

# 情報公開文書

2024.01.12 第1版

1. 研究の名称：ヒト胆管オルガノイドを用いた急性毒性および遺伝毒性試験

2. 倫理審査と許可

京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院 医の倫理委員会の審査を受け、研究機関の長の許可を受けて実施しています。

3. 研究機関の名称・研究責任者の氏名

< 研究代表機関 >

京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座・特定教授・井上正宏  
< 共同研究機関 >

富士化学工業株式会社・LS 開発部・西田康宏  
株式会社 KBBM・オルガノイド研究部門長・三輪清

4. 研究の目的・意義

本研究では、肝臓から作製した胆管オルガノイドを用いて、シス型アスタキサンチンエステル製剤の急性毒性および遺伝毒性を評価します。健常者の胆管オルガノイドは生体肝移植ドナーの残余肝移植片から調製し、培養します。遺伝毒性は、全ゲノムシーケンシング、染色体構造異常解析、小核試験、造腫瘍能で評価します。急性毒性は、細胞死、細胞増殖、DNA損傷、CYP等の遺伝子発現変化で評価します。健常者胆管オルガノイドによるin vitroでの毒性試験は、代謝などの動物種の差による問題点が解消され、動物試験を使用しない代替法として様々な新規開発物質の肝毒性評価に応用できる可能性があります。

5. 研究実施期間

研究機関の長の実施許可日から 2027 年 03 月 31 日 まで

6. 対象となる試料・情報の取得期間

2019 年 4 月 1 日から 2022 年 3 月 31 日の間に、倫理申請（倫理委員会承認番号 R1671、課題名：がんの診断・治療に向けた新規 3 次元培養細胞リソースの構築）に基づいて、京都大学医学部附属病院にて行われた生体肝移植のドナー残余肝移植片から、京都大学大学院医学研究科クリニカルバイオリソース研究開発講座で作製された、胆管オルガノイド。

7. 試料・情報の利用目的・利用方法

取得の経緯と利用方法：本申請に基づいて取得した組織から胆管オルガノイドを作製します。また、これまでに倫理申請（R1671：がんの診断・治療に向けた新規3次元培養細胞リソースの構築）に基づいて、正常対照として取得・作製した胆管オルガノイドを2次利用します。正常な肝臓由来の胆管オルガノイドを用いて、アスタキサンチンによる肝臓の急性毒性及び遺伝毒性を評価します。胆管オルガノイドは、生体肝移植のドナーの肝臓を移植する際に生じるドナーの残余肝移植片を機械的、化学的処理を行うことにより調製し、培養をします。調製したオルガノイドを用い、下記の実験をおこないます。

)ヒト胆管オルガノイドを用いてアスタキサンチンの急性毒性を評価します。急性毒性の陽性コントロールは四塩化炭素を用います。陽性コントロールあるいは被験物質をオルガノイドに短時間曝露し、細胞死（PI staining 等）、細胞増殖（ATP アッセイ等）、DNA 損傷（ $\gamma$ -H2AX の免疫染色等）、CYP 関連遺伝子の遺伝子発現変化（RT-PCR 等）、培養上清の代謝物を評価します。また、長期曝露試験の陽性コントロールとして用いるビニルクロライド（VC）でも急性毒性を評価します。

)遺伝毒性の評価において、細胞間の遺伝子変化を回避するために、胆管オルガノイドを単一細胞にしてクローニングを行います。これをコントロールとして、)の長期薬剤曝露後の全ゲノムシーケンス解析の結果と比較することで遺伝毒性を評価します。また、造腫瘍性試験のコントロールとしても使用します。

)長期培養したヒト胆管オルガノイドの遺伝毒性は、陽性コントロールとアスタキサンチンに長期曝露（4か月程度）した後、再度クローナルオルガノイドを作製し、曝露前後のクローンを全ゲノムシーケンス（理研ジェネシスに委託）し、比較解析します。またアスタキサンチン、陽性コントロールを長期曝露したオルガノイドを免疫不全マウスに皮下移植し、腫瘍形成能を評価します。さらに、染色体核型解析による染色体構造異常解析（SRL に委託）小核試験を実施します。

本研究では、試料は同意をいただいた時に割り当てた研究用 ID のみを使用します。診療情報については、検体をいただいた時点の、性別、年齢、既往歴、治療歴が対象です。

#### 8. 利用する試料・情報の項目

生体肝移植の際に生じるドナーの残余肝移植片由来の胆管オルガノイド、および検体が採取された時点の、性別、年齢、既往歴、治療歴。

#### 9. 利用または提供を開始する予定日

研究機関の長の実施許可日以降

#### 10. 当該研究を実施する全ての共同研究機関の名称および研究責任者の職名・氏名

・富士化学工業株式会社・LS 開発部・西田康宏

上記解析結果と情報が伝えられます。アスタキサンチンを曝露した胆管オルガノイドの培養上清が提供され、代謝物の評価を行います。胆管オルガノイド、全ゲノム解析データ自体が提供されることはありません。

・株式会社 KBBM・オルガノイド研究部門長・三輪清

上記解析結果と胆管オルガノイドが提供され、京都大学医学研究科クリニカルバイオリソース研究開発講座の実験室内でヒト胆管オルガノイドを用いた試験(急性毒性試験、クローニング、遺伝毒性試験)を行います。ゲノム解析データ自体が提供されることはありません。

#### 11. 試料・情報の管理について責任を有する者の氏名または名称

井上正宏

京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座・特定教授

#### 12. 研究対象者またはその代理人の求めに応じて、研究対象者が識別される試料・情報の利用または他の研究機関への提供を停止すること及びその方法

ご自身の試料・情報を研究に利用されたくない方は、連絡先までその旨お知らせ頂ければ、解析対象から削除します。

#### 13. 他の研究対象者等の個人情報および知的財産の保護等に支障がない範囲内での研究に関する資料の入手・閲覧する方法

他の研究対象者等の個人情報及び知的財産に支障がない範囲で研究に関する資料の入手・閲覧が可能です。希望される方は、問合せ窓口までお知らせください。

#### 14. 研究資金・利益相反

##### 1) 研究資金の種類および提供者

本研究は、2つの資金源でおこなわれます。京都大学大学院クリニカルバイオリソース研究開発講座は、国立研究開発法人科学技術振興機構からの研究成果最適展開支援プログラム A-STEPの研究開発費で実施します。株式会社KBBMは、富士化学工業株式会社から委受託研究として、受託研究資金が提供されます。富士化学工業株式会社が株式会社KBBMに提供する資金は、富士化学工業株式会社が獲得した国立研究開発法人科学技術振興機構からの研究成果最適展開支援プログラムA-STEPの研究開発費です。

##### 2) 提供者と研究者との関係

・京都大学、富士化学工業株式会社は国立研究開発法人科学技術振興機構の研究成果最適展開支援プログラム A-STEP における研究契約に基づき共同研究を行います。

- ・株式会社 KBBM は業務委受託契約に基づき富士化学工業株式会社からの受託試験をおこないます。
- ・京都大学と株式会社 KBBM との共同研究契約に基づき設置されている産学共同講座である「クリニカルバイオリソース研究開発講座」の特定教授および特定助教の任に就いている研究者が企画、運営、解析、論文執筆に関与します。
- ・共同研究契約に基づく共同研究機関である株式会社 KBBM に雇用されており、京都大学のプロジェクト研究員である研究者が解析に関与します。
- ・富士化学工業株式会社より試料の無償提供を受けます。

### 3) 利益相反

利益相反について、京都大学利益相反ポリシー、京都大学利益相反マネジメント規程に従い、京都大学臨床研究利益相反審査委員会において適切に審査しています。

## 15. 研究対象者等からの相談への対応

### 1) 研究課題ごとの相談窓口

担当者：井上 正宏

所属：クリニカルバイオリソース研究開発講座

連絡先：京都市左京区吉田下阿達町 46-29 医薬系総合研究棟 503

連絡方法：masa\_inoue@kuhp.kyoto-u.ac.jp

### 2) 各研究機関における相談等窓口

#### 2) 京都大学の相談等窓口

京都大学医学部附属病院 臨床研究相談窓口

(Tel) 075-751-4748 (E-mail) ctsodan@kuhp.kyoto-u.ac.jp