

Figure 4. Localization of chondrocytes in kidney, auricle, gastrocnemius, and femur. Typical photographs of immunohistochemical staining of EGFP in kidney, auricle, gastrocnemius, and femur of C57BL/6 mice were shown before transplantation or at 8 and 24 weeks after transplantation. No EGFP-positive cells were noted in any of the organs. In green mice as the positive control, EGFP-positive cells were noted in all of the organs (EGFP). Staining was performed in 3 animals, and similar results were obtained in all. Scale bar: 1 mm (low magnification) and 100 μ m (high magnification).

Table 1. Positivity for EGFP in each organ. Ten sections were randomly prepared from each organ of transplanted mice ($n = 3$), and judged based on the number of EGFP-positive cells as: Grade 1, none; Grade 2, a few; Grade 3, many; and Grade 4, all.

	8 wks			24 wks		
	No.1	No.2	No.3	No.1	No.2	No.3
brain	1	1	1	1	1	1
lung	1	1	1	1	1	1
liver	1	1	1	1	1	1
spleen	1	1	1	1	1	1
kidney	1	1	1	1	1	1
ear flap	1	1	1	1	1	1
muscle	1	1	1	1	1	1
bone	1	1	1	1	1	1

tastasis of cancer is generally known. Metastasis is defined as the spread of cancer cells from the original organ to another one [10]. Various models for metastasis of cancer cells after transplantation have been reported, and cancer metastasis is assumed to be induced by complex interactions of adhesion molecules [11], proteolytic enzymes [12], growth factors [13], vascularization [14], and chemokines [15], as a molecular mechanism.

For example, when U14 squamous cell carcinoma cells were intraperitoneally injected into ICR mice, cervical lymph node metastasis was noted after 15 - 20 days in 53% of the animals [16]. It has been speculated that lymph node metastasis starts with cancer cell infiltration in the sinus in the marginal region, and then cancer cells invaded the cortex and medulla, destroying the lymph node. One of molecules playing an important role in this tumor formation and metastasis was a matrix metalloproteinase (MMP). The MMPs degrades all types of extracellular matrix. The degradation of extracellular matrix was closely involved in metastasis of tumor cells. Among the MMP family, MMP-2 and -9 were considered to be particularly important factors for metastasis.

As another metastasis model, human lung cancer cells (MDA-MB-231 cells) have been known. When those cells were injected into the left ventricle of nude mice, bone metastasis was noted in 51.8% after 5 weeks [17]. In that model, many local and growth factors may be secreted from lung cancer cells, secondarily promoting the action of osteoclasts and advancing bone metastasis.

In the above examples, cancer cells were transplanted through routes by which they could readily metastasize to remote organs, such as intraperitoneal and cardiac injections, resulting in metastasis. In contrast, human liver cancer cells (MHCC97-H, MHCC97-L cell lines) caused lung metastasis even through subcutaneous transplantation in the dorsal region of nude mice. After 5 - 6 weeks of subcutaneous transplantation, 38% - 58% of recipient mice showed lung metastasis [18]. As characteristics of this cancer cell, a large amount of transforming growth factor β (TGF β) was produced. It was speculated that such excess production of growth factor exceptionally enabled the metastasis of cancer cells, although it rarely occurs in subcutaneous transplantation models.

The cultured chondrocytes we investigated are also capable of producing MMPs [19] or growth factors, such as including FGFs and TGF superfamily [20]. However, the cultured chondrocytes conserve the function that they arrest the cell cycle in response to the stimulation for differentiation [21]. Moreover, we applied subcutaneous transplantation that hardly causes metastasis as the transplantation method. Thus, the cultured chondrocytes in this tissue-engineered cartilage may not cause the migration of cells to other organs.

We also used collagen hydrogel in order to prevent

leakage of transplanted cells from the scaffold. Generally, tumorigenicity becomes of concern in tissue engineering, if embryonic stem cells or induced pluripotent stem cells are used as cell sources [22]. These kinds of stem cells express adhesion molecules, such as E-cadherin. These molecules are considered to maintain the stem cell properties by forming aggregates [23]. However, in our tissue-engineered cartilage, the cultured chondrocytes were dispersed and mixed with collagen hydrogel, which may inhibit cadherin-mediated cell adhesion and enhanced matrix signals through integrins, promoting the differentiation [24].

It has been reported that bone marrow-derived mesenchymal stem cells engrafted in other organs, such as cardiac muscle, when the cells were mobilized into the circulation [25]. As the mesenchymal stem cells are origin of chondrocytes, we should discuss the possibility of a similar phenomenon for the cultured chondrocytes. However, the mesenchymal stem cells have very high adhesive ability [26], and are as specific as they fuse with other kind of cells to exhibit pluripotency [27]. As the cultured chondrocytes do not have such prominent adhesiveness, there may be very little possibility that cultured chondrocytes engraft in other organs.

We had prepared the tissue-engineered cartilage using human auricular chondrocytes and clinically applied it for treatment of nasal deformation in cleft lip and palate patients [3]. The risk of migration of transplanted chondrocytes to distant organs should be seriously evaluated, even though there is very little possibility. In this study, no EGFP-positive cells were noted in any of the organs examined, supporting that subcutaneously-transplanted chondrocytes do not migrate to other organs through the circulation. In order to further develop regenerative medicine with cartilage prepared by tissue engineering, we should continue to consider the safety and efficacy of the tissue-engineered constructs from a variety of perspectives.

5. ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan (MEXT, No. 24390451, and 25670847) and from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (MHLW, No. H24-Saisei-Ippan-005).

REFERENCES

- [1] Brittberg, M., Lindahl, A., Nilsson A., Ohlsson, C., Isaksson, O. and Peterson, L. (1994) Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *The New England Journal of Medicine*, **331**, 889-895.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199410063311401>
- [2] Ochi, M., Uchio, Y., Kawasaki, K., Wakitani, S. and Iwasa, J. (2002) Transplantation of cartilage-like tissue made by tissue engineering in the treatment of cartilage defects of the knee. *Journal of Bone & Joint Surgery*, **84**, 571-578.
<http://dx.doi.org/10.1302/0301-620X.84B4.11947>
- [3] Hoshi, K., Fujihara, Y., Asawa, Y., Nishizawa, S., Kanazawa, S., Sakamoto, T., Watanabe, M., Ogasawara, T., Saijo, H., Mori, Y. and Takato, T. (2013) Recent trends of cartilage regenerative medicine and its application to the oral and maxillofacial surgery. *Oral Science International*, **15**, 15-19.
- [4] Yamaoka, H., Tanaka, Y., Nishizawa, S., Asawa, Y., Takato, T. and Hoshi, K. (2010) The application of atelocollagen gel in combination with porous scaffolds for cartilage tissue engineering and its suitable conditions. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **93**, 123-132.
<http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.32509>
- [5] Abedin, M., Tintut, Y. and Demer, L.L. (2004) Mesenchymal stem cells and the artery wall. *Circulation Research*, **95**, 671-676.
<http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.0000143421.27684.12>
- [6] Asawa, Y., Sakamoto, T., Komura, M., Watanabe, M., Nishizawa, S., Takazawa, Y., Takato, T. and Hoshi, K. (2012) Early stage foreign body reaction against biodegradable polymer scaffolds affects tissue regeneration during the autologous transplantation of tissue-engineered cartilage in the canine model. *Cell Transplant*, **21**, 1431-1442.
<http://dx.doi.org/10.3727/096368912X640574>
- [7] Fujihara, Y., Takato, T. and Hoshi, K. (2010) Immunological response to tissue-engineered cartilage derived from auricular chondrocytes and a PLLA scaffold in transgenic mice. *Biomaterials*, **31**, 1227-1234.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.10.053>
- [8] Takahashi, T., Ogasawara, T., Kishimoto, J., Liu, G., Asato, H., Nakatsuka, T., Uchinuma, E., Nakamura, K., Kawaguchi, H., Chung, U.I., Takato, T. and Hoshi, K. (2005) Synergistic effects of FGF-2 with insulin or IGF-I on the proliferation of human auricular chondrocytes. *Cell Transplant*, **14**, 683-693.
<http://dx.doi.org/10.3727/000000005783982675>
- [9] Holleran, J.L., Miller, C.J., Edgehouse, N.L., Pretlow, T.P. and Culp, L.A. (2002) Differential experimental micrometastasis to lung, liver, and bone with lacZ-tagged CWR22R prostate carcinoma cells. *Clinical & Experimental Metastasis*, **19**, 17-24.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1013833111207>
- [10] Nguyen, D.X., Bos, P.D. and Massagué, J. (2009) Metastasis: From dissemination to organ-specific colonization. *Nature Reviews Cancer*, **9**, 274-284.
<http://dx.doi.org/10.1038/nrc2622>
- [11] Gao, J.L., Ji, X., He, T.C., Zhang, Q., He, K., Zhao, Y., Chen, S.H. and Lv, G.Y. (2013) Tetrandrine Suppresses Cancer Angiogenesis and Metastasis in 4T1 Tumor Bearing Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2013**, 265061.
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/265061>
- [12] Matsumoto, Y., Zhang, Q., Akita, K., Nakada, H., Hamamura, K., Tsuchida, A., Okajima, T., Furukawa, K., Urano, T. and Furukawa, K. (2013) Trimeric Tn antigen on Syndecan-1 produced by ppGalNAc-T13 enhances

- cancer metastasis via a complex formation with integrin $\alpha 5 \beta 1$ and matrix metalloproteinase 9. *Journal of Biological Chemistry*, **288**, 24264-24276. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M113.455006>
- [13] Chien, M.H., Lee, L.M., Hsiao, M., Wei, L.H., Chen, C.H., Lai, T.C., Hua, K.T., Chen, M.W., Sun, C.M. and Kuo, M.L. (2013) Inhibition of metastatic potential in breast carcinoma *in vivo* and *in vitro* through targeting VEGFRs and FGFRs. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2013**, 718380. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/718380>
- [14] Huang, Q.B., Ma, X., Zhang, X., Liu, S.W., Ai, Q., Shi, T.P., Zhang, Y., Gao, Y., Fan, Y., Ni, D., Wang, B.J., Li, H.Z. and Zheng, T. (2013) Down-regulated miR-30a in clear cell renal cell carcinoma correlated with tumor hematogenous metastasis by targeting angiogenesis-specific DLL4. *PLoS One*, **8**, e67294. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0067294>
- [15] Yoshimura, T., Howard, O.M., Ito, T., Kuwabara, M., Matsukawa, A., Chen, K., Liu, Y., Liu, M., Oppenheim, J.J. and Wang, J.M. (2013) Monocyte chemoattractant protein-1/CCL2 produced by stromal cells promotes lung metastasis of 4T1 murine breast cancer cells. *PLoS One*, **8**, e58791. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0058791>
- [16] Zhao, X., Pang, L., Qian, Y., Wang, Q., Li, Y., Wu, M., Ouyang, Z., Gao, Z. and Qiu, L. (2013) An animal model of buccal mucosa cancer and cervical lymph node metastasis induced by U14 squamous cell carcinoma cells. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **5**, 1083-1088. <http://dx.doi.org/10.3892/etm.2013.938>
- [17] Jeong, J., Lee, K.S., Choi, Y.K., Oh, Y.J. and Lee, H.D. (2011) Preventive effects of zoledronic acid on bone metastasis in mice injected with human breast cancer cells. *Journal of Korean Medical Science*, **26**, 1569-1575. <http://dx.doi.org/10.3346/jkms.2011.26.12.1569>
- [18] Li, G.C., Ye, Q.H., Dong, Q.Z., Ren, N., Jia, H.L. and Qin, L.X. (2012) TGF beta1 and related-Smads contribute to pulmonary metastasis of hepatocellular carcinoma in mice model. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **14**, 93. <http://dx.doi.org/10.1186/1756-9966-31-93>
- [19] Asawa, Y., Ogasawara, T., Takahashi, T., Yamaoka, H., Nishizawa, S., Matsudaira, K., Mori, Y., Takato, T. and Hoshi, K. (2009) Aptitude of auricular and nasoseptal chondrocytes cultured under a monolayer or three-dimensional condition for cartilage tissue engineering. *Tissue Engineering Part A*, **15**, 1109-1118. <http://dx.doi.org/10.1089/ten.tea.2007.0218>
- [20] Yamaoka, H., Nishizawa, S., Asawa, Y., Fujihara, Y., Ogasawara, T., Yamaoka, K., Nagata, S., Takato, T. and Hoshi, K. (2010) Involvement of fibroblast growth factor 18 in dedifferentiation of cultured human chondrocytes. *Cell Proliferation*, **43**, 67-76. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2184.2009.00655.x>
- [21] Liu, G., Kawaguchi, H., Ogasawara, T., Asawa, Y., Kishimoto, J., Takahashi, T., Chung, U.I., Yamaoka, H., Asato, H., Naka-mura, K., Takato, T. and Hoshi, K. (2007) Optimal combination of soluble factors for tissue engineering of permanent cartilage from cultured human chondrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, **282**, 20407-20415. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M608383200>
- [22] Menendez, S., Camus, S., Herreria, A., Paramonov, I., Morera, L.B., Collado, M., Pekarik, V., Maceda, I., Edel, M., Consiglio, A., Sanchez, A., Li, H., Serrano, M. and Belmonte, J.C. (2012) Increased dosage of tumor suppressors limits the tumorigenicity of iPS cells without affecting their pluripotency. *Aging Cell*, **11**, 41-50. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1474-9726.2011.00754.x>
- [23] Chen, T., Yuan, D., Wei, B., Jiang, J., Kang, J., Ling, K., Gu, Y., Li, J., Xiao, L. and Pei, G. (2010) E-cadherin-mediated cell-cell contact is critical for induced pluripotent stem cell generation. *Stem Cells*, **28**, 1315-1325. <http://dx.doi.org/10.1002/stem.456>
- [24] Yamaoka, H., Asato, H., Ogasawara, T., Nishizawa, S., Takahashi, T., Nakatsuka, T., Koshima, I., Nakamura, K., Kawaguchi, H., Chung, U.I., Takato, T. and Hoshi, K. (2006) Cartilage tissue engineering using human auricular chondrocytes embedded in different hydrogel materials. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **78**, 1-11. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.30655>
- [25] Barbash, I.M., Chouraqui, P., Baron, J., Feinberg, M.S., Etzion, S., Tessone, A., Miller, L., Guetta, E., Zipori, D., Kedes, L.H., Kloner, R.A. and Leor, J. (2003) Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation*, **108**, 863-868. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000084828.50310.6A>
- [26] Liu, G., Iwata, K., Ogasawara, T., Watanabe, J., Fukazawa, K., Ishihara, K., Asawa Y., Fujihara, Y., Chung, U.L., Moro, T., Takatori, Y., Takato, T., Nakamura, K., Kawaguchi, H. and Hoshi, K. (2010) Selection of highly osteogenic and chondrogenic cells from bone marrow stromal cells in biocompatible polymer-coated plates. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **92**, 1273-1282. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.32460>
- [27] Terada, N., Hamazaki, T., Oka, M., Hoki, M., Mastalerz, D.M., Nakano, Y., Meyer, E.M., Morel, L., Petersen, B.E. and Scott, E.W. (2002) Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*, **416**, 542-545. <http://dx.doi.org/10.1038/nature730>

Usefulness of Agarose Mold as a Storage Container for Three-Dimensional Tissue-Engineered Cartilage

Yoshiyuki Mori¹, Sanshiro Kanazawa^{2,3}, Makoto Watanabe^{2,3}, Hideyuki Suenaga¹, Kazumi Okubo^{1*}, Satoru Nagata⁴, Yuko Fujihara^{2,3}, Tsuyoshi Takato^{1,2}, Kazuto Hoshi^{1,2,3}

¹Department of Sensory and Motor System Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan;

²Department of Cartilage & Bone Regeneration (Fujisoft), Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan;

³Division of Tissue Engineering, The University of Tokyo Hospital, Tokyo, Japan; ⁴NAGATA Microtia and Reconstructive Plastic Surgery Clinic, Saitama, Japan.

Email: *pochi-tyk@umin.net

Received July 4th, 2013; revised August 1st, 2013; accepted August 10th, 2013

Copyright © 2013 Yoshiyuki Mori *et al.* This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

The efficiency of substance exchange may be decreased when the thickness and volume of such a tissue-engineered cartilage that is composed of cultured cells and porous scaffold increase. Moreover, during the transport of this construct with complicated shapes, excessive and focal mechanical loading may cause deformation. The establishment of incubation and transport methods is necessary for the three-dimensional tissue-engineered cartilage. Therefore, we investigated the preparation of an agarose mold with a concavity similar to the shape of 3-dimensional tissue-engineered cartilage to prevent excessive and focal concentration of stress, while avoiding interference with substance exchange as much as possible. Firstly, we investigated the preparation at 1% - 4% agarose concentrations. Since the mechanical strength was insufficient at 1%, 2% was regarded as appropriate. Using 2% agarose, we prepared a mold with a 5 × 5 × 5 mm concavity to accommodate tissue-engineered cartilage (5 × 5 × 5 mm mixture of 1.5 × 10⁷ cells and collagen gel), and stored the regenerative cartilage in it for 2 and 24 hours. On comparison with storage in a plastic mold with the same shape in which substance exchanged from side and bottom was impossible, although no significant differences were noted in the number or viability of cells after 2 hours, these were markedly reduced in the plastic mold after 24 hours. It was confirmed that favorable cell numbers and viability were maintained by immediately retaining the regenerative cartilage in the culture medium in the agarose mold and keeping the temperature at 37°C. Since this agarose mold also buffers against mechanical forces loaded on the three-dimensional regenerative tissue, it may be useful as a container for storage and transport of large-sized three-dimensional regenerative tissue.

Keywords: Tissue Engineering; Cartilage; Container; Storage; Transport

1. Introduction

Research and development of regenerative medicine are progressing for various organs [1]. The clinical application of cartilage regenerative medicine has particularly progressed, and a treatment method for cartilage defects involving injecting a gelatinous mixture or a cell suspension has already been clinically applied [2,3]. However, its application is limited to local articular defects or silicon removal after cosmetic surgery of the nose. We introduced a porous material of scaffold and succeeded in the development of tissue-engineered cartilage with a three-dimensional shape and mechanical strength [4,5]. Briefly, we regenerate cartilage with atelocollagen hy-

drogel and a PLLA porous scaffold used as a composite scaffold and apply it for treatment of nasal deformation in patients with cleft lip and palate [6]. The thickness, length, and width of this regenerated cartilage were 3 mm, 5 cm, and 6 mm, respectively, making it larger than previous regenerative cartilage. For this large-sized regenerative tissue prepared with the porous material, techniques of incubation containing cells with a higher density in the end-product and its transport to an operation theater are necessary. However, the efficiency of substance exchange is quite low in such a large-sized regenerative tissue, and central necrosis occurs [7]. In addition, a shape that fits specific regenerative tissue should be given to the storage container because such a construct prepared with a porous material has a complex

*Corresponding author.

shape simulating the human body.

Thus, we focused on agarose, which is used for general biological experiments. Agarose can be readily obtained, sterilized, and purchased cheaply, being very advantageous. Agarose is a plant-derived glycoprotein, and once it is gelled, it has very low adhesiveness to mammalian cells and very little biological influence on the regenerative tissue [8,9].

As it is used as a matrix of electrophoresis, substance diffusibility is favorable, which is advantageous for the storage and culture of regenerative tissue containing abundant cells. In addition, since its gelation properties are marked, the liquid phase can be converted to the gel phase without changing the shape by temperature adjustment during culture and transport, which enables the preparation of a mold with a concavity fitting the shape of regenerative tissue. Mechanical forces loaded on regenerative tissue can be dispersed and reduced using this concave mold. We decided to prepare a mold for regenerative tissue using agarose with the various advantages described above, and use it for culture and transport. In the present study, to investigate the actual usefulness of this agarose mold for the culture and transport of regenerative tissue, we optimized the agarose mold, actually used it for the culture of tissue-engineered cartilage under various conditions, and evaluated the cell properties in the regenerative cartilage. An agarose concentration providing sufficient mechanical strength while allowing smooth substance exchange was established, and agarose molds were prepared at this concentration and used for the culture and storage of regenerative cartilage. The behavior of chondrocytes contained in the regenerative cartilage was evaluated, and the usefulness of the agarose mold was finally investigated.

2. Materials and Methods

2.1. Preparation of Agarose Mold

Agarose (Takara Bio, Otsu, Japan) was used. Agarose was mixed with MEM at a concentration of 1% - 4%, dissolved at 121°C, and agarose fragments with a 15-mm diameter and 5-mm height were prepared at room temperature. To prepare agarose molds, 6 mL of autoclaved agarose solution was added to a 6-well plate (BD, Carlsbad, USA) to create 5 × 5 × 5-mm concavities. For comparison, 5 × 5 × 5-mm plastic molds (Simport, Beloil, Canada) were used.

2.2. Isolation and Analysis of Chondrocytes

After obtaining informed consent, the perichondrium was detached from about 2 - 3 g of residual auricular cartilage surgically excised from a microtia patient. The cartilage was cut into 1-mm³ pieces using a scalpel and incubated in 0.15% collagenase solution at 37°C for 24 hours with

shaking in a thermostat [10]. The lysate was filtered through a cell strainer with a pore size of 100 μm to remove residues, and then centrifuged at 500 × g for 5 minutes to isolate human chondrocytes. The isolated chondrocytes were seeded in a collagen type I-coat plastic tissue culture dish at a density of 2500 cells/cm², and cultured in chondrocyte growth medium (DMEM/F-12 containing 5% human serum, 100 ng/mL FGF-2, and 5 μg/mL insulin) [11,12] in a 37°C /5% CO₂ incubator. The medium was changed twice a week. Cells were treated with trypsin-EDTA solution and passaged before reaching confluence. After 2 passages, cells were collected and subjected to experiments.

Human auricular chondrocytes and 3% atelocollagen gel (KOKEN, Tokyo, Japan) were mixed, adjusting the cell concentration to 1.0 × 10⁸ cells/ml and gel concentration to 1% as regenerative cartilage [4,13].

2.3. Evaluation Method

The mechanical strength was measured using Venustron (Axiom, Fukushima, Japan). Under computer control, the motor-driven sensor unit automatically presses down on the surface of the materials and provides an indentation force and a decrease in the resonant frequency. The resonant frequency of the sensor was set to 50 Hz, while the maximum depth of indentation was 1 mm. Young's modulus can be calculated by the indentation force and the decrease in the resonant frequency, based on the principles previously reported [14,15]. It was measured 5 times, and the mean and standard deviation were calculated. For measurements of the cell properties, the sample was treated with 8 mL of 0.3% collagenase at 37°C until collagen was digested (about 60 minutes), and the numbers of viable and dead cells, as well as cell viability, were determined using NucleoCounter (Chemometec, Gydevang, Denmark) [16].

3. Results

Firstly, the agarose concentration to prepare agarose molds was evaluated. One to four percent agarose gel was prepared, and the mechanical strength was measured. Young's modulus of agarose gel increased in a concentration-dependent manner, but the strength of 1% agarose gel was less than 100 kPa and insufficient to retain the external shape. The strength of a 2% or higher agarose gel exceeded 200 kPa and could retain the external shape (Figure 1). Considering that a low concentration is advantageous for substance diffusion, we adopted a 2% agarose concentration for agarose molds.

Agarose molds to retain regenerative cartilage were prepared using 2% agarose gel. In order to evaluate the usefulness of this agarose mold, we made the regenerative cartilage consisting of cultured chondrocytes (1.5 ×

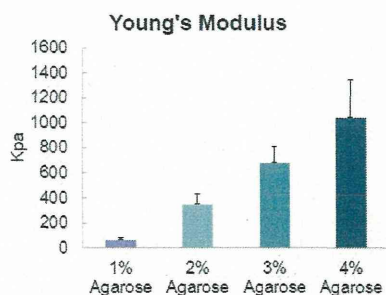


Figure 1. Mechanical strength of agarose. The strength of agarose gel increased in a concentration-dependent manner.

10^7 cells) and atelocollagen (150 μ L): in the agarose mold in a humid bath (Figure 2, Group A), in the agarose mold and combined with medium (Figure 2, Group B), or in a plastic mold with no substance permeability in a humid bath (Figure 2, Group C) at 37°C for 2 hours. When the mechanical strength of the regenerative cartilage was measured, Young's modulus was about 20 kPa in Groups A and B, but less than 10 kPa in Group C (Figure 2 Young's modulus). On the other hand, the indentation force was about 2 g in all groups, showing no marked difference among the groups (Figure 2 Pressure), nor was there a marked decrease in the resonant frequency (Figure 2 Tactile).

The numbers of chondrocytes and the cell viability of the regenerative cartilages were measured. The number of administered cells was 1.5×10^7 cells. The total number of cells after 2-hour storage at 37°C was approximately 1.3×10^7 cells in all groups, showing no marked difference. The numbers of dead and viable cells and the cell viability were 6×10^5 , 1.2×10^7 , and approximately 95%, respectively, in all groups, showing no significant differences among the groups (Figure 3).

In each group, the molds were stored for another 22 hours in a humid bath at 37°C (Figure 4, Group H), combined with medium and stored at 37°C (Figure 4, Group M), or in a humid bath at 4°C (Figure 4, Group L). The total number of cells markedly decreased in the groups both contained in the plastic mold and stored at 37°C. The number of viable cells and the cell viability were lower in the groups contained in the plastic mold under all conditions. In the group contained in the agarose mold and combined with medium (Figure 4, Group B), the number of cells and the cell viability were still relatively favorable after 24 hours. In the group contained in the agarose mold and stored at 4°C (Figure 4, Group AL) and the group in the agarose mold, combined with medium, and stored at 37°C (Figure 4, Group B), approximately 80% of administered cells were retained after 24 hours, and the cell viability was higher than 90%, suggesting that these may be used as favorable storage conditions.

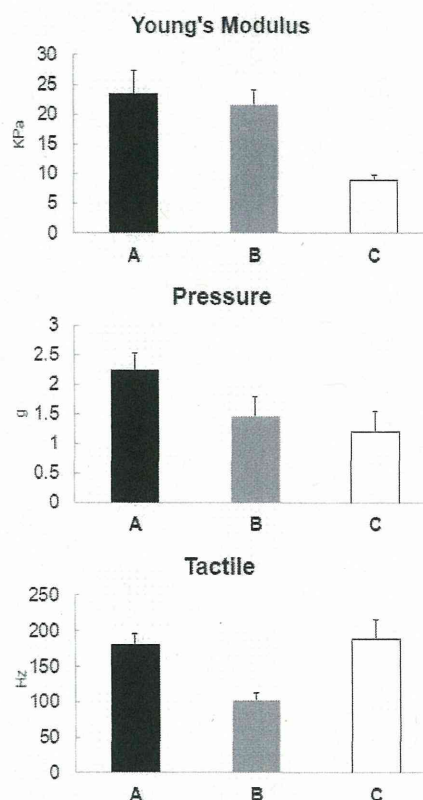
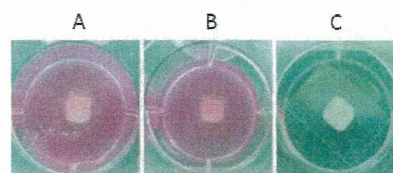


Figure 2. Mechanical strength of regenerated cartilage prepared using the agarose mold. Cultured human chondrocytes (1.5×10^7 cells) were mixed with 150 μ L of 1% atelocollagen and placed in the agarose (A, B) and plastic (C) molds to prepare regenerative cartilage. The regenerative cartilages prepared at 37°C for 2 hours: in the agarose mold (A), in the agarose mold with 2 mL of MEM (B), and in a plastic mold with no substance permeability (C), were compared. Young's modulus was calculated by indentation force (Pressure) and a decrease in resonant frequency (Tactile).

4. Discussion

In the present study, the agarose mold was used as a container to preserve and store regenerative tissue with an about 5-mm thickness in which cells were present at a high density (10^8 /mL). It was suggested that substance exchange can be maintained for 24 hours in the agarose mold, and cell viability in the tissue can be retained. In addition, the agarose mold stably holds the tissue-engineered constructs and buffers physical impacts, which are very advantageous for the transport of vulnerable

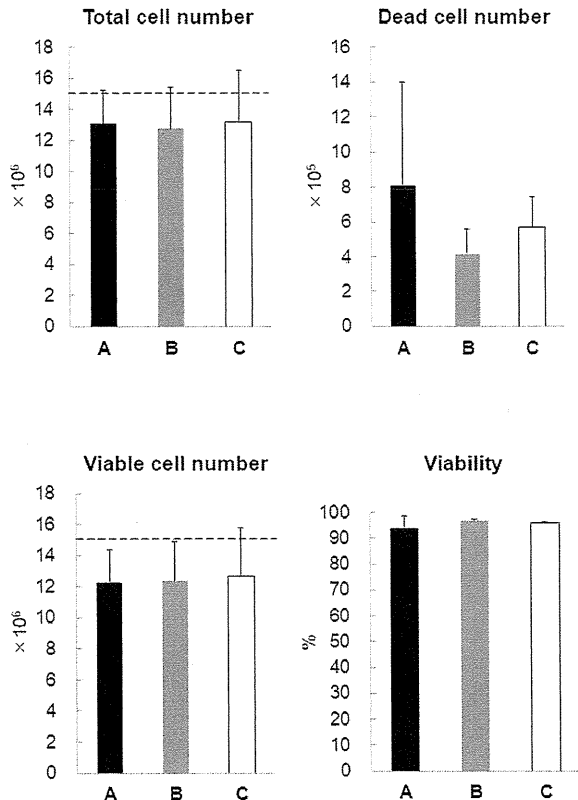


Figure 3. Cell properties after 2-hour culture of cartilage prepared using the agarose mold. Cultured human chondrocytes (1.5×10^7 cells) were mixed with $150 \mu\text{L}$ of 1% atelocollagen and placed into the agarose (A, B) and plastic (C) molds to prepare regenerative cartilage. The regenerative cartilages were prepared at 37°C for 2 hours in the agarose mold (A), in the agarose mold with 2 mL of MEM (B), and in a plastic mold with no substance permeability (C). After 2 hours, the cells were treated with collagenase and collected, and the number and viability of cells were evaluated.

regenerative tissue before transplantation. Actually, it is becoming increasingly successful as a culture and transport container for the end-products of three-dimensional tissue-engineered cartilage tissue ($5 \text{ cm} \times 6 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$) for delivery to operating theater (**Figure 5**) [6]. Regenerative tissue culture methods include the simple placement of tissue in a vessel with some culture medium. This method does not require a specific device and can be readily prepared, but the tissue may be damaged on contacting the vessel. Moreover, excessive shear stress may be loaded by the culture medium and negatively influence cells. Since the regenerative tissue before transplantation is very unstable, this method may be inappropriate.

Methods to overcome these problems have been proposed as the floating culture of regenerative tissue. It was reported that the large-sized tissue-engineered constructs were cultured, using rotating wall vessel (RWV) [17].

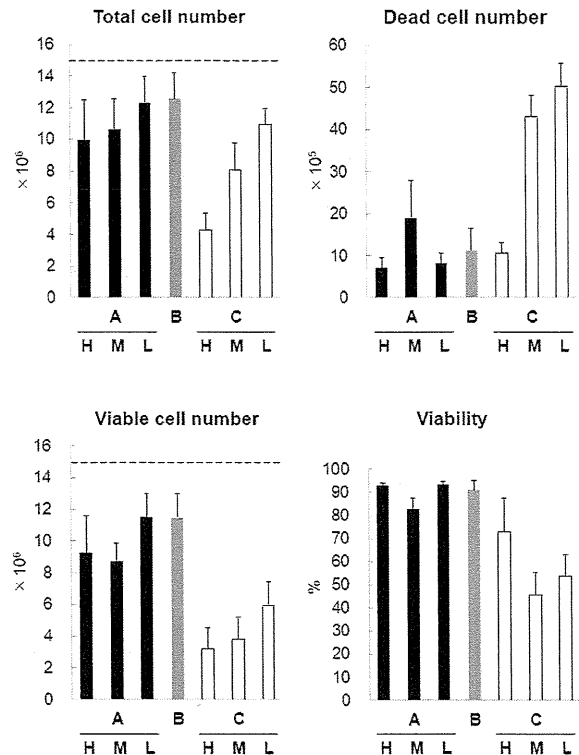


Figure 4. Cell properties after 24-hour culture of cartilage prepared using the agarose mold. Cultured human chondrocytes (1.5×10^7 cells) were mixed with $150 \mu\text{L}$ of 1% atelocollagen and placed into the agarose (A, B) and plastic (C) molds to prepare regenerative cartilage. The regenerative cartilages were prepared at 37°C for 2 hours in the agarose mold (A), in the agarose mold with 2 mL of MEM (B), and in a plastic mold with no substance permeability (C). In each group, the cartilage was retained in the mold for another 22 hours in a 37°C humid bath (H), with 2 mL of MEM at 37°C (M), or in a 4°C humid bath (L). The cells were treated with collagenase and collected, and the number and viability of cells were evaluated.

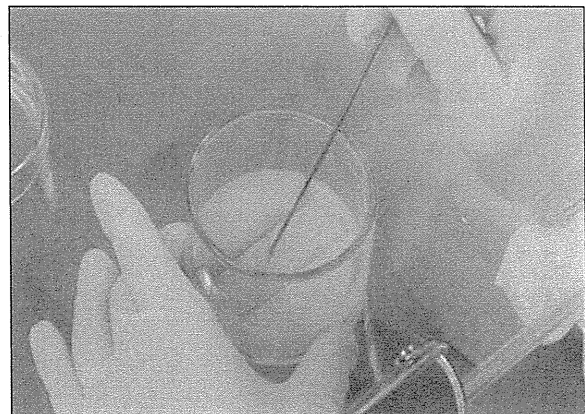


Figure 5. An agarose mold used for clinical application. Cartilage was regenerated for clinical application using the 2% agarose mold [6].

When the RWV was used to culture the mesenchymal stem cells, favorable results of cartilage regeneration have been found [18]. However, the floating culture requires specific devices, a problem remains with regard to transport, and, basically, only rounded shapes, such as spherical and circular shapes, can be used because mechanical forces can be spread out. Gyrotory culture was also reported [19], but, similarly, tissue can be cultured only in rounded shapes. Thus, it is difficult to prepare tissue-engineered cartilage fitting the shape required, and these methods may be inapplicable.

Retention in medium with a mesh or cage is also considered. When tissue is fixed using a mesh or cage, mechanical stress may be concentrated on a specific region of a line or a point, and change the shape during transport or culture. Thus, fixation in culture medium using a mesh or cage may be basically difficult. As the mesh or cage may be processed adjusting it to the shape of regenerated tissue, it must be custom-made for individual cases, which is economically inefficient.

Thus, we investigated a material through which nutrition and oxygen are readily exchanged, such as hydrogel, with marked gelation properties, high mechanical strength, and flexibility to readily change shape, and prepared a hydrogel mold. For the material of hydrogel, we considered that with favorable substance exchangeability and minimum influence on tissue. There are various types of hydrogel [13], but we focused on agarose because it has marked gelation properties and weak cell-adhesive properties and toxicity [9].

Agarose is comprised of D-galactose bound at C1 and C3 and 3,6-unhydro-L-galactose bound at C1 and C4. These 2 types of sugar alternately bond, forming a repeat bonding neutral polysaccharide [9]. Agar was another choice. Agar is prepared by extracting mucilage from Rhodophyceae, mainly seaweeds of Gelidiaceae and Gracilaria, and removing water. The main components of agar are polysaccharides, and it is used as a material for agarose production. Agar for microbial culture matrix is also available, but it contains seaweed-derived minerals, crude proteins, and other contaminants, in addition to saccharides [8]. Thus, purer agarose is more readily used for regenerative medicine requiring strict quality control. This may be advantageous to retain regenerative medicine products.

In the plastic mold, no nutrient or oxygen may have diffused and waste may have accumulated, reducing viability. Substances can diffuse through the agarose mold, which may be very advantageous in structures for regenerative medicine containing cells at a high density. The causes of cell death include dryness, in addition to the inhibition of diffusion. Cells are very sensitive to dryness, and extracellular matrix-detached cells are readily exposed to dryness. When culture medium was added im-

mediately after placing the tissue-engineered constructs, the cell viability was very high, although the survival rate was rather low when culture medium was added later. For atelocollagen mixed with cells as a base material of tissue regeneration, an acidic product was used [20]. The addition of a large volume of neural-buffered culture medium immediately after mixing cells with atelocollagen may have buffered the pH of atelocollagen and promoted cell survival. When the agarose mold was used with no culture medium, cell viability was superior in the tissue stored at 4°C to that at 37°C, suggesting that a low temperature was advantageous to maintain humidity, preventing drying.

Regenerative medicine products to be introduced in medical care in the future will probably become larger and more complex, and therefore, culture and transport methods for these large regenerative tissues are essential for the generalization and advancement of regenerative medicine. We are actually using the mold for culture and storage of 5 cm × 6 mm × 3-mm dome-shaped tissue-engineered cartilage prepared with a porous material and atelocollagen [6]. It is necessary to develop a culture container with a higher substance exchange efficiency by accumulating experience and clinical data.

5. Conclusion

The agarose mold seemed useful as a container for storage and transport of large-sized three-dimensional regenerative tissue. Because this kind of mold is available for both culture and transport of the large regenerative tissues, it will contribute to for the generalization and advancement of regenerative medicine.

6. Acknowledgements

We thank Ms. Yuko Motoki and Mr. Tomoaki Sakamoto for technical support. This work was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan (MEXT, No. 24390451, 24593050, and 25670847) and from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (MHLW, No. H24-Saisei-Ippan-005), and Research and Development Programs for Self-maturing Device from the New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO).

REFERENCES

- [1] J. A. Baddour, K. Sousounis and P. A. Tsonis, "Organ Repair and Regeneration: An Overview," *Birth Defects Research C: Embryo Today*, Vol. 96, No. 1, 2012, pp. 1-29. doi:10.1002/bdrc.21006
- [2] M. Ochi, Y. Uchio, K. Kawasaki, S. Wakitani and J. Iwasa, "Transplantation of Cartilage-Like Tissue Made by Tissue Engineering in the Treatment of Cartilage Defects

- of the Knee," *The Journal of Bone & Joint Surgery British*, Vol. 84, No. 4, 2002, pp. 571-578.
[doi:10.1302/0301-620X.84B4.11947](https://doi.org/10.1302/0301-620X.84B4.11947)
- [3] H. Yanaga, K. Yanaga, K. Imai, M. Koga, C. Soejima and K. Ohmori, "Clinical Application of Cultured Autologous Human Auricular Chondrocytes with Autologous Serum for Craniofacial or Nasal Augmentation and Repair," *Plastic and Reconstructive Surgery*, Vol. 117, 2006, pp. 2019-2030.
- [4] H. Yamaoka, Y. Tanaka, S. Nishizawa, Y. Asawa, T. Takato and K. Hoshi, "The Application of Atelocollagen Gel in Combination with Porous Scaffolds for Cartilage Tissue Engineering and Its Suitable Conditions," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 93, 2010, pp. 123-132.
- [5] Y. Tanaka, H. Yamaoka, S. Nishizawa, S. Nagata, T. Ogasawara, Y. Asawa, Y. Fujihara, T. Takato and K. Hoshi, "The Optimization of Porous Polymeric Scaffolds for Chondrocyte/Atelocollagen Based Tissue-Engineered Cartilage," *Biomaterials*, Vol. 31, No. 16, 2010, pp. 4506-4516. [doi:10.1016/j.biomaterials.2010.02.028](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.02.028)
- [6] K. Hoshi, Y. Fujihara, Y. Asawa, S. Nishizawa, S. Kanazawa, T. Sakamoto, M. Watanabe, T. Ogasawara, H. Saijo and T. Takato, "Recent Trends of Cartilage Regenerative Medicine and Its Application to the Oral and Maxillofacial Surgery," *Oral Science International*, Vol. 10, No. 1, 2013, pp. 15-19. [doi:10.1016/S1348-8643\(12\)00049-3](https://doi.org/10.1016/S1348-8643(12)00049-3)
- [7] S. Sekiya, T. Shimizu and T. Okano, "Vascularization in 3D Tissue Using Cell Sheet Technology," *Regenerative Medicine*, Vol. 8, No. 3, 2013, pp. 371-377. [doi:10.2217/rme.13.16](https://doi.org/10.2217/rme.13.16)
- [8] D. A. Rees, "Structure, Conformation, and Mechanism in the Formation of Polysaccharide Gels and Networks," *Advances in Carbohydrate Chemistry & Biochemistry*, Vol. 24, 1969, pp. 267-332. [doi:10.1016/S0065-2318\(08\)60352-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2318(08)60352-2)
- [9] S. Arnott, A. Fulmer, W. E. Scott, I. C. Dea, R. Moorhouse and D. A. Rees, "The Agarose Double Helix and Its Function in Agarose Gel Structure," *Journal of Molecular Biology*, Vol. 90, No. 2, 1974, pp. 269-284. [doi:10.1016/0022-2836\(74\)90372-6](https://doi.org/10.1016/0022-2836(74)90372-6)
- [10] K. Yonenaga, S. Nishizawa, Y. Fujihara, Y. Asawa, S. Kanazawa, S. Nagata, T. Takato and K. Hoshi, "The Optimal Conditions of Chondrocyte Isolation and Its Seeding in the Preparation for Cartilage Tissue Engineering," *Tissue Engineering Part C: Methods*, Vol. 16, No. 6, 2010, pp. 1461-1469. [doi:10.1089/ten.tec.2009.0597](https://doi.org/10.1089/ten.tec.2009.0597)
- [11] Y. Tanaka, T. Ogasawara, Y. Asawa, H. Yamaoka, S. Nishizawa, Y. Mori, T. Takato and K. Hoshi, "Growth Factor Contents of Autologous Human Sera Prepared by Different Production Methods and Their Biological Effects on Chondrocytes," *Cell Biology International*, Vol. 32, 2008, pp. 505-514. [doi:10.1016/j.cellbi.2007.12.012](https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2007.12.012)
- [12] T. Takahashi, T. Ogasawara, J. Kishimoto, G. Liu, H. Asato, T. Nakatsuka, E. Uchinuma, K. Nakamura, H. Kawaguchi, T. Takato and K. Hoshi, "Synergistic Effects of FGF-2 with Insulin or IGF-I on the Proliferation of Human Auricular Chondrocytes," *Cell Transplant*, Vol. 14, No. 9, 2005, pp. 683-693. [doi:10.3727/000000005783982675](https://doi.org/10.3727/000000005783982675)
- [13] H. Yamaoka, H. Asato, T. Ogasawara, S. Nishizawa, T. Takahashi, T. Nakatsuka, I. Koshima, K. Nakamura, H. Kawaguchi, U. I. Chung, T. Takato and K. Hoshi, "Cartilage Tissue Engineering Using Human Auricular Chondrocytes Embedded in Different Hydrogel Materials," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 78, No. 1, 2006, pp. 1-11. [doi:10.1002/jbm.a.30655](https://doi.org/10.1002/jbm.a.30655)
- [14] R. Aoyagi and T. Yoshida, "Frequency Equations of an Ultrasonic Vibrator for the Elastic Sensor Using a Contact Impedance Method," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 5B, 2004, pp. 3204-3209. [doi:10.1143/JJAP.43.3204](https://doi.org/10.1143/JJAP.43.3204)
- [15] Y. Kang, J. Yang, S. Khan, L. Anissian and G. A. Ameer, "A New Biodegradable Polyester Elastomer for Cartilage Tissue Engineering," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 77, No. 2, 2006, pp. 331-339. [doi:10.1002/jbm.a.30607](https://doi.org/10.1002/jbm.a.30607)
- [16] K. Yonenaga, S. Nishizawa, M. Akizawa, Y. Asawa, Y. Fujihara, T. Takato and K. Hoshi, "Utility of NucleoCounter for the Chondrocyte Count in the Collagenase Digest of Human Native Cartilage," *Cytotechnology*, Vol. 62, 2010, pp. 539-545. [doi:10.1007/s10616-010-9304-y](https://doi.org/10.1007/s10616-010-9304-y)
- [17] Y. Ohyabu, N. Kida, H. Kojima, T. Taguchi, J. Tanaka and T. Umemura, "Cartilaginous Tissue Formation from Bone Marrow Cells Using Rotating Wall Vessel (RWV) Bioreactor," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 95, No. 5, 2006, pp. 1003-1008. [doi:10.1002/bit.20892](https://doi.org/10.1002/bit.20892)
- [18] S. Sakai, H. Mishima, T. Ishii, H. Akaogi, T. Yoshioka, Y. Ohyabu, F. Chang, N. Ochiai and T. Umemura, "Rotating Three-Dimensional Dynamic Culture of Adult Human Bone Marrow-Derived Cells for Tissue Engineering of Hyaline Cartilage," *Journal of Orthopaedic Research*, Vol. 27, No. 4, 2009, pp. 517-521. [doi:10.1002/jor.20566](https://doi.org/10.1002/jor.20566)
- [19] K. S. Furukawa, H. Suenaga, K. Toita, A. Numata, J. Tanaka, T. Ushida, Y. Sakai and T. Tateishi, "Rapid and Large-Scale Formation of Chondrocyte Aggregates by Rotational Culture," *Cell Transplant*, Vol. 12, 2003, pp. 475-479.
- [20] C. Cohen, "Optical Rotation and Helical Polypeptide Chain Configuration in Collagen and Gelatin," *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, Vol. 1, No. 1, 1955, pp. 203-214. [doi:10.1083/jcb.1.3.203](https://doi.org/10.1083/jcb.1.3.203)

フォーラム

大学病院間の共同 IRB 等の体制 —大学病院臨床試験アライアンスにおける検討—

松本和彦^{*1} 荒川義弘^{*2} 小池竜司^{*3} 中村哲也^{*4}
花岡英紀^{*5} 本間真人^{*6} 吉澤弘久^{*7}
大学病院臨床試験アライアンス共同 IRB 推進検討作業班

1. はじめに

本稿においては「IRB (Institutional Review Board)」を一般的な治験審査委員会を指す用語として使用し、「共同 IRB 等」の定義は、「治験等の効率化に関する報告書」(平成 23 年 6 月 30 日医政研発 0630 第 1 号)¹⁾ であり、「他の治験実施医療機関の長からの依頼により審査を行うことができる IRB, 複数の治験実施医療機関の長が共同で設置する共同 IRB を含む。」とする。

改正 GCP (2008 年 2 月 29 日) の 2008 年 4 月からの施行により, 実施医療機関ごとの IRB 設置原則が廃止され共同 IRB 等への審査依頼が可能となった²⁾。これまで大学病院では地域の治験ネットワークを構築している場合などで他施設の治験審査を受け入れることはあっても, 自施設の治験審査を, 自施設と関連のない他施設の IRB に申請した経験はほとんどなかった。しかし, 今回の改正 GCP の施行により, 大学病院などにおいても, 共同 IRB 等の活用について検討する段階にきている。大学病院が共同 IRB 等を活用するためには, 病院執行部の意見が重要であり, 最終的にその承認が必要となる。そのため大学病院間の治験ネットワークで共同 IRB 等の体制を構築するには, すべての大学病院の運営方針, 経営方針にそった体制を構築しなければならない。その一方で, 治験依頼者の立場からは共同 IRB 等の活用に特段の懸念事項 (デメリット) は想定されないと報告³⁾があり, 体制が GCP に則っていれば, 治験依頼者からの反発を受けることはないと考えられる。

大学病院臨床試験アライアンス (UHCT アライアンス) は「世界の新薬を日本の患者により早く供給すべ

く, 治験を含む臨床試験にて高い実績を有する大学病院が連携・協力関係を結び, 安全かつ効率的な臨床試験の実施体制を整備して国際共同試験を実施することを目的³⁾として 2006 年 4 月にスタートした。群馬大学医学部附属病院, 信州大学医学部附属病院, 千葉大学医学部附属病院, 筑波大学附属病院, 東京医科歯科大学医学部附属病院, 東京大学医学部附属病院, 新潟大学医歯学総合病院の 7 つの大学病院が現在加盟している (2013 年 4 月から山梨大学医学部附属病院が加盟)。本アライアンスの実務を遂行するために各加盟大学病院より数名の推進員で構成される推進室を置き, 毎月 TV 会議にて定例会議が行われている。推進室事務局は東京大学医学部附属病院臨床研究支援センター内に設置されている。アライアンスでは, その目的の実現に向け「本アライアンスの活動および実績の国内外への発信」, 「国際共同治験の誘致と進捗管理」, 「安全かつ効率的な臨床試験の実施体制の整備」, 「臨床試験の研究者に対する教育・支援および実務者の研修・交流」, 「国民や臨床試験参加者への啓発活動」, 「加盟大学病院・協力者相互の啓発活動」, 「その他本アライアンスの目的を達成するために必要な事業」の 7 つの事業を行っている。具体的な活動は, 渉外・プロジェクト推進委員会, 国際化対応委員会, 広報委員会, 研修者教育・研修委員会, 臨床試験コーディネーター (CRC) 連絡協議会の 5 つの委員会と安全性情報作業班, 品質保証導入検討作業班, 共同 IRB 推進検討作業班の 3 つの作業班により, それぞれ担当校 (総会で決定) を中心に実施されている。その進捗状況は担当校から定例の推進室会議に報告され, 作業班は推進室会

Key words : UHCT Alliance, centralized IRB, local IRB, university hospitals, GCP

^{*1} 信州大学医学部附属病院臨床試験センター ^{*2} 東京大学医学部附属病院臨床研究支援センター ^{*3} 東京医科歯科大学医学部附属病院臨床試験管理センター ^{*4} 群馬大学医学部附属病院臨床試験部 ^{*5} 千葉大学医学部附属病院臨床試験部

^{*6} 筑波大学附属病院臨床研究推進・支援センター ^{*7} 新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センターちけんセンター部門

別刷請求先: 松本和彦 信州大学医学部附属病院臨床試験センター 〒390-8621 松本市旭 3-1-1

E-mail : climatsu@shinshu-u.ac.jp

(投稿受付 2012 年 9 月 19 日, 第 2 稿受付 2013 年 1 月 4 日, 掲載決定 2013 年 1 月 14 日)

議での意見を参考にしながら、更なる事業の推進に努めている。このように、本アライアンスは、単に大学病院間の治験ネットワークの機能を果たしているだけでなく、加盟7大学が大学病院の個々の枠にとらわれずに臨床研究・治験の体制整備を進め、本邦での臨床研究・治験の推進に向けての新たな方向性を示すことを目指している。このような方針のもと本アライアンスでは加盟7大学間で共同IRB等の設置は可能であるか否かの議論が起り、2009年4月から「安全かつ効率的な臨床試験の実施体制の整備事業」のひとつとして共同IRB推進検討作業班が活動を開始した。本作業班はすべての加盟大学病院から選出された数名ずつの委員からなり、信州大学医学部附属病院が担当校となった。

共同IRB等を導入するメリットとしては、①審査内容が適切(臨床薬理・臨床試験の専門家による審査、各分野の専門家を治験ごとに招聘が可能)、②治験実施施設のマンパワー、時間、経費の節約、③治験依頼者の業務の軽減、など⁴⁾、デメリットとしては、①各施設独自の考え方を表せない、②各施設の審査レベルの向上を図れない、③治験担当医の教育の場が失われる、④各施設の適格性を判断することは困難である、⑤IRBショッピングの危惧が生じる、などが挙げられている⁵⁾。本作業班では、①自施設でのIRBの審査と同程度、あるいはそれ以上の被験者の安全を担保する、②各大学病院の治験事務局・IRB事務局業務負担の軽減は共同IRB等に期待されるメリットではあるが、体制構築初期の段階では、各施設での多少の仕事量の増大はやむを得ない、として検討が行われている。本アライアンスでは加盟大学病院は7施設であり、ひとつの治験に参加する大学病院は3~5施設となることが多い。このような少数の施設の参加しか見込めないアライアンス治験において共同IRB等を実施しても治験依頼者の負担軽減の効果は少なく、共同IRB等の体制を構築する意義については検討当初から問題点として挙げられた。また、15年以上前から中央IRB(central IRB: CIRB)が提唱されている^{6,7)}米国でもCIRBは限定された数であり⁸⁾、CIRBに対する反発も生じている⁹⁾。CIRB組織の歴史や特徴、構成する委員などそれぞれ個々にかなり質的に異なることなどがその要因とされる⁹⁾。2003年の88大学医学部への調査では76%がCIRBを使った経験がなく、73%は施設IRBで効率的に審査が行われており、CIRBを使用する理由がないとしている¹⁰⁾。本邦でも大学病院間における共同IRB等の体制は構築されておらず、実現可能な共同

IRB体制について検討してみることは今後の大学病院IRBの在り方を考えるうえで大変重要であると考えられる。

本アライアンス加盟の千葉大学医学部附属病院、新潟大学医歯学総合病院、信州大学医学部附属病院の3大学病院が参加している、ひとつの医師主導治験では、千葉大学医学部附属病院IRBを共同IRBとする3大学間の共同IRBの体制が構築され、2010年7月からIRB審議を開始している¹¹⁾。これは大学病院間で実施された本邦初の共同IRB等の体制であり、アライアンス共同IRB推進検討作業班で検討してきた共同IRB等の体制案を基に構築されている。この3大学間の共同IRB体制からアライアンス共同IRB等の体制案の課題が浮き彫りになると考えられる。

本稿では、まず2009年のUHCTアライアンス-EFPIA Japan共同欧州施設訪問で得られた欧州各国の倫理審査委員会体制について概説し、次にアライアンスで検討している共同IRB体制とアライアンス加盟3大学間で現在実施中の共同IRB体制(医師主導治験)について紹介し、最後にアライアンス共同IRB体制案の課題についてとりあげる。アライアンスの共同IRB体制案は既存の大学病院IRBを共同IRBとし、共同IRBは治験ごとに7大学病院間で持ち回りとする体制であり、これまで各大学病院で築きあげてきたIRBの質の更なる向上が期待できるという利点があり、今まで提唱されている共同IRB体制と大きく異なる。

体制を構築するための、ひとつひとつの検討事項は、本邦における大学病院間の共同IRB等の体制を構築する際に各施設で必ず検討しなければならない課題である。

2. UHCTアライアンス-EFPIA Japan共同欧州施設訪問

2009年10月28日から11月6日までUHCTアライアンスと欧州製薬団体連合会日本技術委員会(EFPIA Japan)との共同で、欧州各国の大学病院、臨床研究支援センター、規制当局、製薬会社などを訪問し、欧州各国の臨床試験の基本的枠組や多施設・多国間共同臨床試験への取り組み等につき聴取する機会を得た¹²⁾。

欧州のEuropean Union(EU)では、これまでの多施設共同試験やグローバル開発における煩雑な手続き、整合性のない審査、小児の臨床試験の停滞などの問題から、2001年5月にThe Directive 2001/20/EC(EU

臨床試験指令)が制定された。これは、販売承認目的である治験に限らず、あらゆる臨床試験に適用されており、加盟各国はこの指令に従い各国の規制を整備し、2004年5月までにその施行を求められた。各国は国情に応じて法的規制を整備し、それぞれ新しい倫理審査体制を構築している¹³⁾。EU臨床試験指令は、臨床試験の開始の際に、①倫理委員会の承認と規制当局の許可が必要である、②国際共同試験の倫理委員会審査は一国につき一つの意見とする、③申請後から倫理委員会の意見、規制当局の許可、までの日数はいずれも60日以内である、④倫理委員会の補足情報要求、規制当局が許可しない場合の変更プロトコル再申請はどちらも1回限りである、との倫理審査体制の原則を示した¹⁴⁾。そのためEU加盟国では倫理委員会の審査は「一国一意見の原則」に従い、それぞれ倫理審査委員会の体制が施行されている。また、EU非加盟国のスイスも独自の倫理審査委員会の体制を構築している。これらの体制は今回のアライアンス内における共同IRB等の体制を検討するにあたり大いに参考となっている。

1) EU加盟国(英国, フランス, ドイツ)

英国の医療は、国民保健サービス(NHS: National Health Service)の体制であり、地域機関病院とプライマリケアを行う家庭医(GP: General Practitioner)でそのほとんどが運営されている。倫理委員会はNHSの行政的領域ごとの病院内あるいは大学に設置されており、2007年4月に発足したNational Research Ethics Service(NRES)がNHSの倫理委員会を統括している。NHSの多施設で臨床試験を行う場合、治験調整医師は臨床試験支援を行うResearch & Development Office(R&D Office)と連携し、NRESに申請する。NRESは臨床試験プロトコル、調整医師などを考慮し、倫理審査を行うMain Research Ethics Committee(MREC)を決定する。MRECへの申請が受理された後に調整医師は各施設の責任医師に施設情報の審査をそれぞれのLocal RECに申請するよう依頼する。MRECの判断で、施設状況の審査を省略することもある。MRECの意見が英国全体の倫理審査意見となる(一国一意見の原則)。

フランスでは国内を7つの地域に分割し、40の被験者保護委員会(CPP: Comité de Protection des Personnes)を制定し、国内すべての臨床試験の倫理審査を行っている。臨床試験は参加施設に関する固有の情報を含めひとつのCPPに申請して承認を得る体制である。

ドイツでは州医師会が運営する21の倫理委員会(EC: Ethics Committee)と大学のECがあり、およそ50のECが国内に存在する。治験調整医師が所属する地域・大学の審査委員会がPrimary ECとしてプロトコル審査を、他の倫理委員会がLocal ECとして施設固有事項の審査をする。そのため、ひとつの倫理委員会は臨床試験によりPrimary ECにもLocal ECにもなり得る。

2) EU非加盟国(スイス)

スイスでは施設固有の事項も含め、州ごとに設置されている倫理審査委員会で審査される(26の州があるが複数の州の共同で設立された場合もありスイス国内での総数は19である)。EU加盟国と異なり「一国一意見の原則」がないので、州を越えて臨床試験が行われる場合では州ごとに倫理委員会で審査される。そのため、それぞれの州の倫理委員会で結論が異なることもある。

本邦と異なり、欧州では、治験のみではなくすべての臨床試験が倫理委員会に申請されるので、申請数はかなりの数に上ると予想される。しかし、EU加盟国では原則として、ひとつの試験あたりひとつの審査であり、審議件数の増加はかなり抑制されうる。このことで、EU加盟各国では少数の倫理委員会がそれぞれ国内のすべての倫理審査を対応することが可能のようである。「一国一意見の原則」がないEU非加盟国のスイスでも州ごとに設置された少数の倫理審査委員会で国内のすべての臨床試験をカバーしている。少数の倫理審査委員会で国内の臨床試験をすべて審査できるという事実から、欧州の地域ごとの共同倫理審査体制は効率化の点においては非常に優れたものと思われる。実際どのように審議がなされているか大変興味深い。

施設固有事項の審査に関しては、共同の倫理審査委員会で審査をする国、他の倫理審査委員会を活用する国など、その体制は国により異なっていた。米国のCIRBにおいて施設固有の問題点を審議することについては難しい状況であり¹¹⁾、共同IRB等における施設固有事項の審査は重要な検討課題と思われる。また、米国のCIRBは施設IRBでの審査のように試験責任医師との公式・非公式な相談・指導ができず相互の信頼関係が築けない、施設IRBより被験者保護の意識が薄いなど⁹⁾の問題点も挙げられており、これらについても検討が必要と思われる。

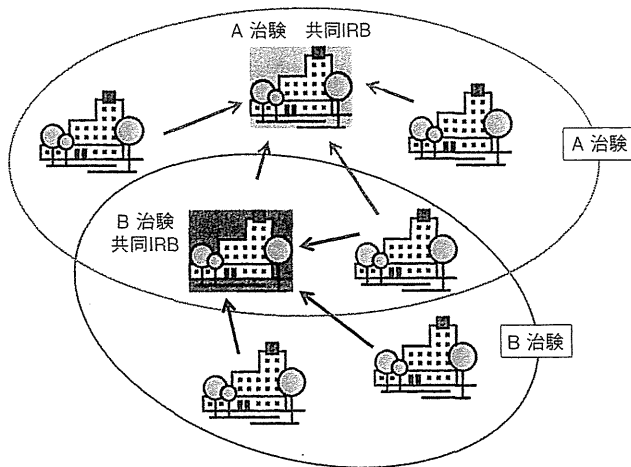


Fig.1 共同 IRB 担当大学病院持ち回り制
治験ごとに参加病院の中から共同 IRB 担当大学病院を決める。

3. UHCT アライアンス共同 IRB 体制案

2008 年 4 月から改正された GCP が施行され、本邦では共同 IRB 等を推進しようとする機運が高まってきているように感じる。しかし、日本製薬工業協会の加盟会社を対象としたアンケート調査¹⁵⁾では共同 IRB 等を利用した施設の割合は、2009 年度（治験実施計画書 71 件）は 26.1%（490/1,875 医療機関）、2010 年度（96 件）は 30.8%（787/2,552 医療機関）、2011 年度（118 件）は 27.0%（843/3,165 医療機関）と変化なく、国立・私立大学病院に限ると 2009 年度 1.1%（4/369 医療機関）、2010 年度 1.0%（4/420 医療機関）、2011 年度 1.0%（6/607 医療機関）となり、大学病院では利用がほとんど進んでいない現状である。

すでに述べたように、共同 IRB 等の体制の構築を考えるうえで、被験者の安全が担保されることが最も重要であり、構築過程においては、大学病院治験・IRB 事務局業務のある程度の負担増はやむを得ないものと考えた（治験依頼者業務と大学病院の治験事務局・IRB 事務局業務の軽減が図れることが最終目標であり、あまりにも膨大な治験・IRB 事務局の業務負担はいずれ維持できなくなる可能性も大きい）。本アライアンス共同 IRB 等の案はまだ最終結論に至っていないが、これまでの議論と現時点での共同 IRB 案を紹介する。

1) 共同 IRB の持ち回り制

「新たに IRB を構築するのではなく、既存の大学病院 IRB を共同 IRB とし、加盟大学病院の持ち回りとする。共同 IRB 担当大学病院は、治験に参加する大学病院の中から治験ごとに決める」（Fig.1）

各大学からの委員が、ある場所に一堂に会して IRB を開催する共同 IRB は加盟 7 大学病院が関東・信越の広い地域に離れているという地理的・時間的な問題により、月 1 回以上の頻度で開催することは厳しい状況であるとされた。次いで、各加盟大学病院をつなぐ TV 会議システムでの共同 IRB 体制案について検討したが、会議の臨場感、会場の雰囲気などを共有できないとの TV 会議の本質的な問題、さらに現 TV 会議システムでみられるような音声の途絶、映像の乱れなどの技術的な問題などにより、今すぐに取り入れることはできないと考えた。このような検討から 7 大学病院から委員を選出し、7 大学共同で設置する共同 IRB は現時点では困難との結論に至った。

既存の大学病院を共同 IRB とする場合、ひとつの大学病院 IRB が共同 IRB の役割を担う案（共同 IRB の固定化）がまず考えられた。共同 IRB の持ち回りに比べ、各大学の治験推進事務局業務の負担は少ない（治験ごとの共同 IRB 担当大学持ち回りでは共同 IRB の開催日が大学により異なっており、資料提出時期、提出先が治験ごとに変わる、また共同 IRB 担当大学病院と審査を委託する大学病院間の契約が発生した場合には治験ごとに契約の提携をしなければならない、などの理由で業務が大変煩雑となる）。しかし、アライアンスは「7 大学が互いに対等な立場」ということを前提で設立された経緯もあり、ひとつの大学病院に業務が集中することは①加盟大学病院内で立場の上下関係が生じる危惧がある、②各大学病院の業務量が不公平となる、③加盟各大学の治験審査、治験・IRB 事務局業務などでのレベルの向上が期待できない、などの理由で承認されなかった。持ち回り案では各大学病院の立場は対等であり、各大学病院 IRB は共同 IRB の役割を担うことでレベルの向上も見込まれ、現状では実施の可能性が高い体制と考える。しかし、大学病院 IRB を共同 IRB とした共同 IRB 持ち回り案では治験事務局、IRB 事務局ともに、治験件数の増加に伴い非常に煩雑な業務となる恐れは否定できない。

2) 共同プロトコル説明会

「共同プロトコル説明会は共同 IRB 担当大学が担当し、これまでどおり継続して実施する」

現状ではアライアンス治験参加大学は TV 会議システムを用いての共同プロトコル説明会（事前ヒアリング）を開催している。共同 IRB 体制でも共同プロトコル説明会は継続して実施し、担当校は共同 IRB 担当校が務める。共同プロトコル説明会では治験を適正に行うために問題点の抽出が効率的に行われており、本

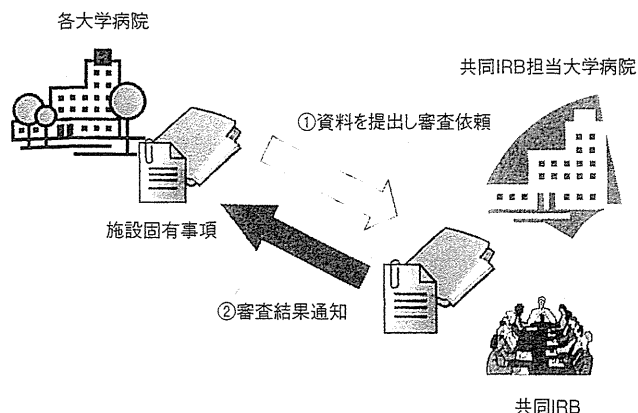


Fig. 2 治験実施適否の審査

施設の固有事項も含め、すべての資料を共同 IRB に提出し審査を受ける。

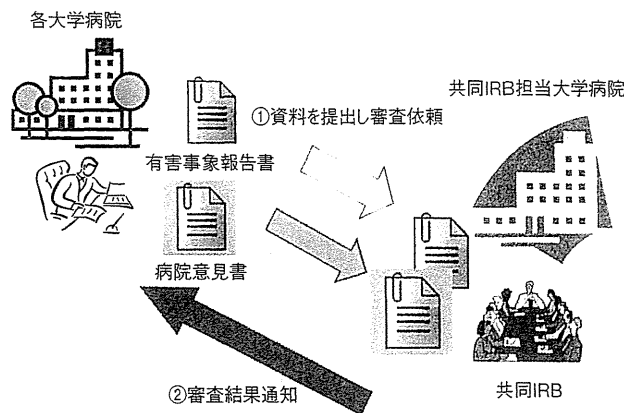


Fig. 3 治験の継続についての審査（重篤な有害事象発生時）

病院側の判断で病院長の指名したものによる意見書を有害事象報告書とともに共同 IRB に提出する。共同 IRB は意見書を鑑みて最終審査をする。

説明会を共同 IRB 体制でも継続して実施する。

3) 治験実施の適否の審査

「施設固有の事項も含めすべて共同 IRB に資料を送付して審査を依頼し、施設の IRB では審査しない」(Fig. 2)

共同 IRB 体制のひとつの重要な問題点として、共同 IRB で個々の施設固有事項の審査が可能なのかという懸念が挙げられる。欧州の各国の審査体制でも国により立場が異なり、施設固有事項は他の倫理審査委員会で審査する国も多かった。GCP では専門事項を専門 IRB で審査することができる（第 30 条 4 項）ので、各大学の IRB を専門 IRB とし、専門 IRB で施設固有事項を審査することは本邦においても可能である。

平成 20 年度（2008 年）の厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合事業）における「治験審査委員会のあるべき方向性に関する研究」（研究代表者：渡邊裕司）の課題のひとつである、わが国における治験審査委員会の現状に関する研究（分担研究者：楠岡英雄）において治験審査委員会に関するアンケート調査がなされた。調査は平成 21 年（2009 年）1 月に実施され、521 の施設が解析対象施設となった。「Central IRB が組織された場合、貴施設あるいは貴施設が依頼している IRB では審査せずに、審査は Central IRB のみに依頼しますか、それとも貴施設あるいは貴施設が依頼している IRB との 2 段階の審査にしますか」との問いには、Central IRB のみにする：24%，2 段階の審査にする：27%，当施設の審査を迅速審査とする：14%，その他：13%，回答なし：22%であった⁵⁾。自施設の審査を迅速審査とするところも含めて 2 段階の審査をとるといふ施設は 41%であったが、施設固有事項の審査に対す

る懸念がその主な理由と推測する。

アライアンス共同 IRB 体制では、①アライアンス加盟 7 大学病院は治験で多くの実績を上げており、治験責任医師、分担医師の候補となる医師は治験の経験も多い、②各大学病院の治験事務局も治験責任・分担医師についての情報は持ち合わせており、施設、人材などの施設固有事項は治験事務局で十分把握できている、③アライアンス加盟大学は現在 7 大学病院と少なく、情報の交換がある程度可能である、などの理由から施設固有事項も含めて共同 IRB に申請することで、十分に被験者の安全が担保できると判断した。また、①各大学病院の治験事務局は現在も施設固有の情報を管理しており、委託する大学病院治験事務局の業務負担にはならない、②2 段階の審査は IRB 審査の遅れにつながる、などの理由で各大学病院 IRB（専門 IRB）審査体制は取るべきでないとした。

4) 有害事象発生時の治験継続（安全性）審査

「共同 IRB で審査する。自施設で発生した重篤な有害事象では大学病院側の判断で、病院長の指名するものにより、病院側の意見書を共同 IRB に提出することができる」(Fig. 3)

自施設で発生した有害事象に対しては、自施設での審議なしに、いきなり他施設に審査を任せることは大学病院として不可とすることは十分に考えられる。GCP 第 32 条第 2 項により、施設内で発生した有害事象に関しても、各大学 IRB を専門 IRB として当該大学病院の IRB にて検討し、その意見を共同 IRB に提出することは可能である。しかし、専門 IRB を活用することによる審査の遅れは治験継続の審査においても

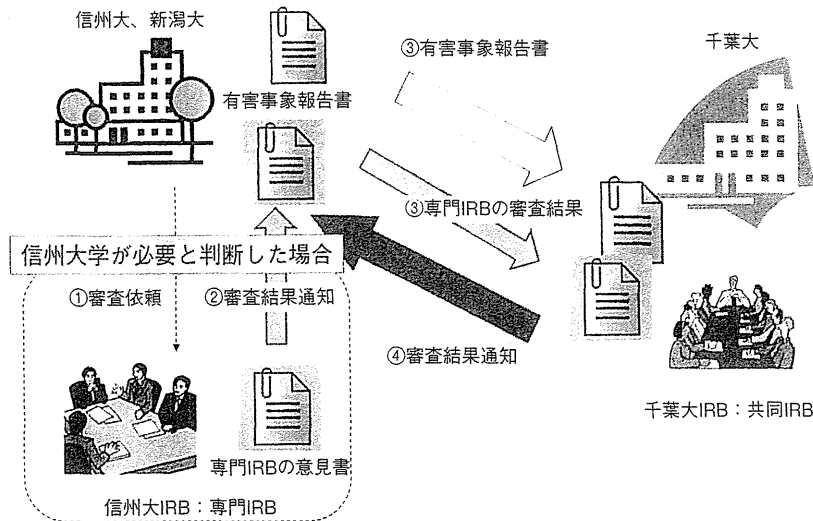


Fig. 4 3大学で実施中の共同IRB体制 — 治験の継続についての審査 (重篤な有害事象発生時)

信州大学医学部附属病院では病院の判断で専門IRB (信州大IRB) に審査を依頼することができ、専門IRBの意見書は共同IRB (千葉大IRB) に有害事象報告書とともに提出される。共同IRBではこれらをつまみ、最終的に審査する。新潟大学医歯学総合病院では専門IRBで審査をすることなく、有害事象報告書を共同IRBに提出する。

可能な限り避けたい。そのため、専門IRBを開かずに、大学病院側で必要と判断した場合に、病院長が指名するものが病院を代表して意見書を提出する (GCP第32条第2項関連、「不足している専門性を外部からの科学的な意見を聴く、あるいは倫理的妥当性についての意見を含めて聴く」ことに相当する) こととした。このような措置でも十分に被験者の安全が担保されるものと判断した。最終的に大学病院からの意見書を参考として共同IRBが治験継続の審査をする。

5) 迅速審査

「共同IRB委員長あるいは委員長の指名を受けた委員が審査する」

GCP第28条第2項で規定される事項 (治験審査委員会によりすでに承認された進行中の治験に係る軽微な事項) の迅速審査に関しては各大学病院の長から依頼され、共同IRBの委員が審査する。報告書を出すのは共同IRBであり、共同IRBの委員が迅速審査をすべきである。

6) 契約

「共同IRB担当大学と大学病院間の委受託契約は大学病院の事務方に関わってくる問題でもあり、現在検討中である」

共同IRBの審査が持ち回り制であれば大学病院間での審査費用の支払いは不要になる可能性もあると考えた。現在クリニックなどとの治験ネットワークを構

築している加盟大学病院も多いが、クリニックからのIRB審査費用に関してはそれぞれ金額が異なっている (不要の場合もある)。大学病院の経営の問題にも関わってくるので加盟7大学の大学病院事務方を交えた意見交換が必要である。審査費用が発生するなら大学間で現金の流れが発生するような体制よりも依頼者から直接共同IRBに支払われる形態がよいとの要望が挙がった。

4. 現在実施中の共同IRB体制 (医師主導治験)

2010年7月から神経内科領域のある医師主導治験において、千葉大学医学部附属病院、信州大学医学部附属病院、新潟大学医歯学総合病院の本アライアンス加盟3大学間で千葉大学医学部附属病院IRBを共同IRBとする共同IRB体制を実施している。

この体制では治験実施の可否に関する審査については本アライアンスの共同IRB体制と同じであるが、有害事象発生時の治験継続 (安全性) 審査では、信州大学医学部附属病院と新潟大学医歯学総合病院でその対応が異なっている。信州大学医学部附属病院では病院側の判断で必要ならば専門IRB (信州大学医学部附属病院IRB) を開催し、その意見を共同IRBに報告でき、大学病院で発生した有害事象に対しては自施設の意見を示すことができる。一方、新潟大学医歯学総合病院では専門IRBを開催することなく、すべての審査を共

同 IRB に委ねる方式である (Fig. 4). 新潟大学医歯学総合病院では、大学病院を中心とした地域の治験ネットワークを構築しており、そこでは共同 IRB と専門 IRB の 2 重審査制度をとっておらず、今回の医師主導型の治験においても同じ体制で実施する、との病院執行部の判断があった。契約に関しては千葉大学 IRB 事務局と新潟大学医歯学総合病院、信州大学医学部附属病院で個別に IRB 委受託契約を結び、審査費用として年度ごと千葉大学医学部附属病院 IRB 事務局に支払う形態をとっている。各大学病院ではこのような体制に基づく型で手順書の改訂を行った。

5. UHCT アライアンス共同 IRB 体制案の利点と問題点

本アライアンス共同 IRB 案は①既存の大学病院 IRB を共同 IRB とし、共同 IRB は各大学病院の持ち回りとする。②各大学病院 IRB による審査はしない (有害事象発生時には病院の意見書を提出できる) という体制である。本アライアンス案に到達するまでの議論はすでに述べたので、ここでは前述の共同 IRB のメリット、デメリットの観点から本アライアンス案を検討してみる。

1) 共同 IRB のメリット

① IRB 審査の向上

本案では共同 IRB として既存の大学病院 IRB を活用するので、現在の IRB 審査と大きく変化するわけではない。しかし、共同 IRB 持ち回り制により、自らの施設が共同 IRB になること、また、他施設で実施した共同 IRB の審議内容、体制などを検討する (共同 IRB のオブザーバ制の導入も考えられる) ことで次第にアライアンス内での IRB 審査レベルが向上する可能性がある。

② 治験実施施設の負担軽減

共同 IRB 持ち回り制により、各大学病院の治験事務局業務は増加することが考えられる。IRB 事務局業務に関しても自施設 IRB が共同 IRB になる場合もあり、現状に比べ業務量の大きな軽減は見込まれない。

③ 治験依頼者の負担軽減

本アライアンス加盟大学病院の数が 7 大学病院と少数なので共同 IRB 体制をとっても治験依頼者の大幅な負担軽減は見込まれない。

2) 共同 IRB のデメリット

① 各施設独自の意見表明が困難

各大学病院で生じた有害事象に関しては病院長が指名したものにより、大学病院側の意見を共同 IRB に提

出することができる体制をとっており、各施設の意見は共同 IRB に挙げられるので各施設の意見は表明可能である。

② 各施設の審査レベルの停滞

共同 IRB 持ち回り制により、自施設が共同 IRB になること、また、他施設での共同 IRB の審議内容、体制など検討することなどで本アライアンス内での IRB 審査レベルの向上が次第に図れる。

③ 治験担当医の教育の場の消滅

共同プロトコル説明会に担当医が出席することで、当該治験の詳細については確認できる。また、自施設の IRB がなくなるわけではなく、メリット①のごとく本体制にて各大学病院の審査レベルの向上が期待される。これらのことから、治験担当医の科学性・倫理性への配慮の意識が低下することはないと考える。

④ 各施設の適格性 (施設固有事項) の判断が困難

アライアンス加盟 7 大学は治験の実績の高い大学病院であり、治験事務局が自施設の施設固有事項を適格に把握しており、また、加盟大学間の情報交換も容易である。各施設の固有情報も共同 IRB が適正に審査できると判断した。

⑤ IRB ショッピングの危惧

加盟 7 大学間での共同 IRB の持ち回り制度であり、IRB ショッピングの可能性はない。

本アライアンス案では共同 IRB 体制で考えられるデメリットに関しては十分に対応できていると思われるが、メリットとして考えられる治験実施施設の負担軽減はされず、むしろ増加することも予測される。また、治験依頼者の負担の軽減も大きくない点が問題である。しかし、大学病院の意見の表明ができること、大学病院 IRB を共同 IRB とし、持ち回り制とすることで、大学病院 IRB をしっかりと担保できる特徴がある。これは本アライアンスのような限られた数の大学病院間においてのみ構築可能な体制であり、米国 CIRB におけるような質の違いや研究者との連携不足、それらに伴う研究者側の CIRB に対する不信感が生まれる可能性も低い。大学病院執行部としても受け入れやすく、実現の可能性が高い案と考えられる。

6. おわりに

本アライアンス共同 IRB 体制の問題は各大学の治験事務局や IRB 事務局業務の増加が見込まれ、治験依頼者負担は大幅には軽減しない点であり、共同 IRB のメリットのひとつである効率化とかけ離れている。

UHCT アライアンスが開催した、日本製薬工業協会臨床評価部会との「中央 IRB に対する依頼者との意見交換会」(2012 年 1 月 30 日)でも同様の指摘を受けた。

本アライアンス案では既存の大学病院 IRB を共同 IRB とし、さらに共同 IRB を持ち回り制にするので、各大学病院の IRB をしっかりと保証した体制となり、さらに共同 IRB において各施設がオブザーバ (TV 会議) として参加することなどで、各大学病院の IRB 審査の向上、IRB 事務局体制の整備も見込まれる。長期的に考えれば各大学病院の臨床研究の活性化、さらには医師・医学生の臨床研究意欲の向上をもたらす可能性もある。現在、各大学病院の IRB は自施設の治験審査を実施しており、地域のネットワークに参加している場合にはさらに共同 IRB として他施設の審査も行っている。このような状況において各大学病院 IRB の廃止は当面は考えられず、地域の中核病院であり、医師養成機関である大学病院の IRB や IRB 事務局を発展させることは本邦における臨床研究の推進に繋がると考える。

共同 IRB 実施上の大きな問題は、施設固有事項が十分に審議できるかという懸念である。本アライアンスではそれぞれの大学病院の治験事務局がそれぞれの大学の医師、スタッフ、設備などの情報を把握しており、また、本アライアンス加盟大学は 7 つと数も少なく情報交換も容易にでき相互の信頼関係も築けると考える。このようなことから、適格性の審査では共同 IRB に審査資料を送付して委託する体制、自施設で生じた有害事象に関しては、専門 IRB を開催せずに、病院長の指名したものによる病院の意見書を提出する体制で現時点では問題ないと判断した。しかし、今後は共同 IRB の効率性を目指して本アライアンスに加盟する大学病院数の増加や本アライアンス治験に参加する施設数の増加も考えられる。その時には現在の本アライアンス案の施設固有審査の審査体制で被験者の安全が十分に担保できるか、再検討する必要がある。

現状において実現可能性のある本アライアンス共同 IRB 体制案を紹介したが、本邦における治験環境は今

後も大きく変化することが予想される。共同 IRB 体制を含め、大学病院 IRB の在り方につき、更なる検討が必要となる。

Conflict of Interest

著者は本論文に関して公開すべき利益相反関係はない。

文 献

- 1) 治験等適正化作業班. 治験等の効率化に関する報告書. 平成 23 年 5 月.
- 2) 日本製薬工業協会医薬品評価委員会臨床評価部会. 共同 IRB 等 (中央 IRB を含む) の活用に関する治験依頼者の考え. 2012 年 4 月, 部会資料.
- 3) 大学病院臨床試験アライアンス規約.
- 4) 作広卓哉. 中央治験審査委員会への期待. *医療*. 2011; 65(3): 157-60.
- 5) 渡邊裕司. 自施設 IRB 設置に関する考察と今後の検討課題. 第 14 回治験のあり方に関する検討会, 平成 19 年 5 月 18 日, 資料 3.
- 6) Menikoff J. The paradoxical problem with multiple-IRB review. *N Engl J Med*. 2010; 363(17): 1591-3.
- 7) Ahmed AH, Nicholson KG. Delays and diversity in the practice of local research ethics committees. *J Med Ethics*. 1996; 22(5): 263-6.
- 8) Christian MC, Goldberg JL, Killen J, Abrams JS, McCabe MS, Mauer JK, et al. A central institutional review board for multi-institutional trials. *N Engl J Med*. 2002; 346(18): 1405-8.
- 9) Klitzman R. How local IRBs view central IRBs in the US. *BMC Med Ethics*. 2011; 12: 13. doi: 10.1186/1472-6939-12-13.
- 10) Loh ED, Meyer RE. Medical school's attitudes and perceptions regarding the use of central institutional review boards. *Acad Med*. 2004; 79(7): 644-51.
- 11) 花岡英紀, 青柳玲子, 松本和彦, 吉澤弘久, 小池竜司. 中央 IRB 等への移行過程で生じた課題とその解決に向けた取り組み. *薬理と治療*. 2012; 40(6): 457-8.
- 12) 荒川義弘. 欧州臨床試験の最前線<1> はじめに ~ハイレベルの臨床研究基盤整備構築を目指して~. *医薬ジャーナル*. 2010; 46(2): 703-4.
- 13) Hedgecoe A, Carvalho F, Lobmayer P, Raka F. Research ethics committees in Europe: implementing the directive, respecting diversity. *J Med Ethics*. 2006; 32(8): 483-6.
- 14) 松本和彦, 山内恵子, 古賀弘志. 欧州における倫理審査の現状と治験の円滑な申請への取り組み. *医薬ジャーナル*. 2010; 46(2): 712-7.
- 15) 日本製薬工業協会医薬品評価委員会臨床評価部会. 治験の現状に関するアンケート調査について. 2009 年版, 2010 年版, 2011 年版.

FORUM

**Centralization of Reviews by IRBs in University Hospitals:
Consideration of Collaborative IRB in University Hospital Clinical Trial Alliance**

Kazuhiko MATSUMOTO^{*1}, Yoshihiro ARAKAWA^{*2}, Ryuji KOIKE^{*3}, Tetsuya NAKAMURA^{*4},
Hideki HANAOKA^{*5}, Masato HONMA^{*6}, Hirohisa YOSHIZAWA^{*7}
and Working Group Members for Developing Centralized IRB in UHCT Alliance

^{*1} Clinical Trial Research Center, Shinshu University Hospital, Matsumoto, Japan

^{*2} Clinical Research Center, The University of Tokyo Hospital, Tokyo, Japan

^{*3} Clinical Research Center, Tokyo Medical and Dental University Hospital, Faculty of Medicine, Tokyo, Japan

^{*4} Clinical Investigation and Research Unit, Gunma University Hospital, Maebashi, Japan

^{*5} Clinical Research Center, Chiba University, Chiba, Japan

^{*6} Clinical Trial and Research Office, Tsukuba University Hospital, Tsukuba, Japan

^{*7} Clinical Research Center, Niigata University Medical and Dental Hospital, Niigata, Japan

The University Hospital Clinical Trial Alliance (UHCT Alliance) was established in 2006 with the goal to conduct global studies in Japan, and is presently organized by 7 national university hospitals in the Kanto and Shin-Etsu area. To promote more efficient and safer clinical trials, we have been considering the possibility of a centralized IRB (CIRB) system in the Alliance. The outline of our plan is as follows: One of the university hospitals selected for a clinical trial is responsible for both Cooperative Hearing and CIRB, resulting in a shift of the site in charge of member hospitals in the Alliance. The CIRB should review not only "ethical and scientific issues" but also "local issues" such as qualifications of the investigators and the institutions. The CIRB should conduct continuing review of each ongoing trial. In the case of occurrence of significant adverse events in a member hospital, the site voluntarily offers opinions to the CIRB. Low efficiency caused by a small number of member hospitals and the CIRB shifting system seems to be the most serious problem in our plan. A CIRB for three Alliance members, similar to the Alliance system, has been working in an investigator-initiated clinical trial since July 2010. This ongoing system will provide more information about the advantages and disadvantages of our CIRB plan. When the number of member hospitals increases markedly, the methods of reviewing "local issues" should be reconsidered in order to safeguard the rights, safety, and well-being of trial subjects.

(Jpn J Clin Pharmacol Ther 2013; 44(3) : 207-215)

Key words: UHCT Alliance, centralized IRB, local IRB, university hospitals, GCP

東大病院におけるアカデミア主導の臨床開発の取組みと課題

荒川 義弘^{a,b}

Recent Progress and Challenges in Investigator-driven Clinical Development of Novel Drugs and Medical Devices at The University of Tokyo Hospital

Yoshihiro Arakawa^{a,b}^aClinical Research Support Center; and ^bEarly and Exploratory Clinical Development Unit, The University of Tokyo Hospital; 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan.

(Received August 21, 2012)

At the University of Tokyo Hospital, investigator-driven clinical development of novel drugs and medical devices is mainly supported by the Translational Research Center and Clinical Research Support Center. The former supports non-clinical research and the preparation of test materials and the latter supports clinical trials. The Clinical Research Support Center was established in 2010 by the reorganization of the former Clinical Research Center, which was established in 2001. The center adopted International Conference on Harmonisation-Good Clinical Practice (ICH-GCP) as a standard guideline for clinical trials and prepared standard operation procedures and templates for protocols and informed consent documents in 2001 and, thereafter, provided consultation services to researchers for protocol development. In 2010, the service was extended to project management, data management and monitoring to support the credibility of clinical trials. In 2011, The University of Tokyo Hospital was selected by the government as a base for the early and exploratory clinical development of drugs in the fields of psychological and neurological diseases. For this purpose, a phase 1 unit for early phase clinical pharmacology trials is now being built. The center provides training courses for clinical research coordinators and hold seminars for clinical researchers; however, the biggest challenge remains the education and training of medical students who will lead clinical trials in the future.

Key words—investigator-driven; clinical development; drug; medical device; The University of Tokyo Hospital

1. 東大病院における臨床開発体制

平成 13 年、治験だけでなく治験以外の自主臨床試験をも支援する組織として文部科学省から予算化され、臨床試験部が設立された。以来、東大病院では世界標準である International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use - Good Clinical Practice (ICH-GCP) を準用することを基本に規則、手順書や手引きを整備し、支援をしてきた。手引き等は積極的に公開し、日本の臨床試験の標準化に資するよう努めた。その後平成 19 年には、アカデミア発のシーズを臨床試験に導入するための橋渡

し研究の推進が文部科学省主導で図られ、トランスレーショナルリサーチセンター (TR センター) が設立された。また、平成 22 年には、アカデミア主導の多施設共同臨床試験や開発型の臨床試験を支援する体制を整備するため、臨床試験部を改組し臨床研究支援センターが設立された。これにより、東大病院内において臨床導入を目指したシーズを臨床開発にシームレスに結びつけていく体制が整備された (Fig. 1)。東大病院では TR センターが非臨床試験と試験物製造の調整を担当し、臨床研究支援センターが臨床試験の実施の支援を担当している。これを国が構築を目指す実施体制と比較してみると、TR センターは文部科学省が支援する橋渡し研究拠点に相当し、臨床研究支援センターは平成 23 年度から厚労省が支援する早期・探索的臨床試験拠点並びに平成 24 年度募集予定の臨床研究中核病院に相当する (Fig. 2)。東大病院は平成 23 年 7 月に早期・探索的臨床試験拠点整備事業において精神・神

The author declares no conflict of interest.

^a東京大学医学部附属病院臨床研究支援センター、^b同早期・探索開発推進室 (〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1)

e-mail: arakawa-ky@umin.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 132 年会シンポジウム S22 で発表したものを中心に記述したものである。

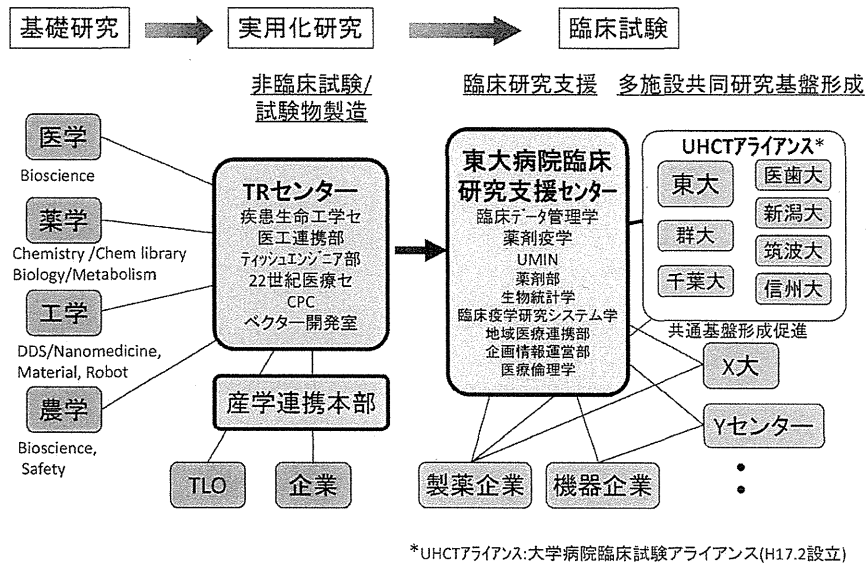


Fig. 1. R&D Structure in the University of Tokyo Hospital

The TR Center is in charge of the coordination of non-clinical research and manufacturing of test materials. The Clinical Research Support Center is in charge of the support of clinical trials.

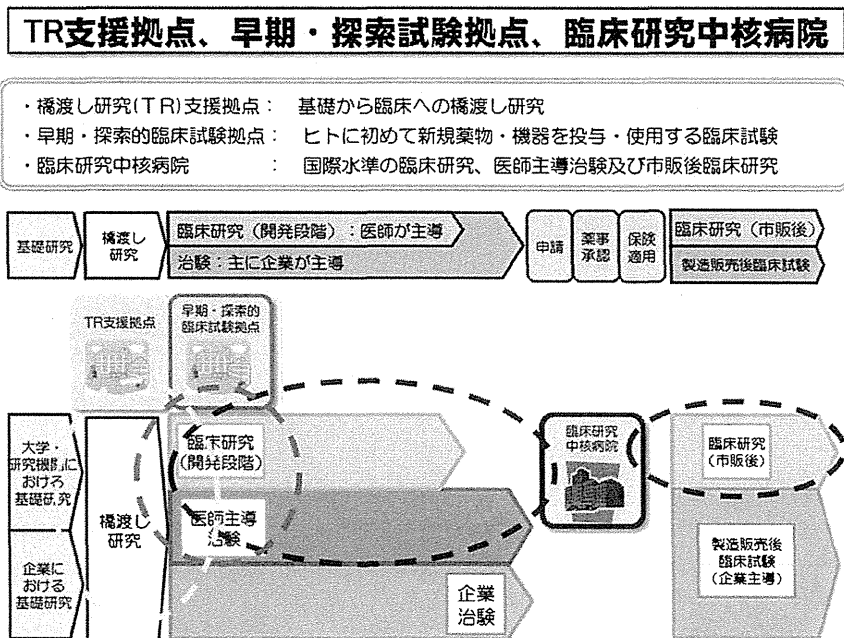


Fig. 2. Relationship among the MEXT-funded Translational Research Base Institutions, the MHLW-funded Early-Stage and Exploratory Clinical Trial Centers and the MHLW-funded Clinical Research Core Hospitals

In the University of Tokyo Hospital, The TR Center corresponds to a Translational Research Base Institution, and the Clinical Research Support Center covers the tasks of both an Early-Stage and Exploratory Clinical Trial Center and a Clinical Research Core Hospital (cited from the MHLW website).

経領域の医薬品開発の拠点として選定され、現在整備を進めているところである (Fig. 3).

2. シーズ

東大病院は、同じ本郷キャンパス内に薬学部や工

学部、産学連携本部などがあり、また、周辺には医療機器メーカーの拠点多くあり、連携がやり易い環境にある。また、多くの学際的プロジェクトがあり、活発な研究開発活動により比較的多くのシーズ