、およそ 6 ヶ月間困窮度は減少するようであった。後者の中間解析は、男性 7 例、女性 2 例で行った。尿流動態検査では、治療前、全例に排尿筋不随意収縮を認め、術後 1 ヶ月目に尿流動態検査では 4 例で不随意収縮が消失し、4 例で低下した（1 例は不明）。最大膀胱容量は 2 倍以上に増加した。導尿・尿失禁記録における尿失禁回数は、1 ヶ月後劇的に減少、1 日導尿回数も劇的に減少し、1 回導尿量も劇的に増加した。ICIQ-SF の困窮度の平均点も劇的に減少した。A 型ボツリヌストキシン膀胱壁内注入療法は難治性非神経因性過活動膀胱と排尿筋過活動膀胱に対する有望な治療法になりうると思われた。

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。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）されており、臨床の場において痙攣、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 2,000～3,000 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費補助金（長寿総合研究事業）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

研究代表者の呼びかけに応じて、本間之夫（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）が当初より研究に参加した。平成 19 年度に作成した多施設共同研究プロトコルは平成

20 年 1 月 16 日付で当院の倫理委員会で承認されたが、平成 20 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・説明文書を改訂せざるを得なくなった。死亡の原因は神経疾患を有する患者での誤嚥、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、当初のプロトコルでは入院費は保険診療とすることとしていたが、本省から研究費から入院治療にかかる費用を賄うよう指導があり、治療に関する費用は研究費から支出することを明記した。ちょうどその頃、海外の研究者（ピッツバーグ大学 Michel Chancellor 教授）からの神経因性排尿筋過活動に対しては投与量を 200 単位に減量した方がよいとのアドバイスがあり、投与量を 300 単位から 200 単位に減量することとした。平成 20 年 3 月 25 日付けで倫理委員会へ再審査依頼をしたが、9 月 24 日まで倫理委員会が開催されず、承認を受けたのは 10 月に入ってからであった。

研究参加施設の中には当院より先に倫理委員会の承認を得られた施設もあり、実際の登録は平成 20 年 7 月から始まった。しかし、ボツリヌス毒素の副作用として、「極めてまれだが死亡の報告がある」との説明を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 月に全国の労災病院に研究参加を呼びかけ、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）が加わった。さらに、平成 21 年 4 月に全国の日本泌尿器科教育病院に研究参加を呼びかけたところ、横山光彦（川崎医科大学附属病院）、高本 均（倉敷成人病センター）、松尾重樹（市立秋田総合病院）、大橋

洋三（社会保険栗林病院）、岩崎一洋（岩手医科大学医学部附属病院）、山西友典（獨協医科大学）、鈴木理仁（柏市立柏病院）、佐々木ひと美（藤田保健衛生大学病院）、秋野裕信（福井大学医学部附属病院）、雄谷剛士（松坂中央総合病院）、杉元幹史（香川大学医学部附属病院）、長田浩彦（慶應義塾大学）、前田佳子（東京女子医科大学附属青山病院）、井上克己（昭和大学横浜市北部病院）が加わるようになった。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。

注入方法は、脊髄麻酔、仙骨ブロック下に患者を砕石位として、尿道から膀胱鏡を入れ、三角部をさけて粘膜下層に注入する。非神経因性過活動膀胱症例では Botox100 単位を、神経因性排尿筋過活動症例では Botox200 単位を生理食塩水 15ml で溶解して 30 箇所注入する（図 1, 2）。

（倫理面への配慮）

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。

- 脊髄麻酔、仙骨ブロックなど
- 逆行性膀胱鏡
- William針を用いて、三角部を含まない30箇所の粘膜下に注射
- カテーテルは翌日抜去
- 2泊3日以内の入院
- 入院治療費は研究費から支払い



図 1. ボトックス膀胱壁内注入方法

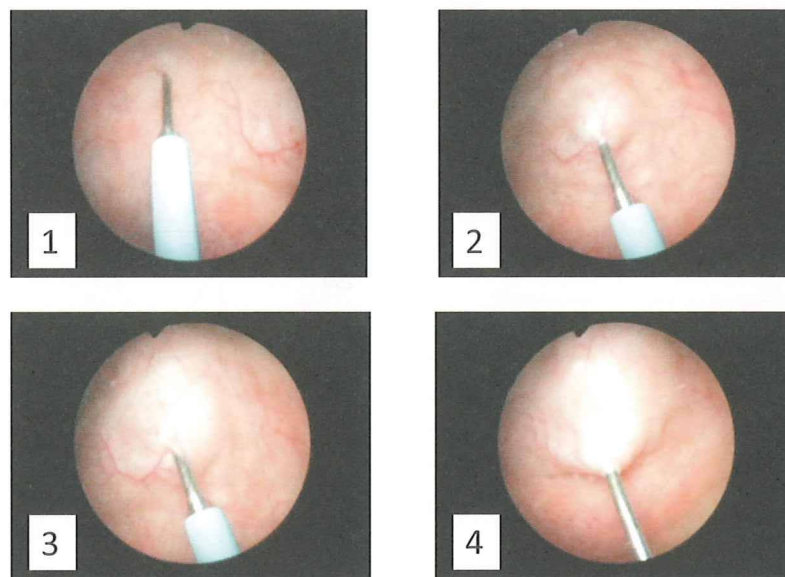


図 2. ボトックス膀胱壁内注入方法

C. 研究結果

平成 22 年 2 月 22 日の段階で、非神経因性過活動膀胱には 18 症例が神経因性排尿筋過活動にも 18 症例が登録された。この報告書では、前者 5 例、後者 9 例の中間解析を報告する。

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

5 例はすべて男性で、年齢は 66~77 (71.5 ± 4.1) 歳、術前の尿路感染症はなく、尿流動態検査では全例で排尿筋の不随意収縮 (70 ± 29cmH₂O) を認め、最大膀胱容量は 24~250 (161 ± 83) ml、最大尿流時排尿筋圧は 23~132 (64 ± 63) cmH₂O であった。合併症では中等度の排尿困難が見られた。術後 1 ヶ月目の最大膀胱容量の増加、不随意収縮消失、最大尿流時排尿筋圧 (Pdet/Qmax) の低下が認められた (図 3a~c)。

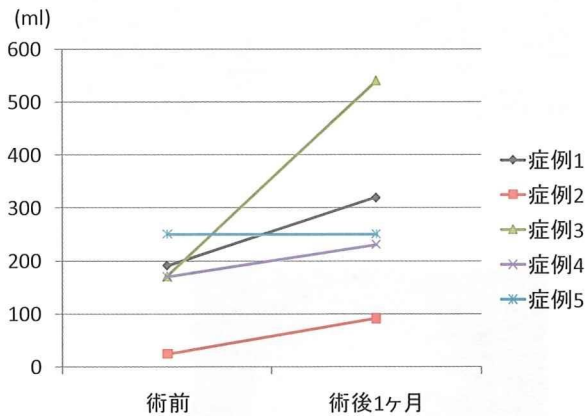


図 3a. UDS 最大膀胱容量

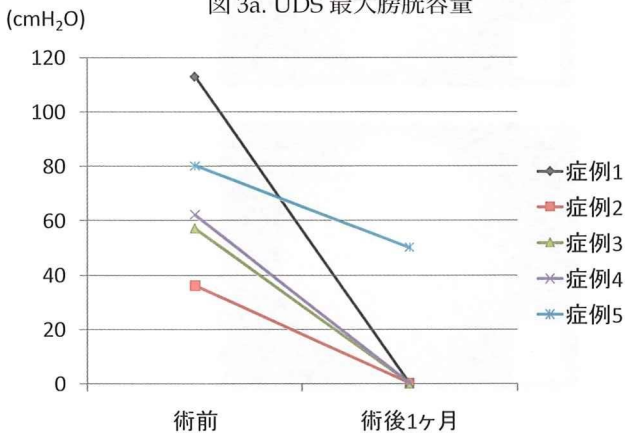
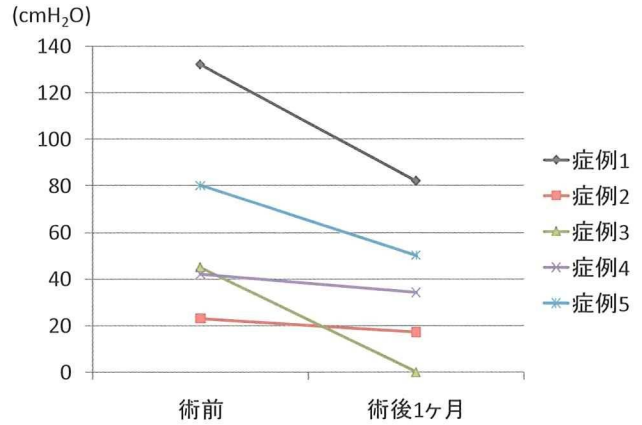


図 3b. UDS 不随意収縮圧



症例3は腹圧排尿となった

図 3c. UDS PdetQmax

尿流測定の前最大排尿率と残尿量変化を図 4, 5 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、2 ヶ月目にはもとの戻るように思われた。

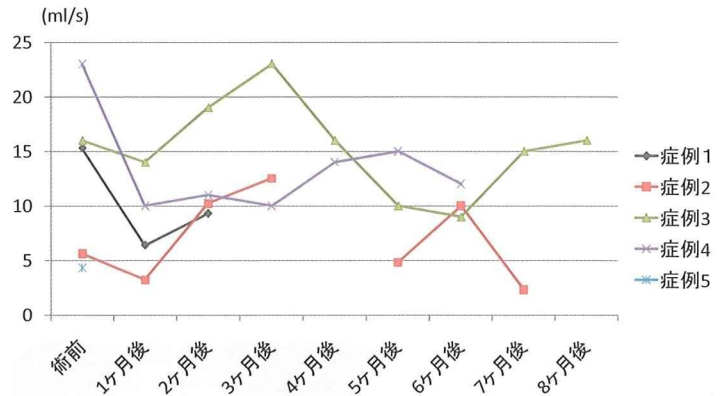


図 4. 最大尿流率

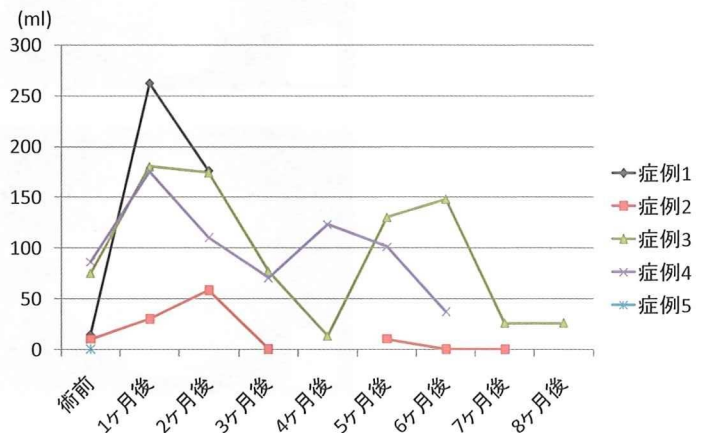


図 5. 残尿

3 日間の排尿記録による昼間強度尿意回数と平均尿失禁回数を図 6,7 に示す。尿意切迫感、切迫性尿失禁回数の著明な低下が 6~8 ヶ月間認められた。

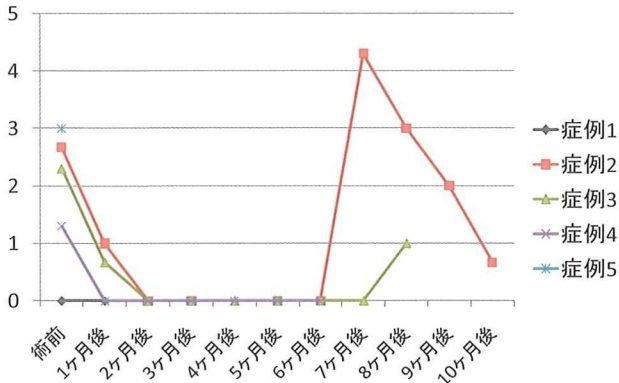


図 6. FVC 昼間強度尿意回数

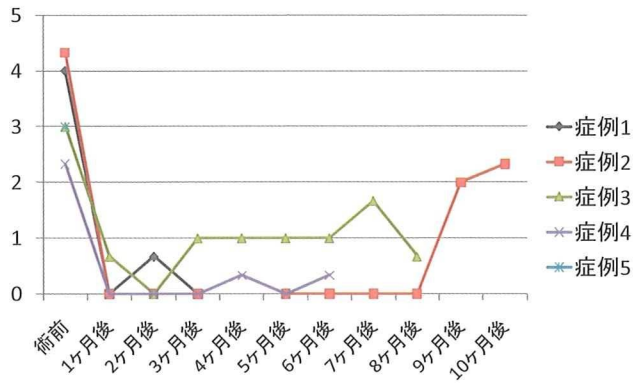


図 7. FVC 昼間平均尿失禁回数

図 8 に、国際尿失禁会議質問票ショートフォーム (ICIQ-SF) における困窮度を示す。およそ 6 ヶ月間困窮度は低下するように思われた。

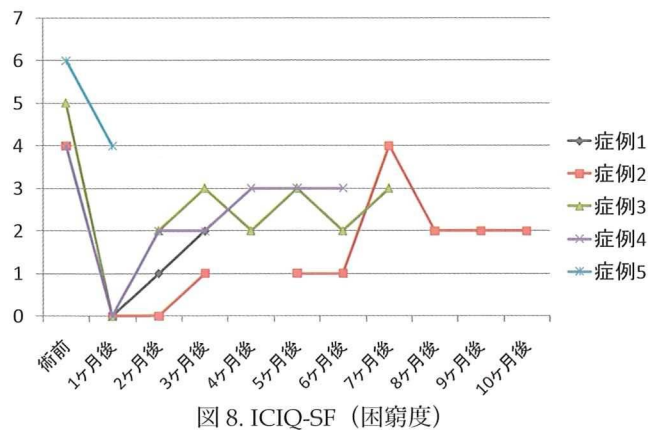


図 8. ICIQ-SF (困窮度)

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

9 症例の年齢は 22~66 (42 ± 16) 歳、男性 7 例、女性 2 例であった。麻痺のレベルは、頸髄損傷 3 例、胸髄損傷 5 例、腰髄損傷 1 例である。麻痺の程度は完全麻痺 (ASIA:A) 7 例、不全麻痺 (ASIA:B) 2 例であり、受傷後期間は 3 年 4 ヶ月~27 年 1 ヶ月 (中央値 6 年 11 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 ($84 \pm 47 \text{cmH}_2\text{O}$) を認め、最大膀胱容量は $126 \pm 137 \text{ml}$ 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 8 例中 4 例で不随意収縮が消失し、4 例で不随意収縮が残ったものの $28.0 \pm 11.4 \text{cmH}_2\text{O}$ へ低下し (図 9)、最大膀胱容量は 2 倍以上に増加した (図 10)。

導尿・尿失禁記録 (FVC) における尿失禁回数は、1 ヶ月後、平均 $4.9 \pm 6.2 \rightarrow 1.1 \pm 2.2$ 回に劇的に減少、1 日導尿回数も平均 $10.0 \pm 5.1 \rightarrow 7.9 \pm 4.4$ 回に減少し、1 回導尿量は平均 $97.7 \pm 44.7 \rightarrow 184.0 \pm 78.3 \text{ ml/回}$ に増加した。脊髄損傷患者では間欠導尿は避けることができないので、導尿回数が減少し、一回量が増加するのは望ましいことである。ICIQ-SF の困窮度は $7.1 \pm 2.6 \rightarrow 1.1 \pm 2.3$ に減少した。

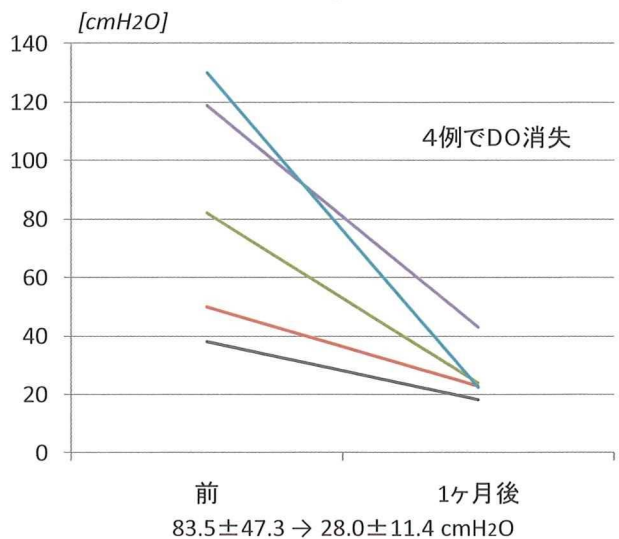


図 9. 不随意収縮(DO 残存例)

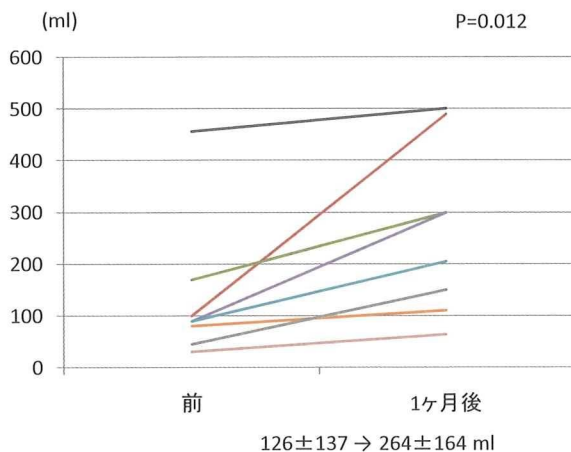


図 10. 最大膀胱容量

D. 考察

米国の消費者団体による Botox による死亡例の発表は、日本の報道でも取り上げられ、過剰な反応を引き起こした。FDA の記録に残っている死亡例のほとんどは神経疾患を有する患者であり、嚥下に問題がある患者であったと推定される。そこで、この研究では嚥下に問題のある患者は除外としたが、説明文には詳細を述べることになり、難治性の切迫性尿失禁を有する患者であっても尻込みするため症例の集積が遅れてしまった。急遽、施設数を増やすなど対策を講じたものの、予定数には達しなかったのは残念であった。

非神経因性過活動膀胱に対する治療では、治療後 1 ヶ月目ごろに排尿筋収縮力低下のために残尿増加がもたらされる。尿閉は導尿が必要になるため、治療前残尿が 100ml 以上あり、その原因が膀胱出口閉塞や膀胱収縮力低下である症例は尿流動態検査で否定しておく必要がある。自覚症状の変化でも排尿症状は増悪する可能性はあるものの、尿失禁の頻度は激減し、治療前に患者の納得が得られておれば患者の満足度は高くなると思われた。70 歳を超える高齢者に対しても副作用は認められず、安全性は高いと思われた。神経因性排尿筋過活動膀胱の症例に対しては 2 倍量の A

型ボツリヌス毒素 (200 単位) を用いているが、副作用は認めていない。神経因性排尿筋過活動膀胱の年代層は若くなるが、副作用がないことを示すことで高齢者に安全性をアピールする点でも有用であると考えられる。また、過活動膀胱の抑制は 8 ヶ月程度効いている可能性が示唆され、高齢者の polypharmacy を避ける意味でも優れた治療になる可能性があると考えられた。

脊髄損傷による神経因性排尿筋過活動の症例ではもともと残尿があつて導尿を行っている症例がほとんどであるため、A 型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入によってよしんば導尿回数が多少増えても尿失禁が軽快すれば患者の満足度が高くなることが推定された。中間解析の段階ではあるが、少ない症例数でも治療前後での有意差が示されつつあり、本治療法が脊髄損傷患者の排尿管理に有用であることと考えられた。

E. 結論

非神経因性過活動膀胱と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。登録が芳しくなく、目標に達すべく最大限の努力はしたものの予定数には達しなかったのは残念であった。しかし、それなりの症例集積はできたものと思われ、今後、解析を続けていく所存である。これまでの結果からは、本治療法は大変有望であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 野尻佳克, 岡村菊夫. A 型ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法の標準的方法と有効性は? EBM 泌尿器科疾患の治療. 342-347, 2009.

2. 学会発表

- 1) 仙石淳, 小川隆敏, 波間孝重, 木元康介, 朝倉博孝, 百瀬均, 森田肇, 細木茂, 岡村菊夫. 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多施設臨床試験. 第 16 回排尿機能学会. 2009 年 9 月 11 日. 福岡.
- 2) 岡村菊夫, 本間之夫, 後藤百万, 武井実根雄, 飴田要, 長井辰哉, 小松和人, 上田朋宏, 夏目修, 寺井章人. 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の多施設臨床試験. 第 16 回排尿機能学会. 2009 年 9 月 11 日. 福岡.
- 3) 岡村菊夫, 野尻佳克, 石田陽子. A 型ボツリヌストキシン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. 2009 年 3 月 8 日. 名古屋

G. 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

腹圧性尿失禁に対する非培養自己皮下脂肪由来間葉系前駆細胞（adipose-derived regeneration cell: ADRC）の傍尿道注入治療の有効性と安全性に関する研究

研究分担者 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

研究要旨

非培養自己皮下脂肪由来間葉系前駆細胞（Adipose Derived Regeneration Cells: ADRCs）の傍尿道注入治療を、前立腺癌術後腹圧性尿失禁を有する2例の男性患者に施行し、その有効性と安全性を検討した。皮下脂肪吸引により採取した自己脂肪組織からADRCを抽出し、経尿道的内視鏡下にADRC抽出液を外尿道括約筋に注入し、さらにADRC抽出液と自己脂肪組織の混合液を外尿道括約筋部尿道粘膜下に注入した。術後1年の経過観察で、1日の尿失禁量は症例1では平均35gmから0gmと尿失禁が消失し、症例2では平均44gmから17gmへ改善した。国際尿失禁症状・QOL質問票による評価では、2例とも尿失禁量、尿失禁頻度、QOLの改善が得られた。尿道内圧測定では、2例とも最大尿道閉鎖圧の上昇（症例1：28cmH₂Oから43cmH₂O、症例2：21cmH₂Oから36cmH₂O）、機能的尿道長の増加（症例1：14mmから32mm、症例2：17mmから27mm）。造影超音波検査による、ADRC傍尿道注入部の血流評価においては、注入翌日から注入後56日まで注入部の血流の経時的な増加がみられた。MRIによる注入部の評価においては、尿道粘膜下に注入された自己脂肪組織は注入後3ヶ月の時点においても持続して存在した。注入術中、術直後、および術後1年の経過において、明らかな副作用を認めなかった。非培養自己皮下脂肪由来間葉系前駆細胞の傍尿道注入治療は、括約筋機能障害による腹圧性尿失禁に対して、有効な再生治療となり得ることが示唆された。

A. 研究目的

腹圧性尿失禁は、尿道括約筋機能の障害により腹圧負荷時に尿が漏れるもので、直接生命に関わることはないが、生活の質を著しく阻害するQOL疾患である。妊娠・出産・加齢などが要因となる女性の腹圧性尿失禁は、本邦では約400万人が罹患していると推定されている。男性における腹圧性尿失禁は、前立腺肥大症や前立腺癌の手術後合併症として発生し、特に近年急増する前立腺癌に対する根治的前立腺摘除術を受けた患者の10～40%程度に発生すると報告されている。本疾

患の治療では、理学療法（骨盤底筋訓練）が初期治療として行われ、問題となる合併症はないものの、中等症以上の例には無効である。外科的治療としては、尿道スリング手術が女性腹圧性尿失禁に対して広く行われ、良好な成績が得られているが、異物を体内に留置するという欠点があり、異物としてのスリング素材による膣びらん発生が副作用として報告されている。また男性における腹圧性尿失禁に対しては、本邦で行い得る有効な外科的治療がないのが現状である。そこで我々は、2001年に発見同定された多分化能を有する皮下脂

肪組織由来間葉系前駆細胞（Adipose Derived Regeneration Cells: ADRCs）に注目し、本研究では、細胞供給源としての皮下脂肪組織から採取される自己 ADRCs を用いた腹圧性尿失禁に対する新しい治療、すなわち経尿道的内視鏡下 ADRCs 傍尿道注入治療を開発し、その有用性と安全性を検証した。

B. 研究方法

1. 被験者の選定

以下の適応基準により被験者を選定した。

<選定基準>

- (1) 限局性前立腺癌に対して根治的前立腺摘除術を行った男性患者で、根治手術が施行され（術前臨床病期 T2 以下の限局性前立腺癌で、術前前立腺特異抗原：PSA が⁵ 10ng/ml 以下・組織学的悪性度 Gleason Score 6 以下の good risk 症例であること、さらに摘出前立腺病理組織学的診断で断端が陰性 ew(-)の症例であること）、再発・転移がなく（術後1年以上前立腺特異抗原：PSA が測定感度以下）、術後1年以上続く腹圧性尿失禁を有する患者。
- (2) 前立腺肥大症に対する経尿道的前立腺切除術後またはレーザー切除後の難治性腹圧性尿失禁患者。
- (3) 真性腹圧性尿失禁を有する 40 歳以上の妊娠を希望しない女性患者で、薬物治療および理学療法が無効で、従来の手術治療を希望しない患者、あるいは、手術治療無効の患者。尿道スリング手術適応例で、手術材料に対するアレルギーを有する、あるいはアレルギーが予測される患者。

<除外基準>

- (1) 選定基準を満たしても患者からインフォームド・コンセントの得られない場合。
- (2) 他の合併症により余命が1年以内と考え

られる場合。

- (3) 悪性新生物を有する、もしくは5年以内にその既往がある場合。または、諸検査により悪性腫瘍の可能性があると判断された場合（前立腺癌に対する根治手術施行後の患者は除く）。
- (4) 血中 PSA の上昇があり、前立腺癌の存在または再発がある、あるいは予測される患者。
- (5) 重大な感染症を有している場合。
- (6) 重篤な肝機能障害、腎機能障害が存在する場合。
- (7) 白血球減少症、血小板減少症など重篤な血液疾患および輸血を必要とする重度貧血が存在する場合。
- (8) 妊娠中および妊娠の可能性がある場合。
- (9) その他、主治医が不適切と判断した場合。

2. 皮下脂肪組織の採取

全身麻酔、あるいは局所および腰椎麻酔下に、患者腹部または臀部皮下脂肪組織に混合液[成分：生理食塩水 1000ml+1%リドカイン（キシロカイン）2ml+0.1%アドレナリン（ボスミン）1.5ml+8.4%メイロン 10ml を適量注入し十分膨満させる。通常形成外科領域で使用される専用 50ml シリンジで脂肪組織を含む懸濁液を陰圧吸引する。

3. 皮下脂肪組織の処理（ADRCs の分離）

上記で得た脂肪組織約 250~300g から、ADRCs 分離装置（Celution[®]：Cytori Therapeutics, Inc.）を用いて ADRCs を分離濃縮する（ $1 \times 10^6 \sim 8$ 個 / 5ml）。

4. 傍尿道周囲への ADRCs 移植

5ml に分離された ADRCs（約 $1 \times 10^6 \sim 8$ 個）を用いて 2 種類の注入細胞溶液を作成する [(1) ADRCs 0.5~1.0 ml の細胞溶液、(2) 自己脂肪 20g と ADRCs の 4.0-4.5 ml を混和

した細胞溶液]。全身麻酔、あるいは局所および腰椎麻酔下に、尿道より内視鏡を挿入し、準備した2種類の注入細胞溶液を18Gの針注射器を用いて内視鏡下に注入する。すなわち、外尿道括約筋内へ(1)溶液0.5-1.0mlを左右各々2カ所、(2)溶液を膜様部尿道粘膜下(4、8、6時)に症例に応じてbulking効果による尿道内腔の閉鎖が内視鏡的に確認できる程度に注入する。

5. 評価項目

<主要評価項目>

5-1. 尿失禁改善効果

5-1-1. 自覚的所見：ICIQ-SFにより、治療前、治療後2週、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、21ヶ月、24ヶ月、以後6ヶ月ごとに5年間評価。

ICIQ-SF: International Consultation on Incontinence Questionnaire-Short Form (尿失禁症状・QOLスコア)

(妥当性の検証された自己記入式質問票で、尿失禁頻度、尿失禁量、日常生活に対する影響をスコア化評価するもの)

5-1-2. 他覚所見：

A. 24時間パッドテスト：

尿失禁があるたびに、パッドの重さを計測し(乾いたパッドの重さを差し引いて)、24時間の尿失禁量を定量的に測定(治療前、治療後2週、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、21ヶ月、24ヶ月、以後6ヶ月ごとに5年間)。4日間連続計測し、平均を1日の尿失禁量として算出した。

B. 尿流動態検査(尿道内圧測定;最大尿道閉鎖圧、機能的尿道長)：

(治療前、治療後2週間、3ヶ月、6ヶ月、1年)

5-2. 安全性評価

皮下脂肪吸引後の痛み、出血の有無と程度、末梢血・血液生化学検査所見(治療前、治療翌日、治療後1週間、1か月)、前立腺特異抗原(PSA)測定：根治的前立腺摘除術後の患者については、3か月～6か月毎に10年間、分離ADRCsの安全性検査：脂肪組織から分離したADRCs一部について、無菌試験、分画、分離試験を行う。

<副次評価項目>

5-3. 画像評価：

5-3-1. 膀胱鏡検査(治療前、治療後2週間、1年)

5-3-2. MRI(矢状断像 脂肪強調画像)(治療前、治療後2週間、3か月、6か月、1年、以後1年ごとに10年まで)

5-3-3. 経膈または直腸的造影超音波検査(細胞注入部周囲の血流評価)(治療前、治療後2週間、3ヶ月、6ヶ月、1年)

(倫理面への配慮)

本研究は「世界医師会ヘルシンキ宣言」および「臨床研究に関する倫理指針」に則って行われ、プライバシーの侵害が生じないようにデータ管理には十分に注意し、研究に参加する医師が識別番号と個人情報とを管理し、個人を識別することができない連結可能匿名化を行った。研究プロトコル、説明文書、同意書は、名古屋大学医学部倫理審査委員会において平成20年8月に審議され、承認された。

C. 研究結果

1. 実施症例

2例の腹圧性尿失禁患者を治療した。症例1は75歳の男性で、前立腺癌に対する根治的前立腺摘除術後3年経過し、中等度の腹圧性尿失禁を有した。術前前立腺癌臨床病期はT2N0M0でその他の適応基準を満たした。症