

筋再生メカニズムに基づいた腹圧性尿失禁に対する再生治療の開発（23-7）

主任研究者 橋本 有弘 国立長寿医療研究センター 再生再建医学研究部（部長）

研究要旨

尿失禁は、認知症や骨粗鬆症などとともに、高齢者の QOL を著しく損なう原因となるうえに、介護者の体力的・経済的負担が大きいと、解決の望まれている課題である。自己骨格筋幹細胞を用いた再生医療は、腹圧性尿失禁に対する有効性が期待される、将来性の高い治療法である。本研究は「高齢者の腹圧性尿失禁に対する自己骨格筋幹細胞移植治療」の実現を目的とする。申請者らは、前臨床研究において高齢者の骨格筋から、再現性よく筋幹細胞を分離・培養する独自の技術を確認した。本研究では、前臨床研究の成果を臨床応用に発展させるために、試薬および細胞などの安全性を担保するとともに、再生医療の実施に必要な GMP に対応した施設・設備の改良および臨床研究実施に必要とされる整備・管理運用体制を提案し、『安全性と効率性を兼ね備えた再生医療の総合的モデルシステム』を構築するために必要な調査検討を行う。そのうえで、『ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針』にしたがって厚生労働大臣の承認を受け、臨床研究として「高齢者の腹圧性尿失禁に対する自己骨格筋幹細胞移植治療」を実施することが、本研究における目標である。

主任研究者の橋本らは、先行研究においてヒト骨格筋から再現性よく筋幹細胞を分離・培養する独自の技術を確認し、世界的にみても当該再生医療の実現に最も近い研究水準に達している。

再生医療を実現するためには、GMPに相当する安全性を担保したうえで、前臨床研究の成果を臨床研究に発展応用することが求められている。そのためには、前臨床で用いた試薬・器具・プロトコルなどをGMPレベルのもので代替することが必要になる。3年計画の2年目にあたる平成24年度は、前臨床研究において得た成果を、臨床研究に適用可能にすることを最優先課題として取り組み、以下のような成果を得た。

- ① 移植に用いるヒト未分化筋細胞を調製するための培養液の安全性を担保するために、ウシ胎児血清の代替法を検討した。ウシ胎児血清とヒト血清の比較を行い、患者自己血清によって代替可能であることが示唆された。全ての動物由来成分を「非動物由来成分と患者自己血清」で代替できることが明らかになった。
- ② 移植したヒト筋細胞の造腫瘍性を検討するための手法として、病理学的解析による定性的評価に加えて、細胞増殖マーカー遺伝子の超微量定量的解析系を開発した。マイクロダ

イセクション法を用いて、固定組織切片から切り出した5個の細胞から mRNA を抽出し、遺伝子発現解析することに成功した。病理学的解析と分子生物学的解析を同一組織標本を用いて行うことが可能になった。

- ③ 外尿道括約筋から、本研究において独自に分離・樹立した「不死化ヒト外尿道括約筋細胞培養系」を用いて、TGF- $\beta$  1 が未分化ヒト外尿道括約筋細胞の増殖と分化を抑制することを明らかにし、TGF- $\beta$  1 が腹圧性尿失禁の治療標的分子となりうることを示した。
- ④ 臨床研究を実施するための厚生労働大臣確認申請の中核をなす「臨床研究実施計画書（原案）」を作成した。また、細胞調製施設での作業行程を検討し、「生物製剤製造のための標準作業手順(SOP)（原案）」を作成した。
- ⑤ 再生医療に関する臨床研究を実施するために必要な施設・設備および臨床研究管理体制を整備するために、再生医療関連企業との協力体制を構築し、情報収集と調査を開始した。また、第二研究棟4階に設置された「再生医療用細胞調製施設（Cell Processing System）」の維持管理を行い、施設の機能を維持するとともに実際の使用に必要な消耗品などを整備した。

主任研究者

橋本 有弘 国立長寿医療研究センター 部再生再建医学研究部 (部長)

分担研究者

吉田 正貴 国立長寿医療研究センター 手術・集中治療部 (部長)

宋 時栄 徳島文理大学 神経科学研究所 (教授)

三股 浩光 大分大学 医学部 (教授)

## A. 研究目的

尿失禁は、認知症や骨粗鬆症などとともに、高齢者の QOL を著しく損なう原因となるうえに、介護者の体力的・経済的負担が大きいため、解決の望まれる課題である。自己骨格筋幹細胞を用いた再生医療は、腹圧性尿失禁に対する将来性の高い治療法である。本研究は「高齢者の腹圧性尿失禁に対する自己骨格筋幹細胞移植治療」の実現を目標とする。申請者らは、前臨床研究において高齢者の骨格筋から、再現性よく筋幹細胞を分離・培養する独自の技術を確立した。本研究では、前臨床研究の成果を臨床応用に発展させるために、試薬および細胞などの安全性を担保するとともに、再生医療の実施に必要な施設・設備の改良整備を行い、『安全性と効率性を兼ね備えた再生医療の総合的モデルシステム』を構築する。将来的には、モデルシステム全体を公開することによって、我が国における再生医療の普及に貢献することをめざす。

世界的にみても高齢化の進行が著しいわが国においては、今後、尿失禁に悩む高齢者は、

さらに増加するものと考えられる。本研究によって腹圧性尿失禁の再生治療が開発されれば、治癒できる可能性が高まり、高齢者の QOL は向上し、健康長寿社会の実現に大いに貢献できるものと考えられる。

## B. 研究方法

### a) 骨格筋幹細胞の培養

昨年度までの研究によって分離樹立した不死化ヒト筋細胞を、I型コラーゲンを塗布した培養皿（スミロン）に播種し、増殖培地pmGM（組成は分担研究報告参照）にて培養した。

### b) ヒト筋細胞培養液成分の検討

ウシ胎児血清の増殖促進効果を代替する非動物性成分を探索するため、昨年度確立した High Content Screening 系を用いて検討した。独自に樹立した不死化ヒト筋細胞を、20%ウシ胎児血清（FBS）含有ダルベッコ改変 MEM 培地（DMEM）に懸濁し、I型 collagen-coated 96 well dish（スミロン）に、各 well 当たり 300 細胞となるように播いた。細胞は、水蒸気を飽和させた細胞培養器内で、二酸化炭素 10%、空気 90%、36.7℃の条件下で培養した。培養開始翌日に培養液を様々な組成の培養液（「20%FBS-DMEM」あるいは「20%ヒト血清-DMEM」に成長因子などを添加したもの）に置き換え、6日間培養した。培地交換後、0、3、6日後に細胞をパラフォルムアルデヒドで固定し、蛍光核染色試薬 DAPI (1 ug/ml) および蛍光細胞質染色試薬 Cell Mask Red (Invitrogen, 1:20000)で染色した。In Cell Analyzer 2000 (GE)を用いて各 well に含まれる全核数を定量した。

### d) 移植用ヒト筋細胞の安全性（リスク）評価のための高感度遺伝子発現解析法の開発

固定組織から凍結切片を作成し、様々な一次抗体による免疫染色を行った。組織病理学的解析に加えて、マイクロダイセクション法によって、組織切片から特定少数（5、10、50個）の細胞を切り出し、RNA抽出、cDNA合成、定量的PCRの条件を詳細に検討した。

### e) ヒト外尿道括約筋細胞の機能解析

前年度までの本研究によって、前立腺全摘出手術時に外尿道括約筋を含む組織から分離樹立した不死化ヒト外尿道括約筋細胞を培養し、成長因子 TGF- $\beta$ 1 がヒト外尿道括約筋細胞の増殖と分化に与える影響を検討した。

（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、国立長寿医療研究センター、徳島文理大学、大分大学の動物実験倫理委員会、生命倫理委員会、生物試料安全委員会の承認を得、規定にしたがって実施する。

## C. 研究結果

### 1. 高齢者由来骨格筋幹細胞移植治療の確立

#### ① ヒト筋細胞培養条件の改良：ヒト血清による牛胎児血清の代替

前臨床研究において有効性が確認された培養液(pmGM)に含まれる動物由来成分を安全性確認可能な試薬で置き換えるために、「細胞の有する複数の特徴を、同時に個々の細胞毎に検出する」検定系を確立した。昨年度までに、4あるいは7種類の成長因子など（組換え成長因子および合成ホルモン）を組み合わせて添加することによって、ウシ胎児血清以外の動物由来成分の増殖促進活性を代替できることが明らかになった。本年度は、ウシ胎児血清の代替法を検討した。ウシ胎児血清濃度を低減すると、細胞増殖は顕著に低下した。市販のES細胞様無血清培地（組成は非公開）を用いても増殖は維持できなかった。そこで、ウシ胎児血清を患者自己血清で代替する可能性を検討した。ウシ胎児血清の代わりに市販の成人ヒト血清（27歳-53歳、男女各5名の血清の混合物。コージンバイオ社。）を添加し、High Content Screening系を用いて細胞増殖を定量した。成人ヒト血清は、ウシ胎児血清と同等あるいはそれに近い増殖促進活性を示すことが明らかになった。しかし、検討した4種類の不死化ヒト筋細胞を比較検討すると、牛胎児血清では見られない、細胞による増殖応答性の違いが認められた。

## ② 培養ヒト筋細胞の安全性評価法

昨年度、ヒト筋細胞を免疫不全マウスの骨格筋に移植し、造腫瘍性の有無を遺伝子発現によって評価する「分子生物学的解析技術」を確立した。しかし、培養ヒト筋細胞の安全性評価に用いるためには、より少ないサンプルからの検出を可能にする、「高感度化」が必要である。今回樹立したプロトコール（分担研究報告(宋)を参照）によって、4% PFA固定凍結切片、パラフィン包埋切片から、従来法に比して高品質のRNA標品を得ることができた。さらに、抗体による免疫染色後の切片から切り出した5個の細胞から3種類の遺伝子（ $\beta$ -actin、Gapdh、IP<sub>3</sub>受容体）を検出することに成功した。今回、検出できた遺伝子は、比較的発現レベルの高い遺伝子であるが、この高感度化によって、目的とする細胞10個を切り出すことができれば、造腫瘍性を評価するための細胞増殖マーカー遺伝子を検出することが期待できる。

## ③ 高齢者筋組織由来不死化筋細胞の解析

3種類の高齢者由来不死化筋細胞（75歳男性、82歳女性、86歳女性に由来）の増殖特性を、若年成人由来不死化筋細胞（23歳女性由来）および不死化ディシェンヌ型筋ジストロフィー由来筋細胞と比較検討した。我々は、先行研究において若年成人由来筋細胞とディシェンヌ型筋ジストロフィー由来筋細胞は、ステロイドホルモンに対する応答性に違いがあることを見いだしている。今回、高齢者由来不死化筋細胞のうち、2つは若年成人由来筋細胞と同様の応答性を示したが、1つの高齢者由来不死化筋細胞は、ディシェンヌ型筋ジストロフィー由来筋細胞と同様に、ステロイドホルモンに対する応答性が低いことが明らかになった。筋ジストロフィーにおいて、再生と壊死が繰り返し起こるために、未分化な筋細胞（幹細胞とそれに由来する前駆細胞）の増殖分化能力の低下が生じるのではないかと考えられている。高齢者筋細胞において、筋ジストロフィー筋細胞と同様の機能低下が生じている可能性が示唆された。

#### ④ ヒト尿道括約筋細胞の性質および機能の解析

外尿道括約筋は、尿禁制における重要な構造物であるが、加齢とともに減少することが知られている。昨年度、ヒト外尿道括約筋細胞に3遺伝子（ヒトテロメラーゼ、CDK4 変異体、Cyclin D1）を導入し、不死化ヒト外尿道括約筋細胞を世界で初めて分離・樹立した。外尿道括約筋萎縮における TGF- $\beta$ 1 の関与の可能性を考え、外尿道括約筋細胞における TGF- $\beta$ 1 の作用について検討を行った。不死化ヒト外尿道括約筋細胞クローン US2KDpp1 を成長因子 TGF- $\beta$ 1 で刺激したところ、TGF- $\beta$ 1 がヒト外尿道括約筋細胞の増殖と分化を阻害することが明らかになった。

## 2. 再生医療に関する臨床研究を実現するための環境の整備

①「再生医療用細胞調製施設（CPS）」を稼働させるための設備面での整備を行った。順次ハード面での整備を行い、「GMP基準を満たす設備」として使用可能な状態に整備し、その機能を維持するための管理業務を行った（本研究の範疇ではないが、管理担当者が決まっていないため、当研究課題担当者が対応した）。大臣確認申請のために必要な情報提供をうけるため、実際に再生医療に関わっている企業（ジェイテック）との秘密保持契約を結んだ。今後、当該設備を「GMP基準を満たす設備」として運用し、その機能を維持し続けるためには、機関としての管理組織体制、運用規則などを整備する必要がある。

### ②厚生労働大臣確認申請書類の準備状況

大臣確認申請のために準備すべき書類の主なものは、下記の通り（「申請書類リスト」）である。申請書類1-9のうち、特別な情報収集などの必要がある1-3について優先的に準備を進めた。特に事前の準備検討が必要な1-2については、原案を作成した。3についてはバリデーション作業の準備（試薬などの絞り込みとバリデーションに必要な情報収集）を開始した。

大臣確認申請の中核となる「臨床研究実施計画書」および「製造工程に関する標準作業手順書（SOP）」に関しては、昨年度までの「案」に加筆・訂正を加えて完成に近づいた。内容の詳細は、分担研究報告（吉田）を参照されたい。「試薬・器具の安全性証明書（バリデーション）」については、使用する試薬の種類をできるだけ減らし、かつGMPあるいは日本薬局方に適合したレベルの標品のみを使用するよう、検討を行った。その結果は、上記SOP（案）に明記した。また、バリデーション作業には専門性を要するので、再生医療に関わっている企業（ジェイテック）と「秘密保持契約」を結び、情報（ノウハウ）提供をお願いできる体制を構築した。

#### 「厚生労働大臣確認申請書類リスト」

1. 臨床研究実施計画書：申請書原案（第4版）
2. 製造工程に関する標準作業手順書（SOP）（第4版）
3. 試薬・器具の安全性証明書（バリデーション）：トレーサビリティ
4. 被験者等に関するインフォームドコンセント
5. 被験者に対して重大な事態が生じた場合の対処方法（有害事象取り扱い）

6. 個人情報保護の方法、連結可能匿名化の方法
7. 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況
8. 同意説明書
9. 本臨床研究の概要についての説明（被験者対象）

（以上は、申請者が作成する提出資料）

以下は、研究機関が規程にもとづいて作成する資料（規程等運用については作成準備中）

10. 研究機関の施設の状況：細胞培養施設の管理運用状況（施設管理の SOP）
11. 臨床研究に伴う被験者の健康被害に対する補償について（実施機関の対応）

#### D. 考察と結論

これまでの前臨床研究において、私たちはヒト筋細胞の分離培養法を確立し、自己筋細胞移植治療の可能性を示してきた。しかし、臨床研究を実施するためには、GMP に準拠した高いレベルで安全性を担保することが求められている。そのためには、前臨床研究で用いられた試薬、器具、実験手法などを一から見直す必要がある。特に、ヒト筋細胞の分離・培養工程で用いる試薬・器具には、動物由来成分を含むものがきわめて多く、その代替方の開発に多くの時間と労力を費やしてきた。その結果、以下のように動物由来成分を使用しない、あるいは検査済みウシ胎児血清以外の動物由来成分を排除したヒト筋細胞調製法を確立することができた。

ヒト筋細胞を培養するために、私たちが開発・改良してきた培養液 pmGM には、動物由来の成分が含まれており、安全性の担保という点から非動物成分による代替が強く望まれていた。動物由来成分は、ウシ胎児血清と培養添加物 Ultrosor G に含まれている。昨年度と今年度の研究によって、Ultrosor G の細胞増殖促進活性を塩基性繊維芽細胞成長因子とグルコシルチコイドによって、ほぼ代替できることが明らかになった。ウシ胎児血清に関しては、ヒト成人血清によって代替が可能であることが確認できた。患者自己血清を使用することによってウシ胎児血清を使用しない培養が可能になることが示唆された。しかし、現状においては、患者自己血清を用いた場合、細胞増殖促進活性に個人差がある可能性が懸念される。特に患者が高齢者の場合、加齢による血中ホルモンなどの量的変化が、血清の活性に影響する可能性は少なくない。一方、再生医療への応用を想定して、FDA の基準に適合する検査済みウシ胎児血清が供給されるようになった。このような安全性が担保されたウシ胎児血清を用いることによって、安定した細胞調製結果が期待できるとともに、患者自己血清を使用する場合の調製工程の標準化など、臨床研究実施のために越えなければならない課題を低減することができる。したがって、私たちは、証明済みウシ胎児血清の使用を第一選択として SOP（案）を作成した。患者自己血清の使用については、ウシ胎児血清の適用が困難な場合の第二選択となりうる。

「移植用ヒト筋細胞の安全性（リスク）評価」は、培養自己筋細胞移植治療を実施する上で、最も重要な検討課題の一つである。如何にして造腫瘍性の有無を判定するか、評価

指標と基準について、明確な数値を設定することはできない。私たちは、免疫不全マウス骨格筋へのヒト筋細胞移植を行い、造腫瘍性の有無を組織学的に検索してきた。しかし、生着するヒト筋細胞数は、必ずしも多くないため、病理学的な造腫瘍性の判定だけでは不十分であり、「前がん状態の細胞」を検出しようとする評価系を確立する必要があると考えられる。分担研究者の宋らは、固定凍結切片からマイクロダイセクション法を用いて切り出した、わずか5個の細胞からRNAを抽出し、遺伝子発現を検出することに成功した。この技術開発によって、免疫不全マウスに移植したヒト筋細胞の造腫瘍性の有無を、きわめて高感度に検出する分子レベルの評価系が構築可能になった。

腹圧性尿失禁のうち、外尿道括約筋不全に起因するものには難治性のものが多く、内科的に有効な治療法はない。このような場合、外尿道括約筋細胞の増殖分化を促進することができれば、新たな治療法となりうるのではないかと期待される。TGF- $\beta$ 1は、加齢による筋再生の低下に密接に関与することが報告されており、外尿道括約筋の機能低下との関連性が考えられる。本研究で独自に樹立した不死化ヒト外尿道括約筋細胞を用いて、TGF- $\beta$ 1の作用を詳細に解析したところ、TGF- $\beta$ 1がヒト外尿道括約筋細胞の増殖と分化を著しく阻害することが明らかになった。TGF- $\beta$ 1は外尿道括約筋において筋再生を抑制的に調節していると考えられ、腹圧性尿失禁の新たな治療標的となりうることが示唆された。

以上のような前臨床研究の成果を基盤として、臨床応用を実現するために、厚生労働大臣確認申請の準備を進めた。同申請の中核をなす「臨床研究実施計画書」および「製造工程に関する標準作業手順書(SOP)」の原案を作成した。当該研究のめざす方向性および優先的に解決すべき課題を明確にすることができた。臨床研究の実現に向けたマイルストーンとして、意義がある。

#### E. 健康危険情報

なし。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

###### 1) 橋本有弘

骨格筋幹細胞-最新基礎知見を踏まえて

Bone Joint Nerve, Vol. 3(1), 21-26, 2013.

2) Yoshida M, Kudoh J, Homma Y, Kawabe K: New clinical evidence of silodosin, an  $\alpha$ 1A selective adrenoceptor antagonist, in the treatment for lower urinary tract symptom. Int J Urol 19: 306-316, 2012

3) 吉田正貴、影山慎二、川原和也、曾根淳史、工藤惇三：実地診療における女性の過活動膀胱に対する $\beta$ 3アドレナリン受容体作動薬（ミラベグロン）の有用性の検討 泌尿器外科 254:725-732, 2012

- 4) 影山慎二、吉田正貴：女性過活動膀胱に対する抗コリン剤による排尿症状の推移と QOL の変化について—Bother 質問票を用いた検討— 泌尿器外科 25:361-368, 2012
- 5) 吉田正貴、後藤百万、山上英臣、本間之夫：泌尿器科・一般内科医および患者における過活動膀胱治療の認識 泌尿器外科 25:2425-2434, 2012
- 6) 吉田正貴、武田正之、高橋悟、西澤理、後藤百万、榊森直哉：夜間頻尿を有する過活動膀胱患者に対するイミダフェナシンの効果に及ぼす夜間排尿回数の影響 泌尿器外科 32:2181-2187, 2012
- 7) 吉田正貴 “一般医における前立腺肥大症診療の現況 第 100 回日本泌尿器科学会総会 シンポジウム「前立腺肥大症治療を再考する」から” メディカル朝日 9:36-37, 2012
- 8) 吉田正貴、佐野 太、後藤百万 (司会)：前立腺肥大症治療における患者満足度の向上をめざして (座談会) 泌尿器外科 25:41-48, 2012
- 9) 吉田正貴、野尻佳克、大菅陽子：抗コリン剤・コリン作動薬、前立腺肥大症の診療最前線—薬物療法を中心に— Modern Physician 32:1489-1492, 2012

## 2. 学会発表

- 1) Naohiro Hashimoto and Kosuke Shiomi  
Glucocorticoids repress Rb-dependent/stress-induced cell cycle arrest of human myogenic cells: a possible mechanism of glucocorticoid therapy for Duchene muscular dystrophy  
Frontiers in Myogenesis Meeting:Development, Function and Repair of the Muscle Cell,Society of Muscle Biology.  
New York University June 5, 2012.
- 2) Naohiro Hashimoto  
Recruitment of M-cadherin/p120 Catenin Complex to Lipid Raft is Critical for Establishing Fusion Competence of Myogenic Cells  
the FASEB Science Research Conference on *Skeletal Muscle Satellite & Stem Cells*  
August 16, 2012 at the Il Ciocco, Lucca, Italy.
- 3) Madoka Ikemoto-Uezumi, Akiyoshi Uezumi, Kunihiro Tsuchida, So-ichiro Fukada, Naohiro Hashimoto  
Search for the environmental factors that contribute to sarcopenia  
the FASEB Science Research Conference on *Skeletal Muscle Satellite & Stem Cells*  
August 14, 2012 at the Il Ciocco, Lucca, Italy.
- 4) Madoka Ikemoto-Uezumi, Akiyoshi Uezumi, Kunihiro Tsuchida, So-ichiro Fukada, Naohiro Hashimoto  
Search for the environmental factors that contribute to sarcopenia



Keystone Symposium “Aging and Diseases of Aging”

October 22-27, Tokyo.

- 5) Madoka Ikemoto-Uezumi, Akiyoshi Uezumi, Kunihiro Tsuchida, So-ichiro Fukada, Naohiro Hashimoto  
Search for the environmental factors that contribute to sarcopenia  
9th Japanese-French Symposium for muscular dystrophy  
September 7-8, Tokyo.
- 6) Shimoda N, Izawa T, Yoshizawa I, Yokoi H, Kikuchi Y, Naohiro Hashimoto  
Age-related decrease in DNA methylation at CpG island shores and increase in fragmentation of the zebrafish genome  
Keystone Symposium “Aging and Diseases of Aging”  
October 22-27, Tokyo.
- 7) 橋本有弘、岡村菊夫  
自己筋幹細胞を用いた高齢者の尿失禁に対する再生治療の開発  
第100回日本泌尿器科学会総会シンポジウム  
2012年4月22日、横浜
- 8) 橋本有弘  
骨格筋幹細胞（筋サテライト細胞）の性質解明  
加齢や筋疾患による性質変化から、筋サテライト細胞を標的とした再生医療の可能性を探る  
第29回筋肉の会  
2012年9月13日、岐阜
- 9) 橋本有弘  
骨格筋幹細胞を標的とした再生医療  
整形外科学会基礎学術集会 シンポジウム「筋損傷を科学する」  
2012年10月27日、名古屋
- 10) 橋本有弘  
Cell Biological Study on Human Myogenic Stem Cell and Progenitor Cell  
第35回日本分子生物学会年会 ワークショップ「骨格筋幹細胞研究の最前線 (Frontiers of muscle stem cell research)」  
2012年12月11日、福岡
- 11) 塩見浩介、橋本有弘  
グルココルチコイドは、ヒト筋芽細胞のRb依存的な細胞周期の停止を解除する  
第35回日本分子生物学会年会  
2012年12月12日、福岡
- 12) 永田有希、清野透、後藤雄一、橋本有弘

炎症性サイトカインIL-1bによるヒト筋細胞の分化阻害

第 35 回日本分子生物学会年会

2012 年 12 月 11 日、福岡

- 13) 下田修義、井澤俊明、吉澤明生、横井勇人、菊池裕、橋本有弘  
ゼブラフィッシュの加齢はゲノミックとエピゲノミックな変化を伴う  
日本エピジェネティクス研究会第6回年会，2012年5月14-15日，東京
- 14) 下田修義、井澤俊明、吉澤明生、横井勇人、菊池裕、橋本有弘  
ゼブラフィッシュの加齢はゲノミックとエピゲノミックな変化を伴う  
第35回日本基礎老化学会，2012年7月26-27日，東京
- 15) 吉田正貴:LUTS/BPH 治療に患者は何を求めているか？ 第 100 回日本泌尿器科学会総会  
サテライトセミナー 横浜市 2012. 4. 21
- 16) 吉田正貴、工藤惇三：一般医における前立腺肥大症治療の再考—主に薬物療法について—  
第 100 回日本泌尿器科学会総会 シンポジウム 横浜市 2012. 4. 23
- 17) 吉田正貴：BPH 患者の治療満足度、BPH 治療の現状と課題 第 62 回日本泌尿器科学会中部  
総会 シンポジウム 富山 2012. 11. 1
- 18) 吉田正貴：QOL 改善を目指した夜間頻尿の治療 第 25 回日本老年泌尿器科学会 ラン  
チョンセミナー 徳島市 2012. 6. 1
- 19) 吉田正貴：生活習慣病と過活動膀胱～一般医に通院中の 40 歳以上の女性患者の実態調  
査から～ 第 19 回日本排尿機能学会 ランチョンセミナー 名古屋 2012. 8. 31
- 20) 大菅陽子、吉田正貴、下方浩史、安藤富士子：メタボリック症候群は LUTS の危険因子  
となるか—4 年間の縦断的研究— 第 19 回日本排尿機能学会 名古屋 2012. 8. 30
- 21) 野尻佳克 吉田正貴 岡村菊夫：monopolar-TURP の切除と止血のバランス 第 26 回日  
本泌尿器内視鏡学会総会 仙台 2012. 11. 23
- 22) 大菅陽子、吉田正貴、下方浩史、安藤富士子：夜間頻尿発生と一日平均歩数との関連—  
地域在住中高齢者における 4 年間の縦断的研究— 第 62 回日本泌尿器科学会中部総会  
富山 2012. 11. 3
- 23) 吉田正貴：排泄障害について 第 8 回「知多地域認知症・看護研修会」—認知症患者様  
とともに歩む会 知多郡 2012. 12. 15
- 24) Kentaro Nakashima, Noboru Koiso, Chieko Kato, Si-Young Song.  
Cellular-scale gene expression analyses by laser capture microdissection for the  
histopathological specimens of the brain fixed with paraformaldehyde and  
immunostained. 第 35 回日本分子生物学会年会、2012 年 12 月 11～14 日、福岡
- 25) 第 64 回西日本泌尿器科学会総会 平成 23 年 11 月 10 日 徳島  
Transforming Growth Factor-beta Inhibits the Proliferation and Differentiation  
in Human Urethral Rhabdosphincter Satellite Cells  
Daisuke Miki<sup>1</sup>, Yasuyuki Akita<sup>1</sup>, Mari Hanada<sup>1</sup>, Kenichi Mori<sup>1</sup>, Yasuhiro Sumino<sup>1</sup>,

Fuminori Sato<sup>1</sup>, Arihiro Hashimoto<sup>2</sup>, Hiromitsu Mimata<sup>1</sup>

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。