

II. 分担研究報告書

6. 受精卵呼吸測定装置を用いた臨床研究に関する 倫理委員会承認の報告

分担研究者 志賀尚美（東北大学医学部助教）

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

新規受精卵呼吸測定装置を用いた臨床研究に関する
倫理委員会承認の報告

研究分担者 志賀 尚美 東北大学助教

研究主旨

平成24年度より現行機器の操作性および測定精度の向上を目的に新しいデバイスを開発し、その操作性・安全性および有用性の検討を行ってきた。そして、平成26年度に行う予定のヒト余剰卵を用いた受精卵呼吸量測定臨床研究のプロトコールを作成し、東北大学医学部倫理委員会承認の取得を行った。

まず、チップの試作品開発をパナソニック・ヘルスケア社と共に行い数回の試作品を繰り返し検討し、平成26年1月に最終品を完成させた。その際のチップ改良に伴う測定手技・評価方法の標準化を行いプロトコールを作成した。次に、患者への説明方法、研究記録の維持方法、使用検体の廃棄方法、取得データの扱いなどについて詳細にまとめた。

平成26年度に行うヒト余剰卵（廃棄卵）を用いた受精卵呼吸量測定の臨床研究について、平成26年2月に東北大学倫理委員会申請を行い、承認を得た。また現在、東北大学で96例の余剰卵が確認されている。

今後、全ての共同研究施設で倫理委員会承認を取得した後に、今年度開発したチップによるヒト余剰卵を用いた臨床研究を実施し、その有用性・安全性および操作性を検討する。

研究協力者

渡邊 善(東北大学医学部助手)
黒澤大樹(東北大学医学部医員)
石橋ますみ(東北大学医学部医員)
西本光男(東北大学医学部大学院)
高橋藍子(東北大学産婦人科培養士)

A・研究目的

平成26年度に行うヒト余剰卵を用いた受精卵呼吸量測定を目的とした臨床研究のプロトコールを作成し、倫理委員会の承認を得るための準備を行った。具体的には、受精後3日以内のヒト余剰卵50例を用いて開発機器による呼吸量測定を行い、その有用性および安全性を検討し、従来の主観的な形態学的評価に呼吸量という客観的な機能評価を加えることにより優良卵の選別が可能となるか検討する(資料1)。

B・研究方法

平成26年度に行うヒト余剰卵を用いたの臨床研究プロトコール作成および倫理委員会に、観察研究として申請を行った。具体的には、受精後72時間の卵呼吸量を測定し、その値と胚盤胞への到達率および孵化率を主要エンドポイントとする。さらに、副次的エンドポイントとして、従来の形態学的評価と比較し呼吸量測定評価法との相関、本機器使用による有害事象の発現、具体的には微弱電流や測定ウェルからの有害物質の溶出による受精卵への影響(分割停止、分割速度の低下、および夾雑物の増減)を検討する。また、今回の研究では余剰卵を使用するため、受精卵をヒトやヒト以外の動物に戻すことはなく、研究使用後は直ちに破棄する。そのため「本研究により受精卵の所有者に有害事象が発生することはない」と述べている。

また、今回の研究では個人情報に連結不可能匿名化し、変換対応票を残さず個人を特定できないようにする。そして、今回の登録は1年間を予定している。

さらに、患者様への説明文書も作成し、手渡すことにした(資料2)。そちらには基本的な用語を用いて一般人にも理解ができるよう配慮した。

C・研究結果

平成26年2月24日の東北大学医学部倫理委員会で承認が得られた。研究用に使用された受精卵は、本研究以外の目的で使用されることはない。また、これらのサンプルはヒトやヒト以外の動物に戻すことはなく、本研究が終了次第すぐに破棄される。この臨床研究に参加した場合、患者様とその検体が同定できないように連結不可能匿名化する。そのことから、患者を特定できる個人情報を取り扱うことはないため、患者のプライバシーは完全に守られる。また、この研究の途中で協力を中止したい場合でも、本人の検体を特定できないため中断することは不可能である。尚、研究データに関しては研究終了後も保存する。研究結果は学術雑誌や学会で発表される予定である。その際に患者の名前や個人を特定できるような情報が使われることはない。そのため、希望があっても患者にご自分の研究結果をお知らせすることはできない。

尚、主な内容は下記のようなものである。

他施設共同研究(東北大学主幹)

観察研究

ヒト余剰卵(廃棄卵)使用

ヒト余剰卵使用後は直ちに廃棄

患者に対する侵襲性なし

UMIN-CTR

患者に対する補償なし

目標症例数 50 例

厚生労働科学研究費使用予定

有用性および安全性を検討

受精後3日目に呼吸量測定

患者情報は連結不可能匿名化

D・考察

現在、東北大学倫理委員会の承認を取得し、96例の余剰卵を確認している。今後、全ての共同研究施設で倫理委員会承認を取得した後に、今年度開発したチップによるヒト余剰卵を用いた臨床研究を実施し、その有用性・安全性および操作性を検討する。

E・結論

今回、平成26年度に施行予定のヒト余剰卵を用いた受精卵呼吸量測定の臨床研究について、平成26年2月に東北大学倫理委員会申請を行い、承認を得た。今後、エンドポイントに着目して研究を進めていく。

G・研究発表

特記事項なし

H・知的財産権の出願・登録状況

特記事項無し



**受精卵呼吸測定装置を用いた臨床試験に橋渡しするための
安全性および有用性に関する研究**
(臨床試験登録番号：UMIN000012692)

研究代表者

宇都宮裕貴
東北大学婦人科分野
〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 2-1
TEL : 022-717-7254 FAX : 022-717-7258
E-mail uskichi@med.tohoku.ac.jp

研究事務局

志賀尚美
東北大学婦人科分野
〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 2-1
TEL : 022-717-7254 FAX : 022-717-7258
E-mail naomit@theia.ocn.ne.jp

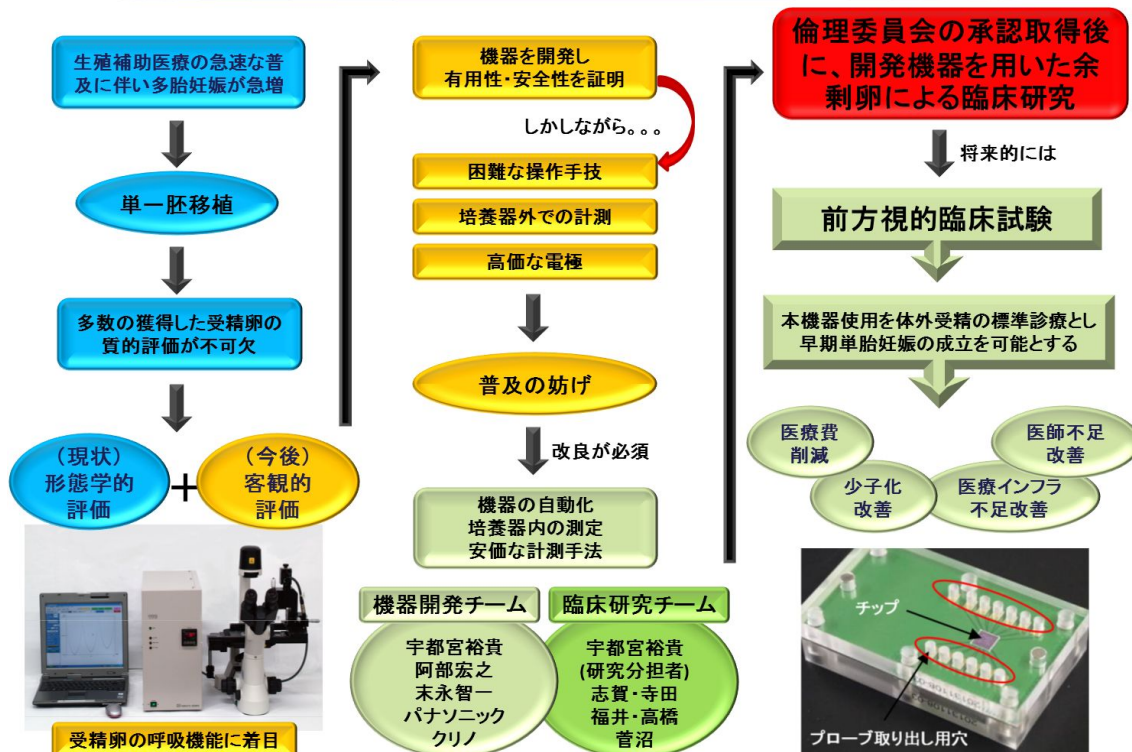
2014年3月3日 作成

0 概要

近年、生殖医療の需要は著しく増加しているが、多胎妊娠による母体合併症や低出生体重児の増加が大きな社会問題となり、現在は単一受精卵移植が原則となった。さらに、2013年8月に不妊治療助成に年齢および回数制限が追加されることが決定し、今後は着床能の高い優良な受精卵を選別し妊娠率を向上させることが一層重要になった。従来、受精卵の形態のみで品質評価を行ってきたが、主観性が強く観察者間での結果に差が生じる可能性が高い。我々はこれまでに受精卵の呼吸機能と卵品質が相関することに着目し、その有用性・安全性を報告してきた。この手法は非常に高感度である上に侵襲もない画期的な装置であると考えている。しかしながら、現行機器を用いた正確な呼吸量測定には手技習得に多大な時間を要するため、標準診療に取り入れるにはハードルが高く、普及の妨げになっている。そこで、現行機器の操作性および測定精度の向上を目的にパナソニック・ヘルスケア社と共同で新しいデバイスを開発した。今後、開発機器によるヒト余剰卵（廃棄卵）50例を用いた臨床研究を行い、その有用性および安全性を検討し、従来の主観的な形態学的評価に客観的な機能評価を加えることにより優良卵の選別が可能となるか検討する（下図）。登録は1年間を予定している。相談窓口は以下に示す。

東北大学病院 婦人科
住所：仙台市青葉区星陵町 2-1
電話番号：022-717-7254、FAX 番号：022-717-7258
担当医師：宇都宮裕貴

受精卵呼吸測定装置を用いた臨床試験に橋渡する ための安全性および有用性に関する研究(流れ図)



1. 目的

受精後3日以内のヒト余剰卵（廃棄卵）50例を用いて開発機器による呼吸量測定を行い、その有用性および安全性を検討し、従来の主観的な形態学的評価に呼吸量という客観的な機能評価を加えることにより優良卵の選別が可能となるか検討する。具体的には、受精後72時間の卵呼吸量を測定し、その値と胚盤胞への到達率および孵化率を主要エンドポイントとする。さらに、副次的エンドポイントとして、従来の形態学的評価と比較し呼吸量測定評価法との相関、本機器使用による有害事象の発現、具体的には微弱電流や測定ウェルからの有害物質の溶出による受精卵への影響（分割停止、分割速度の低下、および夾雑物の増減）を検討する。

2. 背景

近年、晩婚化や出産希望年齢の上昇に伴い生殖医療の需要は著しく増加している。しかしながら、多胎妊娠による母体合併症や低出生体重児の増加が大きな社会問題となり、生殖補助医療における多胎妊娠防止のため、原則として単一受精卵を移植することが提唱された。しかしながら、法的な拘束力はないため、未だ症例によっては複数個の移植が行われているのが実情である。また、2013年8月に不妊治療助成に年齢および回数制限が追加されることが決定し、今後は着床能の高い優良な受精卵を選別し妊娠率を向上させることが一層重要となった。現在、獲得された複数の受精卵は形態のみで評価を行っているが、主観性が強く観察者間での結果に差が生じてしまう(1)。我々はこれまでに受精卵の呼吸機能と卵品質が関連することに着目し、その有用性を報告してきた(2-5)。この手法は非常に高感度である上に侵襲もない画期的な装置と考えている(3, 4)。受精卵呼吸測定装置のプロトタイプは共同研究者らが開発し、クリノ社が既に細胞呼吸測定機器(製品名CRAS1.0)として販売している。これまでに動物卵を用いて、その機器の有用性と安全性を報告している(4)。また、ヒト臨床検体においても、安全性および有効性が国内医療機関から報告されている(5)。しかしながら、現行機器を用いた正確な呼吸量測定には手技習得に多大な時間を要するため、標準診療に取り入れるにはハードルが高く、普及の妨げになっている。そのため、操作性および測定精度の向上を目的にパナソニック・ヘルスケア社と共同で新しいデバイスを開発した。本装置は培養器内に受精卵を設置し、煩雑な操作なしに受精卵の呼吸量を測定でき、現行機器において不可能であった操作の単純化と湿潤環境保持を満たしたものである。今後、ヒト余剰卵(廃棄卵)を用いた臨床研究を行い、その有用性および安全性を検討し、従来の主観的な形態学的評価に客観的な機能評価を加えることにより優良卵の選別が可能となるか検討していく。具体的な研究計画を以下に示す。

東北大学大学院医学系研究科倫理委員会で承認取得後に各研究協力機関においても倫理委員会の承認を得る。また、ヒト余剰卵(廃棄卵)の管理および所有者(夫婦双方)からの同意を取得する。

開発機器によるヒト余剰卵(廃棄卵)を用いた臨床研究を行い、その有用性および安全性を確認する。具体的には、受精後72時間の卵呼吸量を測定し、その値と胚盤胞への到達率および孵化率を主要エンドポイントとする。さらに、副次的エンドポイントとして、I) 従来の形態学的評価と呼吸量測定評価法との相関、II) 本機器使用による有害事象の発現、具体的には微弱電流や測定ウェルからの有害物質の溶出による受精卵への影響(分割停止、分割速度の低下、および夾雑物の増減)を検討する。

尚、今回の臨床研究では、不妊症治療を行い既に生児獲得後や採卵後3年以上が経過し不要となった余剰卵(廃棄卵)を使用するため、受精卵をヒトやヒト以外の動物に戻すことはなく、研究使用後は直ちに全例破棄する。尚、最初の体外受精時に夫婦双方より、生児獲得後や採取から3年経過し不要となった受精卵は自動的の廃棄する同意を取得している。

これまでに数多くの受精卵評価法の研究が世界中で行われてきたが、形態学的評価以外に有用な手法は確立していない(図1)。従来の主観的な形態学的評価に客観的な機能評価を加えることにより優良卵の選別が可能になり、将来的には体外受精において本機器の使用が標準診療となるよう繋げていきたい。そして、この機器により単一受精卵移植後の早期単胎妊娠が可能となれば、多胎妊娠による母体合併症や早産による未熟児の減少、および不妊診療期間の短縮化が見込まれ、少子化改善、医療費削減、周産期医療に携わる医師不足解消、医療インフラ不足解消など現代社会が抱える多くの問題に大いに貢献することが期待できる。さらに本邦だけでなく、同じ問題に直面する欧米諸国にも普及を試みていきたい。(参考文献は「21.文献」に記載)

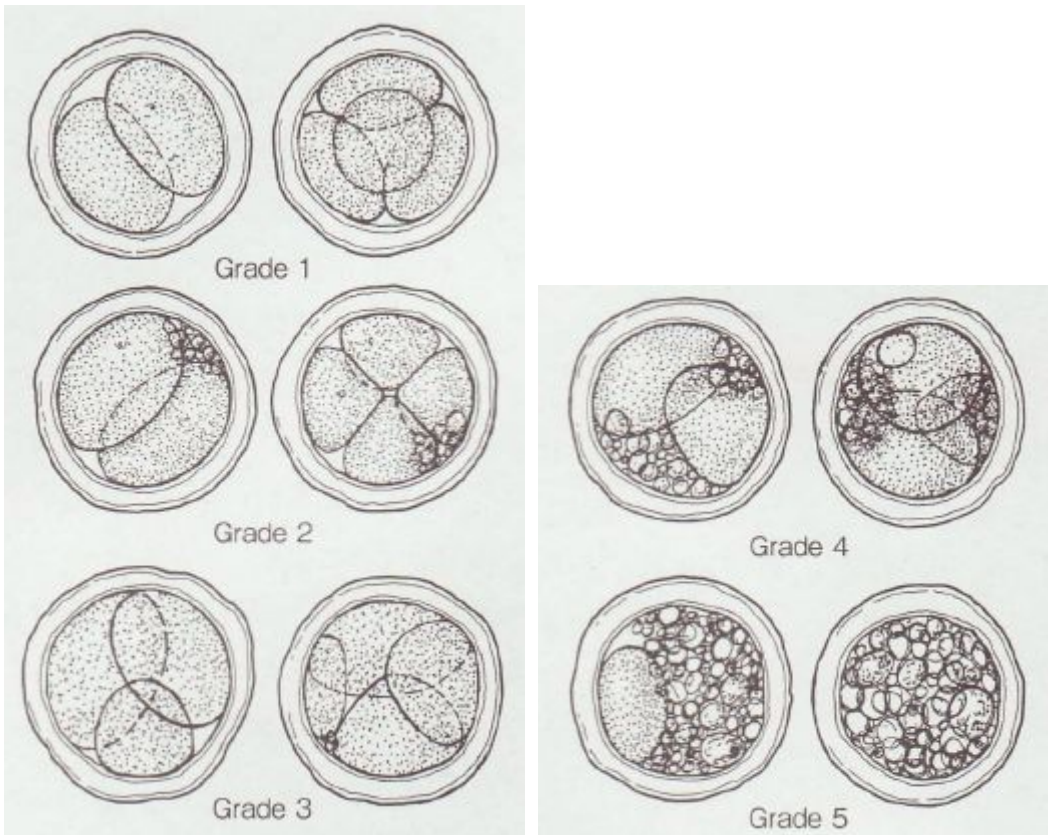


図 1. 受精卵の形態学的な評価 (Veeck 分類)

割球の状態と夾雑物により Grade 1 (良好胚) ~ 5 (不良胚) に分類される。

3. 薬剤や器具の情報

東北大学臨床研究推進センターのサポート下で、2年前よりクリノ社、パナソニック・ヘルスケア社と機器開発を行った。装置の全自動化と培養器中での測定を可能にするため、初案から協議を繰り返し、チップ構造変化による酸素濃度勾配のシミュレーション、ウェハ手配と試作検討マスク作成、および Si ウェハを用いた試作プロセスを検討した。そして、ターゲットとなる構造 (各部の寸法等) を絞り込むため試作品の改良を繰り返し、諸項目の最適化を行った。そして、最終的に培養器内に受精卵を設置し、煩雑な操作なしに受精卵の呼吸量を測定できるチップを開発した (図 2)。これは現行機器において不可能であった操作の単純化と湿潤環境保持を満たしたものである。

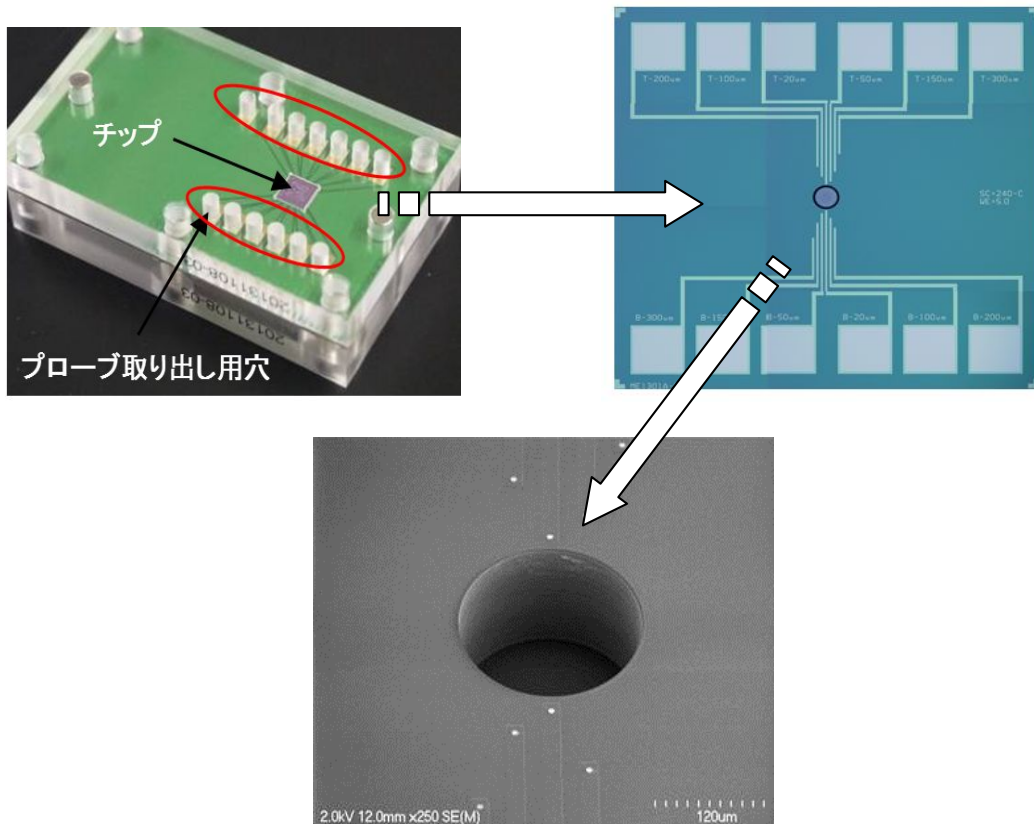


図 2. 開発した呼吸量測定装置（左上段 右上段 下段の順に拡大像）

中央の穴に受精後 72 時間の卵を置き、培養器の中で測定する。

今回の研究では余剰卵（廃棄卵）を使用するため、受精卵をヒトやヒト以外の動物に戻すことはなく、研究使用後は直ちに破棄する。そのため、本研究により受精卵の所有者に有害事象が発生することはない。ただし、将来的な研究に反映するため、本機器により起こりうる有害事象についても併せて検討する。具体的には、下記のような事象を想定している。

a) 微弱電流による受精卵への影響

今回開発した機器では、1 電極あたり 0.4-0.5nA（全体で 5-6nA で、従来機器の 1/5 程度）の微弱電流を用いて約 5 分間計測を行う。従来機器では、ヒトおよび動物受精卵で明らかな異常所見（妊娠率、出生数、出生体重、奇形、染色体、生化学的検査など）は認められなかった。本研究では母体やヒト以外の動物に戻さないため項目は限られるが、分割停止率や分割速度の変化、夾雑物の増減を検討する。

b) 測定ウェルからの有害物質溶出の可能性

開発機器が培養液と接する部分はすべてシリコンなどの不溶解物で覆われており、電流負荷などにより培養液に溶出することは想定していない。また、それ以外の器具は、日常臨床で使用している機材と同じ成分のものを使用するため、新しい有害事象が発現する可能性は極めて低いと考えている。しかしながら、予想外の事態も想定し、上記の微弱電流と同じ項目になるがに、分割停止率や分割速度の変化、夾雑物の増減を検討する。

4. 本試験で用いる規準・定義

受精卵の形態学的評価方法としては、日常臨床で用いる初期胚用の Veeck 分類(図 1)と胚盤胞用の Gardner 分類を基準とする。

5. 患者選択規準

以下の適格規準を全て満たし、かつ以下の除外規準のいずれにも該当しない患者を、本研究の対象（受精卵）とする。

5.1. 適格規準

- ・受精後 3 日目以内の受精卵
- ・遺伝性疾患を有していない両親から得られた受精卵
- ・直接対面で夫婦双方から文書による同意の得られた受精卵

5.2. 除外規準

具体的な除外規準を記載する。

除外基準とは以下のような被験者（受精卵）を対象から除外するための条件である。

- ・受精後 4 日目以降の受精卵
- ・夫婦双方から文書による同意の得られなかった受精卵

6. 登録・割り付け

6.1. 登録手順

同意説明文書による同意を取得後、適格規準を満たし除外規準のいずれにも該当しないことを確認し、登録票に必要事項を全て記入の上、データセンターに FAX にて送信する。データセンターにて適格性を確認した後に、登録番号を発行する。誤登録や重複登録があった場合には速やかにデータセンターに連絡する。各研究協力施設でも同様の手順で行う。

本研究は、事前に東北大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認を得た後に行う。

個人情報登録機関は東北大学産婦人科で、データ管理者は庄子美紀子（看護師）である。個人情報は連結不可能匿名化とし、変換対応票を残さず個人を特定できないようにする。

相談窓口は以下のとおりである。

東北大学病院 産婦人科
住所：仙台市青葉区星陵町 1-1
電話番号：022-717-7254
FAX 番号：022-717-7258
担当医師：宇都宮裕貴

6.2. 割り付け方法

割り付けは行わない。

7. 実施計画

7.1. 実施方法

登録患者の受精卵は液体窒素容器に凍結保管されているため、融解後に培養器内に移し研究を開始する。受精後 72 時間時点で通常の培養器から開発機器に移し、5 分間静置する。次に、1 電極あたり 0.4-0.5nA（全体で 5-6nA）の電流を流して計測を行う。培養液は通常の受精卵培養と同じものを使用する。その後、通常診療と同様に、培養液中で 7 日目まで観察を行う。各研究協力施設でも同様の手順で検討を行い、結果は速やかにデータセンターに連絡する。

7.2. 変更規準

受精卵の状態には急な変化が生じることは考えにくい。呼吸量測定後に受精卵の変化が 48 時間以上停止した際は「分割停止」と判断し、その症例の臨床研究は終了し受精卵は直ちに破棄する。

7.3. 併用療法、支持療法

従来から標準的診療として施行されている受精卵培養と同一手法であり、特に併用療法や支持療法はない。

7.4. 中止規準、完了規準

受精卵の孵化または分割停止をもって研究終了とする。

7.5. 終了後の治療

原則として、使用した受精卵は直ちに破棄する。ヒトやヒト以外の動物に戻すことはない。

8 有害事象の評価と報告

8.1. 有害事象の定義

今回の試験では、不要となった余剰卵（廃棄卵）を使用する。ヒトやヒト以外の動物に戻すことはなく、研究終了後は直ちに破棄する。よって、所有する患者には有害事象が生じることはない。

8.2. 有害事象の評価

有害事象が生じることはない。

8.3. 予期される有害事象

特記事項なし

8.4. 有害事象の報告と対応

報告を必要とするような想定外の有害事象が生じた際には、速やかに研究担当者が研究代表者へ報告する。

9. 検査項目とスケジュール

検査は受精後 72 時間時点で通常の培養器から開発機器に移し、1 電極あたり 0.4-0.5nA (全体で 5-6nA) の電流を用いて約 5 分間計測を行う。一般的には受精後 3・5・7 日目に顕微鏡にて形態観察を行う。各研究協力施設でも同様の手順で検討を行う。

9.1. 観察・検査項目スケジュール

受精卵登録時からの評価項目を下記に示す。

従来の受精卵の形態変化観察を行うスケジュールと全く同一である。

評価項目	登録時	受精後			プロトコル治療終了時/中止時
		3日	5日	7日	
母体背景情報					
呼吸量測定検査					
顕微鏡下形態観察					

9.2. 登録前・開始前の観察・検査項目

登録前に凍結卵が受精後 72 時間以内であることを確認する。また、受精卵の両親に遺伝性疾患がないことを確認する。

9.3. 期間中の観察・検査項目

開発機器の有用性・安全性評価のために必要な下記の項目に関して観察、検査を行う。

- ・受精後 72 時間時点で通常の培養器から開発機器に移し、5 分間静置する。次に、1 電極

あたり 0.4-0.5nA (全体で 5-6nA) の電流を流して呼吸量計測を行う。

・受精後 3・5・7 日目に顕微鏡にて形態観察を行う。

9.4. 終了後(追跡期間中)の観察・検査項目

プロトコール終了時(または分割中止時)に顕微鏡にて形態観察を行う。

10. データ収集

個人情報管理施設は東北大学産婦人科で、データ管理者は庄子美紀子(看護師)が行う。

10.1. 記録用紙(CRF)の種類と提出期限

記録用紙(Case Report Form; CRF)は研究代表者が定めた所定の様式を用い、観察終了後 60 日以内にデータ管理者に提出する。

10.2. 記入方法

記録用紙を記入する際には、研究担当医師が記載し研究代表者が全例確認を行う。

10.3. 送付方法

記録用紙は直接データ管理者に手渡す。

11. エンドポイント(評価項目)

本試験のエンドポイントは下記のものである。

主要エンドポイント

受精卵の呼吸量と胚盤胞への到達率および孵化率との相関

副次エンドポイント

従来の形態学的評価法と呼吸量測定評価法の相関

現行手技と比較した本機器による有害事象発現の可能性

11.1. 有効性エンドポイント

11.1.1. 主要エンドポイント

受精後 3 日目以内のヒト余剰卵(廃棄卵)を用いて開発機器による呼吸量測定を行い、その有用性を検討し、従来の主観的な形態学的評価に呼吸量測定という客観的な機能評価を加えることにより優良卵の選別が可能となるか検討する。具体的には、受精後 72 時間の卵呼吸量を測定し、その値と胚盤胞への到達率および孵化率を観察する。

11.1.2. 副次エンドポイント

従来の形態学的評価と開発機器を用いた呼吸量測定値による受精卵質的評価との相関を検討する。

11.2. 安全性エンドポイント

形態学的変化のスピードや異常所見を調べ、現行手技と比較した本機器による有害事象の発現を検討する。具体的には、微弱電流による受精卵への影響や測定ウェルからの有害物質溶出の可能性などを考慮し、分割停止率や分割速度の変化、夾雑物の増減を検討する。

12. 統計学的事項

半数(25 例)が終了した段階で中間解析を予定している。そして、全症例が終了した段階で最終的な解析に移る。

12.1. 解析対象集団

今回の研究では、既に生児獲得後や採卵後 3 年以上経過により不要となった余剰卵(廃棄卵)を用いて行

う。今回の目標症例数は5大学病院で50例(本学では20例)を予定している。

12.2. 有効性の主要評価項目の解析

受精後72時間の卵呼吸量を測定し、その値と胚盤胞への到達率および孵化率を観察する。受精卵が胚盤胞に到達した群としなかった群、および孵化した群としなかった群で呼吸量を統計処理しt検定を用いて比較する。

12.3. 有効性の副次的評価項目の解析

従来の形態学的評価によりVeck分類で5群に分け開発機器による呼吸量を集計し、形態学的分類と呼吸量の間に関連があるか検討する。

12.4. 安全性評価項目の解析

分割停止率や分割速度の変化、夾雑物の増減を調べ、現行手技(形態学的観察のみ)と比較した本機器による有害事象の発現を比較検討する。現行手技に関するデータはこれまでの症例から算出可能である。

12.5. サンプルサイズ、予定登録期間、追跡期間

症例数は5大学病院で50例(本学では20例)を予定している。予定登録期間は平成26年4月より1年間とし、観察後は直ちに廃棄するため追跡調査は行わない。

12.6. 中間解析

半数(25例)が終了した段階で中間解析を予定している。

13. 倫理的事項

13.1. 患者(夫婦双方)の保護

本研究に参与する全ての者は「世界医師会ヘルシンキ宣言(2008年改訂)」、「臨床研究に関する倫理指針((平成20年7月31日全部改正、厚生労働省告示第415号)」、日本産科婦人科学会「ヒト精子・卵子・受精卵を取り扱う研究に関する見解」、および厚生労働省「ヒト胚の取扱いに関する基本的考え方」に従う。説明・同意文書は研究責任医師が作成する。利用に関して改めて対象者から同意をとり、同意文書をカルテに添付する。

新たに研究協力を依頼する際には、書面(説明書と同意書を添付)を用いて直接対面で夫婦双方から同意取得を行う。また、受精卵に関しては、個人を識別できないように符号や番号の変換対応票を残さない方法による匿名化(連結不可能匿名化)を行う。

13.2. 夫婦双方への説明と同意(インフォームド・コンセント)

研究への登録に先立ち、担当医は夫婦双方が本試験に参加する前に、東北大学大学院医学系研究科倫理委員会で承認の得られた同意説明文書を用いて、直接対面で十分に説明し、本研究への参加について自由意志による同意を文書により得るものとする。

同意書には説明を行った研究責任医師又は分担医師、夫婦双方が記名捺印又は署名し、各自日付を記入する。研究責任医師又は分担医師は、夫婦双方が本試験に参加する前に、記名捺印又は署名と日付が記入された同意書の写し及び説明文書を夫婦双方に渡し、同意書を保管するものとする。同意書は研究施行期間中保管し、終了後はすべて破棄する。

説明文書改定時は改めて書面を用いて口頭で説明を行う。

13.3. プライバシーの保護

収集したデータは個人を識別できない連結不可能匿名化の状態とする。したがって、個人が特定される形で公表されることはなく、対象者が不利益を被ったり人権が侵害されたりすることはない。

13.4. 実施計画書の遵守

本研究に参加する研究者は、夫婦双方の安全と人権を損なわない限り、本実施計画書を遵守する。

13.5. 東北大学大学院医学系研究科倫理委員会による承認

本研究実施前及び研究実施予定期間中を通じて、東北大学大学院医学系研究科倫理委員会において、本研究の実施、継続等について倫理的、科学的及び医学的妥当性の観点から承認を得るものとする。研究代表者は、実施計画書、症例報告書の見本、説明同意文書など審査の対象となる文書を東北大学大学院医学系研究科倫理委員会に提出する。

13.6. 新たな情報の報告

本研究に用いる新しい機器の有効性、安全性に関する新たな情報を得た場合、研究代表者は必要に応じて、医療機関の長、当局など速やかに文書にて報告する。

13.7. プロトコルの内容変更について

プロトコルの内容を変更する際には、プロトコルの内容変更に従い、東北大学大学院医学系研究科倫理委員会に改訂の申請を行い、承認を得る必要がある。

14. 費用負担と補償

14.1. 資金源及び財政上の関係

この研究は、厚生労働省科学研究費で行う。そのため今回の研究に要する費用はすべて研究者負担で行う。

14.2. 試験にかかる費用負担

この研究は、厚生労働省科学研究費で行う。
企業から無償提供を受ける事項はない。

14.3. 健康被害の補償及び保険への加入

14.3.1. 健康被害の補償

今回の臨床研究では、既に生児獲得後や採卵より3年以上経過により不要となった余剰卵（廃棄卵）を使用するため、受精卵をヒトやヒト以外の動物に戻すことはなく、研究使用後は直ちに破棄する。そのため、患者に健康被害を及ぼすことはない。

14.3.2. 補償・賠償保険への加入

賠償・賠償保険などの加入はない。

15. モニタリングと監査

15.1. モニタリング

常に研究代表者と分担者が研究を担当し、連結不可能匿名化で個人を識別できない形で記録を記載する。

15.2. プロトコル違反・逸脱

モニタリングにより下記のプロトコル違反・逸脱が発見された場合は本症例を除外する。

違反 Violation

試験のエンドポイントの評価に影響を及ぼす、担当医に原因がある、故意または系統的、危険または逸脱の程度が著しい、臨床的に不適切であるなどのプロトコルの規定からの逸脱。

逸脱 Deviation

違反や許容範囲に含まれないプロトコルの規定からの逸脱。

許容範囲 Acceptable deviation

試験毎に設けた許容範囲内のプロトコルの規定からの逸脱。

15.3. 監査

施設訪問監査は実施しない。

16. プロトコルの内容変更

実施計画書の内容を変更する場合には、変更在先立ち、「プロトコルの内容変更申請書」を東北大学大学院医学系研究科倫理委員会に提出し、承認を得る必要がある。

変更内容が試験実施計画の重要な変更と考えられるか否かによって、以下の改正が改訂に相当するかは東北大学大学院医学系研究科倫理委員会が決定し承認する。

改正 Amendment

試験の被験者のリスクを増大させる、試験の主要評価項目に関係するなどの試験計画の重要な変更と考えられる変更。東北大学大学院医学系研究科倫理委員会及び参加施設の IRB の審査承認を要する。

改訂 Revision

試験の被験者のリスクを増大させる可能性がない、試験の主要評価項目に関係しないなどの試験計画の軽微な変更。東北大学大学院医学系研究科倫理委員会及び参加施設の IRB の審査承認を要する。

- 重大性に関わらず、全ての改定内容とその理由を主任研究者の所属する研究機関の倫理審査委員会に報告する。
- 改定内容が重大と判断される場合、主任研究者の所属する研究機関の倫理審査委員会での再審査および承認を要する。
- 重大と判断されるプロトコルの改正とは、以下のいずれかの項目が変更されることをいう。
 - 1) 試験デザイン
 - 2) 研究対象（適格基準）
 - 3) エンドポイント
 - 4) 目標症例数
 - 5) 予期される有害事象
- プロトコルに改定があった場合には、試験責任医師は、それに応じて被験者への説明文書を改定する。
- 改定内容が症例登録票や症例報告書の様式に影響する場合は、主任研究者はデータマネジメント責任者に症例登録票または症例報告書の様式の改定を依頼する。

17. 試験の終了と早期中止

25 例終了した段階で中間解析に移り、50 例終了した段階で試験を終了とし、最終データ解析に移る。また、想定していないが何らかの重篤な有害事象が生じた場合は、研究を早期中止する。

18. 記録の保存

収集したデータについては研究代表者が本試験終了も保管するものとする。原資料（診療記録等）ならびに試験実施医療機関で保管される書類（実施計画書、同意説明文書等）については、実施医療機関が許可する最長期間保持するものとする。

19. 研究結果の帰属と発表

新たに得られた知見などは東北大学医学部産婦人科ホームページ (<http://www.ob-gy.med.tohoku.ac.jp/index.html>) に掲載し国民に広報する。そして、積極的に国内外の学術集会や一流雑誌を通じて報告していきたいと考えている。

また、臨床試験登録（臨床試験登録番号：UMIN000012692）を行っている。

20. 研究組織

研究代表者：宇都宮裕貴

研究担当者：志賀尚美

データ管理者：庄子美紀子

事務局：東北大学病院 産婦人科

住所：〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 1-1

電話番号：022-717-7254

FAX 番号：022-717-7258

「研究協力施設」

弘前大学産婦人科

研究担当者：福井淳史

住所：〒036-8563 青森県弘前市本町 53

電話番号：0172-33-5111

秋田大学産婦人科

研究担当者：寺田幸弘

住所：〒010-8543 秋田県秋田市 広面字蓮沼 4 4- 2

電話番号：018-834-1111

山形大学産婦人科

研究担当者：高橋俊文

住所：〒990-9585 山形県山形市飯田西 2 丁目 2- 2

電話番号：023-633-1122

福島県立医科大学産婦人科

研究担当者：菅沼亮太

住所：〒960-1247 福島県福島市光が丘 1

電話番号：024-547-1563

21. 文献

- (1) Okutsu O. Human embryo grading. *J Mamm Ova Res.* 2008. 25:90-7.
- (2) Yamanaka M, Abe H, et al. Prediction for developmental competence of human blastocyst based on its oxygen consumption. *Fertil Steril.* 2011. 26:3366-71.
- (3) Yamanaka M, Abe H, et al. Developmental assessment of human vitrified-warmed blastocysts based on oxygen consumption. *Hum Reprod.* 2011. 26:3366-71.
- (4) Abe H. A non-invasive and sensitive method for measuring cellular respiration with scanning electrochemical microscopy to evaluate embryo quality. *J Mamm Ova Res.* 2007. 24:70-8.
- (5) Utsunomiya T, Abe H, et al. Evaluating the quality of human embryos with a measurement of oxygen consumption by scanning electrochemical microscopy. *J Mamm Ova Res.* 2008. 25:2-7.

22. 付録

説明文書・同意書、添付文書は申請書に添付した。

臨床研究へのご協力に関する 説 明 文 書

本臨床研究の課題名

「受精卵呼吸測定装置を用いた臨床試験に橋渡しするための安全性および有用性に関する研究」

1 本臨床研究の概要・背景

近年、晩婚化や出産希望年齢の上昇に伴い生殖医療の需要は著しく増加しています。しかしながら、多胎妊娠による母体合併症や低出生体重児の増加が大きな社会問題となり、生殖補助医療における多胎妊娠防止のため、原則として単一受精卵を移植することが提唱されました。しかしながら、法的な拘束力はないため、未だ症例によっては複数個の移植が行われているのが実情であります。また、2013年8月に不妊治療助成に年齢および回数制限が追加されることが決定し、今後は優良な受精卵を選別し妊娠率を向上させることが一層重要となりました。現在、獲得された複数の受精卵は形態のみで評価を行っていますが、観察者間での結果に差が生じてしまうことが多くあります(図1)。

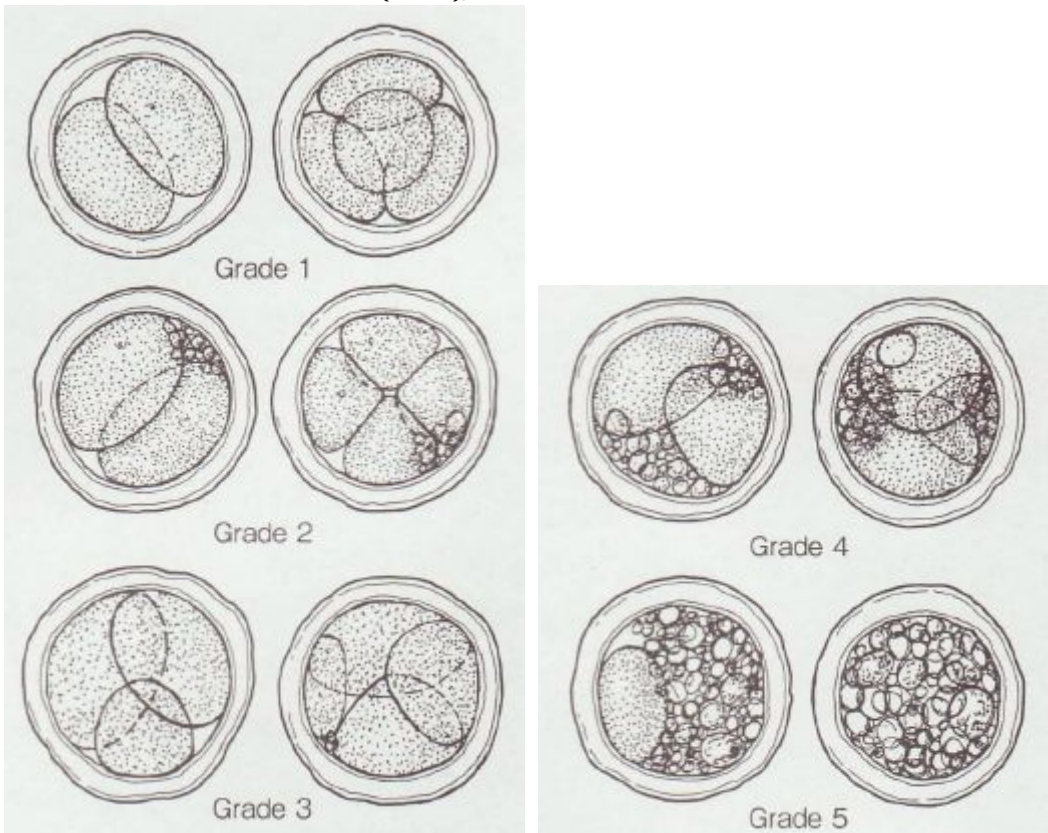


図1. 受精卵の形態学的な評価 (Veeck 分類)

我々はこれまでに受精卵の呼吸機能と卵品質が相関することに着目し、その有用性を報告してきました。この手法は非常に高感度である上に、受精卵に直接接触することもないため侵襲もない画期的な装置と考えています。この装置の原型は共同研究者らが開発し、既に測定機器(今後、従来機器と呼びます)として販売しています。これまでに動物の卵を用いて、その機器の有用性と安全性を確認しています。また、ヒト臨床検体においても、従来機器を用いた安全性および有効性が国内医療機関から報告されています。しかしながら、従来機器を用いた正確な呼吸量測定には長時間の訓練が必要ため、標準診療に取り入れるにはハードルが高く、普及の妨げになっています。そのため我々は、2年前より操作性および測定精度の向上を目的にパナソニック・ヘルスケア社と共同で新しい測定機器を開発してきました。

2 本課題の目的及び医学・医療における意義

新しい装置は卵を育てる培養器に受精卵を置き、煩雑な操作なしに受精卵の呼吸量を測定でき、従来機器において不可能であった操作の単純化を可能にしたものです。また、従来機器と同様に直接受精卵に触れることはなく、非常に弱い電流を流すのみで測定可能なため有害事象の発生は極めて低いと予想されます。今後、開発機器によるヒト余剰卵(廃棄卵)を用いた臨床研究を行い、その有用性および安全性を検討し、従

来の形態の評価に呼吸機能の評価を加えることにより優良卵の選別が可能となるか検討していきます。本研究により新しい装置の有用性・安全性が確認されれば、将来的には臨床試験を行い、体外受精を行う際に本機器の使用を標準診療としていきたいと考えております。そして、この機器により早期の単胎妊娠が可能となれば、多胎妊娠による母体合併症や早産による未熟児の減少、および不妊診療期間の短縮化が見込まれ、少子化改善、医療費削減、周産期医療に携わる医師不足解消、医療インフラ不足解消などに大いに貢献することが期待できます。

3 対象者の本課題への参加同意の自由と、途中での参加撤回の自由

この説明書を読み、本研究に参加してもよいと思われる場合には、最終ページの同意文書に日付を記入し、署名もしくは記名捺印をお願いします。

一旦同意した場合でも、あなたが不利益をこうむることはなく、いつでも自由にそれを撤回することが出来ます。ただし、同意を撤回した時点で既に研究が開始している場合は、症例が特定不可能なため、中断および破棄ができない場合があります。

4 本課題の実施期間

登録は平成26年4月1日から1年間を予定しています。

5 本課題の実施体制（共同研究者等）

この臨床研究は東北大学産婦人科が中心となり、弘前大学産婦人科、秋田大学産婦人科、山形大学産婦人科、福島県立医科大学産婦人科と共同で行われます。

6 本課題の対象者（対象の受精卵）

既に生児獲得後や採卵後3年以上が経過し、不要となった余剰卵（廃棄卵）を所有している方が対象です。

7 本課題の実施方法

・測定方法

まず、受精卵を育てる培養器というものの中に開発した装置を設置します。

次に受精卵を中央のチップと呼ばれる部分のくぼんだ場所に置きます（図2）。約5分間培養器内で静置し、微弱な電流を流すことにより受精卵の呼吸量を測定します。これは従来機器において不可能であった操作の単純化と培養器内環境下での測定を可能としたものです。

手順ですが、受精後3日目の卵を用いて呼吸量を測定し、通常の培養に戻します。さらに培養を継続しますと良好受精卵では分割を繰り返す、桑実胚（5日目頃） 胚盤胞（6日目頃） 孵化（7-8日目頃）、という形態の変化を起こします。一方、不良卵は途中で分割が停止してしまいます。

・評価方法

受精3日目に呼吸量測定と従来から行われている形態学評価をします。次に受精卵が孵化するまでの形態変化を確認し、呼吸量と比較検討します。また、従来からの顕微鏡による形態評価と本機器による呼吸量評価を比較検討します。さらに、呼吸量測定装置を用いた際の分割スピードの変化や夾雑物の増減を検討し、これまでの手法と比較した所見を調べます。

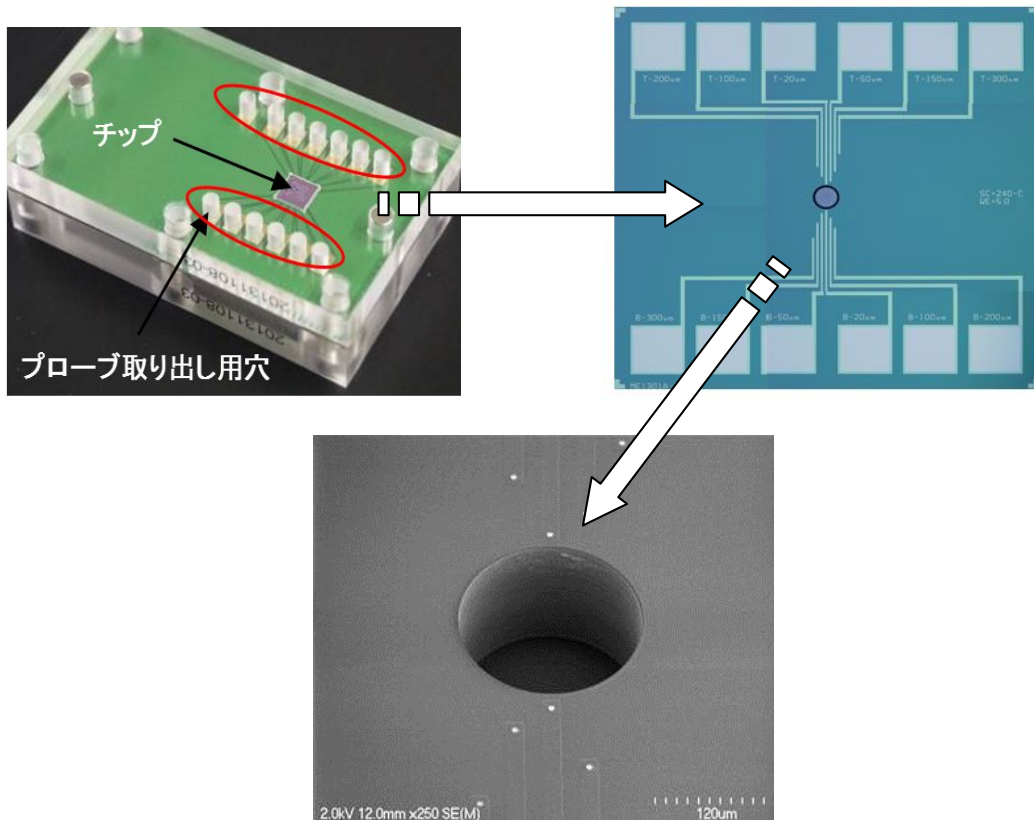


図2. 開発した呼吸量測定装置（左上段 右上段 下段 の順に拡大像）

中央の穴に受精後3日目の卵を置き、培養器の中で測定します。

・本機器使用による有害事象発現の可能性

今回の研究では余剰卵（廃棄卵）を使用するため、受精卵をヒトやヒト以外の動物に戻すことはなく、研究使用後は直ちに破棄します。そのため、本研究により受精卵の所有者に有害事象が発生することはありません。ただし、将来的な研究に反映するため、本機器使用により起こりうる有害事象についても併せて検討します。具体的には、下記のような事象が想定されます。

a) 微弱電流による受精卵への影響

今回開発した機器では、1電極あたり0.4-0.5nA（全体で5-6nAで、従来機器の1/5程度）の非常に弱い電流を用いて約5分間計測を行います。従来機器では、ヒトおよび動物受精卵に明らかな異常所見（妊娠率、出生数、出生体重、奇形、染色体、生化学的検査など）は認められませんでした。本研究ではヒトやヒト以外の動物に戻すことはありませんので検討項目は限られますが、分割停止率や分割速度の変化、夾雑物の増減を検討します。

b) 測定ウェルからの有害物質溶出の可能性

開発機器が培養液と接する部分はすべてシリコンで覆われており、電流負荷などにより培養液に溶出することは想定できません。また、それ以外の器具は、日常臨床で使用している機材と同じ成分のものを使用しますので、新しい有害事象が発現する可能性は極めて低いと考えております。しかしながら、予想外の事態も想定し上記の微弱電流と同様に、分割停止率や分割速度の変化、夾雑物の増減を検討します。

8 本課題の資金源，起こり得る利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり

この研究は厚生労働省の科学研究費で行い、患者様の負担は一切ありません。科学研究費の研究代表者が所属する東北大学が中心となり、分担研究者の所属する4つの研究協力施設と共同で研究を行います。

9 本課題の実施に伴う危険性及び問題が生じた場合の対処

今回の試験では、既に生児獲得後や採卵後3年以上が経過し不要となった余剰卵(廃棄卵)を使用します。所有する患者様には危険や問題が生じることはありません。

10 資料の保存と廃棄

これらの研究用に使用された受精卵は、本研究以外の目的で使用されることはありません。また、これらのサンプルはヒトやヒト以外の動物に戻すことはなく、本研究が終了次第すぐに破棄されます。尚、研究データに関しては研究終了後も保存します。

11 個人情報の保護

この臨床研究に参加した場合、患者様とその検体が同定できないように連結不可能匿名化されます。あなたを特定できる個人情報を取り扱うことはありませんので、あなたのプライバシーは完全に守られます。

研究結果は学術雑誌や学会で発表される予定です。その際にあなたのお名前や個人を特定できるような情報が使われることはありません。そのため、ご希望が有りましたも、あなたにご自分の研究結果をお知らせすることはできません。

12 本課題に関する問い合わせ先

この研究について疑問や不安があるときや、何かご相談やご意見があればいつでもご連絡ください。相談窓口は以下の通りです。

東北大学病院 産婦人科
住所：仙台市青葉区星陵町 1-1
電話番号：022-717-7254
FAX 番号：022-717-7258
担当医師：宇都宮裕貴

13 経過中及び終了後の対象者からのクレームにつきまして

この研究の途中で協力を中止したいと思っても、ご本人の検体を特定できませんので中断することは不可能です。また、調査中に不快な思いをされた場合などは、必ず担当医師にお伝えください。担当医師に言いにくい事は他のスタッフにお伝えいただいても結構です。いずれの場合でも、あなたの今後の治療で不利益を受けることはありません。

説明年月日 平成 年 月 日

説明者所属 _____

説明者氏名 _____