

食品衛生基準科学研究費補助金

フードテックを応用した細胞培養食品の先駆的な調査検討による
食品衛生上のハザードやリスクに係る研究
ーリスクプロファイルの作成とモデル細胞実験系による検証・還元ー
(2 2 K A 1 0 0 5)

令和 6 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北嶋 聡

令和 7 (2025) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書（別添 3）

フードテックを応用した細胞培養食品の先駆的な調査検討による食品衛生上の
ハザードやリスクに係る研究 –リスクプロファイルの作成とモデル細胞実験系
による検証・還元–

北嶋 聡 ----- 1

II. 分担研究報告書（別添 4）

1. 細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る先駆的な調査検討

北嶋 聡 ----- 19

2. モデル細胞の分化増殖過程におけるエピジェネティクス解析

仁科博史 ----- 53

3. モデル家畜細胞の分化増殖過程におけるハザード解析

堀 正敏 ----- 56

4. モデル家禽細胞の分化増殖過程におけるハザード解析

福田公子 ----- 59

III. 研究成果の刊行に関する一覧表（別添 5） ----- 64

I. 総括研究報告書

食品衛生基準科学研究費補助金
令和6年度 総括研究報告書

フードテックを応用した細胞培養食品の先駆的な調査検討による食品衛生上のハザードや
リスクに係る研究 –リスクプロファイルの作成とモデル細胞実験系による検証・還元–
(22KA1005)

研究代表者 北嶋 聡

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部 部長

研究要旨

フードテック、すなわち食に関する最先端技術を活用した、食料システムの構築や国民の健康増進に資する食品の探索などの観点から、従来の生産方法とは異なる新たな方法で作られる、又はこれまでに食経験のない、若しくはこれまでとは違った方法により摂取されるような新規食品の研究開発が進められている。この代表例としては、骨格筋細胞といった家畜・家禽由来の様々な細胞を採取・培養し食肉の代用品を作る、「いわゆる培養肉」（肉と称するのは適切とは限らないため、以降「細胞培養食品」とする）の研究開発が国内外で進展している。現時点で国内では、技術の確立や市場化の目途は立っていないが、様々な研究会の設立をはじめ、研究開発の加速が見込まれ、将来、フードテックを活用した様々な「細胞培養食品」の上市化が想定され、その安全性評価に向けた課題の抽出について検討すべきタイミングを迎えている。本調査研究では、特に「細胞培養食品」に着目し、この食品衛生法上の取扱いを検討するため、そのハザードやリスクの特定に向けた課題の抽出をおこない、リスクプロファイルの作成ならびに、想定される今後の動向と方策につき考察することを目的とする。この際、学術的に能動的な調査に努め、あわせて、「細胞培養食品」のモデルとなり得る独自の細胞培養実験系を用いて、抽出した課題の妥当性について検証し、またこの結果を調査の方に還元し、その確度について補強する。＜各年度の目標＞ 令和4年度：ハザードやリスクの特定に向けた課題の抽出、令和5年度：リスクプロファイルの検討と抽出した課題の妥当性についての検証、令和6年度：リスクプロファイルの作成及び安全管理の提案。

本研究では具体的には、1) 細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査を行い、2) 調査において懸念されたハザードの事象につき、エピジェネティクス解析等を検討し、また 3) モデルとなるウシやニワトリ由来の細胞の分化増殖過程におけるハザード解析を検討した。そして、これらの結果を調査(1)の方に還元し、その確度について補強した。併せて、各種モデル系に係る補完的検討も実施し連携の向上と円滑な進捗を図った。

1) については、特に開発動向、ならびに安全性や衛生規制の動向を中心に、Web 上の公開情報の調査を実施し、それぞれの特徴を抽出した。調査に先立ち、細胞培養食品に関する便宜的な分類表を用意し、これに基づき調査結果を整理した。令和6年度(今年度)の調査検討では、1) 開発動向として昨年度の16件に引き続き、5社を加えた21件の開発事例を見出し分類表に基づいて整理した。培養の出発材料となる細胞については、初代培養細胞より

も株化細胞が主流となっており、ES 細胞や iPS 細胞の利用をはじめ、すでに別目的で産業化されている細胞の利用の可能性や、必ずしも従来の食肉の細胞に近づけようとしているとは限らないことを見出した。また、2) **規制動向** に関しては、細胞培養食品を取り扱う「**規制の枠組み**」として、シンガポールと EU では Novel Food の中に細胞培養食品に特化した規制の枠組みを新たに設定していること、韓国でも暫定規格・基準の認定対象として細胞培養食品を特定した枠組みを新たに設定したこと、オーストラリア・ニュージーランド及びイスラエルでは既存の規制枠に新規の食品を評価する Novel Food 枠を設けて細胞培養食品は当該枠で申請・評価が実施されていること、一方、米国には細胞培養食品に特化した枠組みはなく、既存の規制枠で扱うとしていることを見出した。「**上市プロセス**」については、Novel Foods として審査・承認を行う、いわば EU 型（シンガポール、EU、オーストラリア・ニュージーランド、イスラエル及び韓国）と、許認可制ではなく市販前コンサルテーションを行う、いわば米国型に大別でき、前者では所管する公的機関による安全性審査と市販前承認が必要であり、他方、後者（米国）では製品に対する許認可制が導入されていないが、FDA による市販前コンサルテーション（任意）の実施が推奨されており、調査対象としたいずれの国・地域においても上市前に安全性の確認を行うプロセスがあることを見出した。細胞培養食品固有の「**安全性審査項目と審査情報の公開**」については、シンガポールでは安全性評価要件の詳細が明示されているものの、審査結果は公開されておらず、審査における判断基準等は明確になっていないこと、他方、米国では、FDA による市販前コンサルテーションの資料が公開されていることを見出した。一方、EU、オーストラリア・ニュージーランド、イスラエル及び韓国では、必要な要件は明示されており、審査情報については、EU 及びオーストラリア・ニュージーランドで公開されることを見出した。公表されている「**承認の事例**」としては、2025 年 3 月の時点において、細胞培養食品の販売が許可又は可能となったのはシンガポール、米国、イスラエル及び香港のみである。イスラエルでは、2024 年 1 月 Aleph farm 社の培養ウシ肉が販売承認を取得し、シンガポールでは、Vow 社の培養ウズラ肉を 2024 年 4 月に販売承認し、香港では Vow 社のウズラ培養肉が 2 カ国目となる販売承認を 2024 年 11 月に取得した。2025 年 3 月に、豚由来の培養脂肪が、米国 FDA の市販前コンサルテーションを終了し、豚由来のものとしては世界で初めて販売が可能となる見通しである。国際食品規格の策定等を担う CODEX でも新たな食料源と生産システム (New food sources and production systems) の一つとして細胞培養食品に関する議論が展開されている。以上の調査・検討を踏えて、細胞培養食品に関して想定され得る潜在的なハザード因子を改めて抽出でき、**リスクプロファイルの作成及び安全管理の提案**について検討した。なお補完的な検討として、ハザード要因として懸念される正常型プリオンの発現制御に関し検討することとした。マウス筋芽細胞由来の C2C12 細胞を用いた解析の結果、細胞増殖因子の添加や 2 次元から 3 次元培養などの培養条件を変化させることにより、その遺伝子発現が、顕著に変動することを見出し、培養条件の選択理由の重要性に資する成果を得た。また、遺伝子配列欠損型のプリオン遺伝子プロモーターアッセイ系を用いた結果から、その遺伝子発現制御においては、プリオン遺伝子プロモーター領域上流のメチル化領域が関与していることが裏付けられた（北嶋）。

2)については、令和 5 年度（昨年度）から令和 6 年度（今年度）に亘る検討では、培養細胞の大量化において、その利用が期待される一方で、調査においてハザードとして懸念され

た因子の一つである転写共役因子 YAP 遺伝子に着目し、肝細胞内で YAP を発現する実験系を構築し解析したところ、細胞増殖には YAP の活性化が必要であるが、その活性化が強すぎるとがん発症に至ること、また、YAP の強い活性化はゲノム変化やエピジェネティクス変化を誘導することが示唆された。結論として、細胞増殖のために、YAP を利用する場合には、YAP 活性を適切に制御することが必要であることが示され、この事は、転写共役因子 YAP 遺伝子を潜在的なハザード因子として見出したことの妥当性を表すものとする（仁科）。

3) については、家畜細胞については、令和 6 年度（今年度）の検討では、ウシの大動脈平滑筋細胞を用いて、無血清培地での細胞増殖培養条件検討を行なった。また、ウシの気管由来単離平滑筋培養細胞について、昨年度の初代培養時と継代培養時での発現遺伝子の変動結果を踏まえた上で、FBS10%による血清培地で培養した後、無血清培地で培養することで変動遺伝子群が血清培地培養前（Primary cells）での遺伝子発現に戻る可塑性を有するか否かを検証した。その結果、血清培地での細胞培養継代によって変動した遺伝子群は、無血清培地での培養によっても初代培養時の状態に戻ることはなく、遺伝子変動に可塑性は認められなかった。以上の 3 年間の解析結果を踏まえ、細胞培養食品の安全性評価における一般的なターゲットバリデーションについてまとめた。すなわち、細胞培養食品に使用する動物に老齢個体は不向きであること、安定した培養技術・環境が求められること、及び、製品ごとに、生理活性物質の増減を含め、網羅的な遺伝子発現の確認が必要であること、である（堀）。

一方、家禽細胞については、令和 6 年度（今年度）の検討では、ニワトリ胚の砂嚢平滑筋分化の維持に向け、ハンギングドロップ法による 3D 培養系を確立に成功した。具体的には、1%FBS 存在下では分化状態を保ったまま 7 日間分裂できること、他方、10%FBS あるいは、ニワトリ胚抽出液の存在下では、分裂停止や細胞死が誘導されることが明らかとなった。これらの成果は、細胞培養食品の作製に際しての培養条件の選択理由の重要性に資する成果と考える。一方、培養条件によっては、間充織などの他種の細胞が急速に増殖することが観察されたことから、元々混入していた目的外細胞の急速な増殖にも注意する必要があることを明らかとした（福田）。

このように、細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査を、開発動向、ならびに安全性や衛生規制の動向を中心に行なった結果、それぞれの現状と特徴を整理することができ、また非意図的な細胞由来生理活性物質や新規のアレルゲンなどの潜在的なハザード因子を抽出して、リスクプロファイルを作成し、安全管理において重要と考えられる点の提案を行なった。各分担研究における検討は、転写共役因子 YAP 遺伝子をはじめ複数の潜在的なハザード因子として見出したことを表し、また細胞培養食品の作製に際しての、目的に合った細胞を特定する必要性と、使用する年齢・臓器部位・培養条件などの様々な選択理由の重要性に資する成果と考える。

本研究により、「細胞培養食品」の食品衛生法上の安全性評価に向けた課題や方策が明らかとなることが期待され、その安全性評価に向けた新たな制度の枠組みの設定といった行政支援として寄与することが期待される。同時にこの課題への方策を通して、食品衛生法上の安全性を担保した上での「細胞培養食品」の開発につながれば、その安全性について国際的にアピールする上でも重要な成果となり得る。以って、振興と規制の両面からの切れ目のない俯瞰的・長期的政策立案に寄与することが期待される。

研究分担者

仁科博史 東京科学大学・総合研究院・
難治疾患研究所・発生再生生物
学分野・教授

堀 正敏 東京大学大学院・農学生命科学
研究科・獣医薬理学研究室・
教授

福田公子 東京都立大学・理学研究科 生命
科学専攻・准教授

A. 研究目的

（背景）フードテック、すなわち食に関する最先端技術を活用した、食料システムの構築や国民の健康増進に資する食品の探索などの観点から、従来の生産方法とは異なる新たな方法で作られる、又はこれまでに食経験のない、若しくはこれまでとは違った方法により摂取されるような新規食品の研究開発が進められている。この代表例としては、骨格筋細胞といった家畜・家禽由来の様々な細胞を採取・培養し食肉の代用品を作る「食肉代替食品」の一種である「いわゆる培養肉」の研究開発が国内外で進展している。一般的に、細胞培養技術を用いて作られる食品を指すものと考えられるが、この定義については議論が続いている。規制上の正式名称も定まっていないが、“肉”と称するのは適切とは限らないため、以降「細胞培養食品」とする。現時点で国内では、技術の確立や市場化の目途は立っていないが、様々な研究会の設立をはじめ、研究開発の加速が見込まれ、将来、フードテックを活用した様々な「細胞培養食品」の上市化が想定され、その安全性評価に向けた課題の抽出について検討すべきタイミングを迎えている。

（目的）本調査研究では、特に「細胞培養食品」に着目し、この食品衛生法上の取扱いを検討するため、そのハザードやリスクの特定に向けた課題の抽出をおこない、リスクプロファイルの作成ならびに、想定される今後の動向と方策につき考察することを目的とする。この際、学術的に能動的な調査に努め、あわせて、「細胞培養食品」のモデルとなり得る独自の細胞培養実験系を用いて、抽出した課題の妥当性について検証し、またこの結果を調査の方に還元し、

その確度について補強する（先駆的な調査検討）。

（必要性）持続可能な開発目標（SDGs）の課題に取り組む機運の高まりと呼応し、国内外ともに「細胞培養食品」の開発が革新的に迅速に進む一方で、食経験がない、あるいは従来法とは異なる方法により作製されることが想定されることから、その食品衛生法上の安全性評価に向けた課題の抽出や方策だては急務となっている。

（特色・独創的な点）申請者らは基礎発生学あるいは畜産獣医学の立場から、本調査研究の核心である細胞の分化・増殖に関する国内を代表するエキスパートであり、また研究代表者の所属する毒性部は、日本における食品の安全性評価に係るセンター的役割を担うべく、基礎的研究から応用研究まで幅広い活動を行っているという特徴を有する。

（期待される効果）フードテックを応用した新開発食品には大きく3種、すなわち、大豆などの「植物由来食肉様食品」、昆虫由来たんぱく質などの「代替たんぱく質製品」、及び、当該の「細胞培養食品」が存在するが、この内、食経験がなく、若しくはこれまでとは違った方法により摂取されるという観点から、リスクプロファイルの作成が重要となる「細胞培養食品」に特に着目する。本調査研究により、「細胞培養食品」の食品衛生法上の安全性評価に向けた課題や方策が明らかとなることが期待され、その安全性評価に向けた新たな制度の枠組みの設定といった行政支援として寄与することが期待される。この際、調査研究だけではなく、この分野を代表する研究者らにより、実際にモデルとなる細胞培養系を用いて、検証とその検討結果の還元というサイクルを通して、ハザード予測の範囲と精度を含め、課題の妥当性を検証し、その確度について補強する。同時にこの課題への方策を通して、食品衛生法上の安全性を担保した上での「細胞培養食品」の開発につながれば、その安全性について国際的にアピールする上でも重要な成果となり得る。

また成果物については言うまでもなく、国内のみならず国際的なコンセンサスを得

られるレベルを以って、「細胞培養食品」に係る安全性評価法への提案に繋がるように図る。以って、振興と規制の両面からの切れ目のない俯瞰的・長期的政策立案に寄与することが期待される。

＜各年度の目標＞ 令和4年度：ハザードやリスクの特定に向けた課題の抽出、令和5年度：リスクプロファイルの検討と抽出した課題の妥当性についての検証、令和6年度：リスクプロファイルの作成及び安全管理の提案。

B. 研究方法

本研究では具体的には、1) 細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査を行い、2) 調査において懸念されたハザードの事象につき、エピジェネティクス解析等を検討し、また 3) モデルとなるウシやニワトリ由来の細胞の分化増殖過程におけるハザード解析を検討する。そして、これらの結果を調査(1)の方に還元し、その確度について補強する。併せて、各種モデル系に係る補完的検討も実施し、連携の向上と円滑な進捗を図る。これに呼応するかたちで、研究班を次の4つの分担課題によって構成し、研究を開始した。すなわち、細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る先駆的な調査検討と研究の総括(北嶋)、モデル細胞の分化増殖過程におけるエピジェネティクス解析(仁科)、モデル家畜細胞の分化増殖過程におけるハザード解析(堀)、モデル家禽細胞の分化増殖過程におけるハザード解析(福田)。

令和6年度(今年度)も、予定通りに、それぞれの分担研究課題に取り組んだ。以下に実験方法の概要を示す。

B-1:細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る先駆的な調査検討：

細胞培養食品に関する以下の2項目について、Web上の公開情報の調査を実施した。

1) 開発動向

2) 安全性や衛生規制の動向(規制の主体、安全性確保措置の内容)

「開発動向」については、細胞培養食品に関する研究開発を資金面などで推進する米

国のGFI (Good Food Institute) が公開している関連企業データベースから、知名度や予算獲得状況、開発の進捗状況等を勘案して、なるべく国や開発品の種類が偏らないように、令和6年度(今年度)は開発企業21社を選定して事例調査の対象とし、各企業の開発状況について当該企業の公式ホームページを中心に調査を行った。なお、GFIのデータベースに収載されている細胞培養食品の開発企業は2024年8月の時点で約180社にのぼり、すべての開発企業についての網羅的な調査は困難なことから、前述の21社に絞った事例調査とした。

「安全性や衛生規制の動向」に関する調査対象国は、日本、比較的議論が進んでいると思われるシンガポール、米国、欧州、オーストラリア及びニュージーランドとし、令和6年度(今年度)からイスラエル及び韓国を加えた。各国における規制の主体となる組織、法律、安全性確保措置などを調査対象とした。規制に関する組織として、例えば、日本では内閣府食品安全委員会、厚生労働省、農林水産省、環境省、消費者庁を、シンガポールではSFA (Singapore Food Agency)、米国ではFDA (Food and Drug Administration)、USDA-FSIS (United States Department of Agriculture - Food Safety and Inspection Service)、欧州ではEUレベルでのEFSA (European Food Safety Authority)、各国レベルではイギリスのFSA (Food Standards Agency) 及びオランダのNVWA (Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (オランダ語名称)、Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority (英語名称))、オーストラリア及びニュージーランドではFSANZ (Food Standards Australia New Zealand) を中心に調査した。さらに、令和5年度(昨年度)からWHO等の国際機関も調査対象に含めた。

また、インターネット検索においては、培養肉を意味する以下のキーワードで検索を行った：クリーンミート、細胞農業、純肉、培養肉、animal free meat、cell-based meat、cellular agriculture、clean meat、cultivated meat、cultured meat、in-vitro meat、lab-grown meat、slaughter-free meat。

情報収集を行った期間は、令和6年度(今年度)は令和6年8月下旬から10月下旬であり、個別に各項目において情報更新の都度、随時反映した。

＜補完的検討としてのプリオンの発現制御に関するレポーター遺伝子アッセイ＞

補完的検討により、連携の向上と円滑な進捗を図る。具体的には、ハザード要因として懸念される正常型プリオンの発現制御に関し検討することとした。正常型プリオン蛋白質の筋細胞での遺伝子発現制御を明らかにするため、令和6年度(今年度)は、C2C12細胞では、他の細胞株と比べ高いプロモーター活性を示すが、この活性への細胞増殖因子の添加や2次元から3次元培養などの条件の変化の影響、及び、この発現制御の詳細を検討するために、メチル化領域を欠損させたプロモーターを用いたプロモーターアッセイ系及びリアルタイムPCR法により検証を行った。

B-2:モデル細胞の分化増殖過程におけるエピジェネティクス解析:

B-2-1: YAP 遺伝子の活性化の強弱の効果の解析

令和5年度(昨年度)及び令和6年度(今年度)に亘り、培養細胞の大量化の利用が期待され、他方で、調査において懸念されたハザードの一つである転写共役因子YAP遺伝子に着目し、この活性化の強弱の効果を解析する目的で、複数種類の活性化型YAPをマウス肝に発現誘導した実験系を用いて検討した。

YAPの活性化体YAP(2SA)を発現する環状プラスミドを、Hydrodynamic法を用いてマウスの肝臓にモザイク状に導入した。その後、マウスの肝臓を回収し、組織学的解析、RNA-seq解析、Whole Exome Sequence (WES)解析、DNAメチル化解析を行った。ネットワーク解析には、NetworkAnalysist 3.0 (<https://www.networkanalyst.ca>)を使用した。

プラスミド

FlagタグおよびMycタグ×5(5つのMycがタンデムになっている)を付加したFull-length human YAP cDNAをpLIVEプラスミド(Mirus Bio)のXba Iサイトに挿入した発現ベクターを用いた。IRES型プラスミドも同様にFlag-Myc-YAP(2SA)-IRES-NLS-Cre cDNAをpLIVEプラスミドのXba Iサイトに挿入した発現プラスミドを用いた。YAP(1SA), YAP(2SA), YAP(5SA)はPCRを用いてサイト特異的に変異を導入したものをを用いた⁷。発現プラスミドに挿入されたそれぞれのcDNAはマウスAFPエンハンサーおよびマウスAlbuminプロモーターによって発現が誘導される。

Hydrodynamic tail vein injection (HTVi)

発現プラスミド(20 µg)をマウス体重の約10%量のTransIT-EE Hydrodynamic Delivery Solution(Mirus Bio)に希釈した(20-23gのマウスに対して2 ml)。実験に使用するマウスの尻尾を42-50℃のお湯に20-30秒浸し、2.5mlシリンジと27Gの注射針を用いて発現プラスミドを希釈した溶液を尾静脈から約7-8秒で導入した。

HE染色

マウス肝臓を4% paraformaldehyde (PFA)中、4℃で一晩振盪し、固定した。PFA固定後70% EtOH中で一晩固定した。EtOH固定後の肝臓は分葉し、Thermo Excelsior ESを用いてパラフィン置換した。パラフィン置換した肝臓を用いてパラフィンプロックを作製した。MICROM HM335Eを用いてパラフィンプロックを5 µmの厚みに薄切し、切片を作製した。薄切切片の脱パラフィンは、Xyleneで15分間×2回、100% EtOHで10分間×2回、90% EtOHで5分間×1回、

70% EtOH で 5 分間×1 回、流水で軽く洗浄後、Milli-Q で軽く洗浄する手順で行った。脱パラフィン後の切片を Mayer' s Hematoxylin で 10 分間染色し、42-45℃のお湯で 10 分間処理した後に、Eosin で 5 分間染色した。染色後の切片は 70% EtOH で 1 分間×1 回、100% EtOH で 3 分間×2 回、100% EtOH で 5 分間×1 回、Xylene で 5 分間×2 回洗浄する手順で透徹し、MOUNT-QUICK (DAIDO) とカバーガラスを用いて封入した。組織像の観察及び撮影は、BZ-X710 (KEYENCE)で行った。

RNAseq解析

RNA 配列解析は、タカラバイオ株式会社（日本、滋賀）に委託した。RNeasy Mini Kits (74104; QIAGEN, Hilden, German)を用いて、製造者の指示に従って total RNA を抽出した。抽出した RNA を DNase I (2270B; Takara, Shiga, Japan)とインキュベートし、ゲノムを分解させた。RNA の品質は、まず 1.5%アガロースゲルでの電気泳動で評価し、その後、吸光度計で評価した。遺伝子は、fold-change が 2 より大きいとき、差次的に発現しているとみなされた。GO 解析は、Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) tool (<https://david.ncifcrf.gov/>)を用いて行った。

B-3: モデル家畜・家禽細胞の分化増殖過程におけるハザード解析:

上述の調査とエピジェネティクス解析と併行し、モデル家畜・家禽細胞培養系を用いたハザードの検証をおこなう。具体的には、ウシの気管平滑筋細胞や大腸筋線維芽細胞を用い（堀）、他方ニワトリでは胚消化管平滑筋細胞を用い（福田）、継代による遺伝子発現変動をエンドポイントとして、増殖効率の違い、エピジェネティクスやがん化を検討し、調査によって得られる食品安全性上のハザードの妥当性に還元し、補強する。

B-3-1: モデル家畜細胞の分化増殖過程におけるハザード解析:

令和 6 年度（今年度）は、ウシ大動脈平滑筋細胞（第 2 継代細胞株、TOYOB0 CAB35405）を DMEM 培地 10% ウシ胎児血清下で培養した。細胞は 70%コンフレントの状態です 5 代まで継代して実験に供した。5 代継代した細胞を DMEM 無血清培地にて 24 時間培養した後、肝細胞増殖因子（Hepatocyte Growth Factor : HGF）c-Met アゴニスト（PepitiGrowth, Tokyo, 日本）30 ng/mL を添加し培養し、72 時間後に細胞増殖活性を測定した。

屠場よりウシの気管を入手し、気管平滑筋細胞をコラゲナーゼ/エラスターゼカクテルにて単離し、DMEM 培地 10% ウシ胎児血清下で培養した。細胞は 70%コンフレントの状態です 5 代まで継代した。その時の細胞を集め total RNA の抽出を行った。また、5 代まで継代した後に無血清培地にて 24 時間ごと 3 回無血清培地にて培養を継続した細胞を採取し、total RNA の抽出を行った。得られた total RNA をもとに、RNAseq 解析を行い変動する遺伝子の比較解析を行った。

B-3-2: モデル家禽細胞の分化増殖過程におけるハザード解析:

令和 4 年度（初年度）から令和 6 年度（今年度）に亘り、ヒペコネラ種のニワトリ 14 日胚を用いた。14 日胚の砂嚢、小腸を取り出し、平滑筋層を単離した。

細胞塊の作成

単離した 14 日胚の砂嚢の平滑筋層を眼科ハサミで細かく切断した後、パストールによるピペッティングを行い、直径 0.4 または 0.6 mm の細胞塊を作成した。

平面細胞培養

細胞塊を DMEM 培地 1 または 10% ウシ胎児血清 (FBS) 条件で、コラーゲンコートしたチャンバースライドに播種した。細胞は 5% CO₂ インキュベーターで 1、4、7 日間培養した。培養後に残った細胞塊は細胞塊は固定後、凍結切片作成し、 α Smooth muscle actin (α SMA) および calponin 抗体

で免疫染色をおこなった。

ハンギングドロップ培養

DMEM培地1、10%ウシ胎児血清(FBS)条件または、DMEM培地50%ニワトリ胚抽出液(EE)条件を用いた。EEは12日胚の胚全体を取り出してDMEM培地に1:1で混ぜ、ブレンダーにかけたものを遠心し、その上澄を用いた。

シャーレの蓋に20ulの培地を滴下し、培地の中に細胞塊を入れた後、PSBを入れたシャーレに蓋を被せることでハンギングドロップにし、5% CO₂インキュベーターで培養した。1、4、7日間培養した細胞塊は、凍結切片作成後、 α SMAおよびcalponin抗体で免疫染色をおこなった。さらにTuji-1及びN-CAM1抗体でも染色した。

EdUによる増殖細胞の検出

2次元およびハンギングドロップ法で培養中に、Click-iT™ EdU Cell Proliferation Kit for Imaging, Alexa Fluor™ 488 dye (Invitrogen)を用いて、増殖細胞を検出した。培養液を100 μ M EdUを含む培養液に変換し、4時間後に固定後、細胞塊を回収し、薄切、マニュアルに従って染色した。

(倫理面への配慮)

動物実験の計画及び実施に際しては、科学的及び動物愛護的配慮を十分行い、所属の研究機関が定める動物実験に関する規程、指針を遵守した。組換えDNA実験については「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」、およびこれに基づく政省令・告示に示される基準に適合し、かつ所属機関の承認を得ている。

C. 研究結果と考察

C-1: 細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る先駆的な調査検討 (北嶋):

令和4年度(初年度)、令和5年度(昨年度)、及び令和6年度(今年度)に亘り、予定通り、細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査を、1) 開発動向、ならびに2) 安全性や衛生規制の動向を中心に調査を実施した。

C-1-1: 細胞培養食品の開発動向:

開発企業数の動向としては、令和6年度(今年度)のGFIの開発企業データベースの調査から、細胞培養食品全体では2020年以降に設立した企業数が全体の半数以上を占め活発化している様相ではあるものの、2021年をピークに新規参入企業数が減少していることを見出した。家禽・家畜だけでなく、魚介類を開発する企業も約3割存在しており、魚介類も開発対象として引き続き注目されている状況が窺えた。

令和4年度(初年度)の調査終了時点(2023年3月末)における開発品の上市は、シンガポール政府が2020年12月に世界で初めて承認したEat Just社(米国)の鶏由来の細胞培養食品(チキンナゲット)と、翌2021年12月に承認された同社の鶏由来の形状の異なる製品(胸肉)の2品目のみであった。しかし、令和5年度(昨年度)の調査終了時点(2024年4月)では、米国でもUpside Foods社とGOOD Meat社(Eat Just社の細胞培養肉部門を担当する子会社)の鶏由来の細胞培養食品が販売可能となり(2023年6月)、シンガポールではVow社のウズラ由来の製品が承認され(2024年4月)、イスラエルでは世界初の牛由来の製品となるAleph Farms社の培養牛ステーキが承認されている(2024年1月)。令和5年度(昨年度)の1年間で細胞培養食品が販売可能となった国は3か国となり、製品の数も鶏4品目、ウズラ1品目、牛1品目、開発企業数は5社へと拡大したことになる。さらに、令和6年度(今年度)の調査終了時点(2025年3月)では、香港

で Vow 社のウズラ培養肉が 2 カ国目となる販売承認を取得し（2024 年 11 月）、米国では Mission Barns 社の培養豚脂肪が FDA による市販前コンサルテーションを終了し、これは豚由来の製品としては世界初である。まとめると、現時点までに販売承認を取得又は販売が可能となったのは、動物種 3 種（鶏、ウズラ、牛）、開発企業 4 社（Good Meat 社、Upside Foods 社、Aleph Farms 社、VOW 社）、国・地域 4 つ（シンガポール、米国、イスラエル、香港）である。

各開発企業のホームページを中心とした調査の結果、細胞培養食品の開発対象となっている生物種及び使用されている細胞の種類は多種多様であり、令和 4 年度（初年度）は出発材料の種類（初代培養細胞と株化細胞の区別）がそもそも不明なものが多かったが、令和 6 年度（今年度）の調査では初代培養細胞よりも株化細胞が主流となっていた。FDA と FSANZ が公表した資料によると、販売可能となった鶏由来の 2 品目と審査中のウズラ由来の 1 品目の細胞培養食品には、いずれも株化細胞が使用されている。多能性を有する幹細胞である ES 細胞や iPS 細胞に関する開発も進められており、前者は、イスラエル Aleph Farms 社やフランス Gourmey 社、後者はオランダ Meatable 社などである。注目すべきものとして、ワクチン製造の分野における鳥類の細胞株の細胞培養食品への利用が挙げられ、この例として、Eat Just 社（Good Meat 社）及び Gourmey 社）ものを挙げることができる。このように、すでに別目的で産業化されている細胞も対象となる可能性がある。また、筋肉や脂肪等への分化を行わない事例もあり、必ずしも従来の食肉の細胞に近づけようとしているとは限らないことになる。

由来する生物種では、牛や鶏が比較的多く利用されているようである。また、魚介類を専門に扱っている企業もある（Finless Foods社やShiok Meats社）。令和6年度（今年度）の調査では、GFIの企業リストにおける開発品種では牛肉が最も多いが、2番目として魚類、3番目として鶏肉が挙げられており、21件の開発事例のうち魚介類（サーモン、ク

ロマグロ、ハタ、甲殻類等）を開発対象とするものが7社と、魚介由来の開発事例が増えている事が窺えた。特筆すべきは、IntegriCulture社（日本）の「食べられる培養フォアグラ」すなわち骨格筋ではなく「肝細胞」を利用した製品開発であり、すなわち肉とはいえ骨格筋だけを対象としていないこととなる。

また、学術文献や特許の調査から、細胞培養食品の開発において課題となっている細胞の大量培養を可能にするための方法として、培養細胞のコンタクトインヒビションや器官サイズを制御する Hippo-YAP シグナル伝達経路が注目されていることを見出した。すなわち、YAP の活性化を介して Hippo シグナルを抑制することによって細胞増殖を促進し、細胞培養密度を高めることが期待されている。細胞の大量培養の工程こそが食品安全上もっとも未知の部分であること、また、Hippo-YAP シグナル伝達経路は幹細胞性の維持やがん化なども制御していることから、この経路に着目した潜在的なハザードの検討についても、本研究班のモデル細胞系を用いた分担研究課題（仁科）において行った。

C-1-2：安全性や衛生規制の動向：

シンガポール、米国、欧州、オーストラリア・ニュージーランド、イスラエル、韓国における細胞培養食品を取り扱う規制の枠組みと上市プロセスは、Novel Foods として審査・承認を行う、いわば EU 型（シンガポール、EU、AUS/NZ、イスラエル及び韓国）と、Novel Foods の枠組みを有しておらず、許認可制ではなく市販前コンサルテーションを行う、いわば米国型に大別できる。米国以外の国・地域では、細胞培養食品は Novel Foods の枠組みの中で規制され、所管する公的機関による安全性審査と市販前承認が必要である。シンガポールと EU では Novel Food の中に細胞培養食品に特化した規制の枠組みを新たに設定している。米国では製品に対する許認可制が導入されていないが、FDA による市販前コンサルテーション（任意）の実施が推奨されており、調査対象としたいずれの国・地域においても上市前に安全性の確認を

行うプロセスがある。細胞培養食品としての販売が最初に承認されたのは鶏で、次いでウズラの申請と続き、当初の開発研究の中心であった牛や豚のような家畜よりも、家禽の細胞培養食品の上市が先行した。

各国におけるリスク管理方法の動向としては、安全性評価に必要な情報は示されているが、各開発品の原料となる細胞や製造方法等が多岐にわたることから、細胞培養食品全般に適用できる承認基準等を示したガイドラインは策定されておらず、市販前の製品毎に個別の対応が行われている状況にあることを見出した。各国の規制当局による細胞培養食品の安全性に関する審査情報の公開状況に着目すると、EU 及びオーストラリア・ニュージーランドでは、細胞培養食品または Novel Food としての安全性審査に必要な要件は明示されており審査情報は公開となるが、一方、評価要件を公表しているシンガポールは審査資料及び審査結果を公開しておらず、許認可制を導入していない米国では市販前コンサルテーションの資料を公開しているのみで、いずれも審査における判断基準等は明確になっていないこと、また公表されている申請・評価・承認の事例としては、2025 年 3 月の時点において、細胞培養食品が販売可能となった地域はシンガポールと米国、イスラエル、香港の 4 か所で、鶏 4 品目（シンガポール、米国）、ウズラ 1 品目（シンガポール、香港）、牛 1 品目（イスラエル）に拡大したことを見出した。これらの情報は随時更新されていくことから、引き続き動向を注視していく必要がある。

C-1-3：潜在的なハザードの抽出及びリスクプロファイルの作成：

令和 5 年度（昨年度）及び令和 6 年度（今年度）は、FAO と WHO が 2023 年に公表した細胞培養食品（cell-based food）の安全性に関するレポートを検討したところ、このレポートでは、各国（オーストラリアおよびニュージーランド、カナダ、中国、欧州（EU、英国、スイス、ノルウェー、アイスランド）、インド、イスラエル、日本、カタール、シンガポール、および、米国）の規制状況の分析

に加えて、潜在的ハザード因子の包括的な検討を行っていることを見出した。このレポートでは、細胞培養食品の製造工程を 4 つの段階、すなわち、1) 細胞の調達、2) 細胞の増殖・生産、3) 細胞の採取、および、4) 食品加工に分け、各段階における潜在的ハザード因子を特定した結果、多くのものが既によく知られた従来の食品にも存在する因子であったことから、その安全性確保には適正製造規範や衛生規範、HACCP などの既存の前提条件プログラムが適用できるとしている。実際、国際食品規格の策定等を担う CODEX でも新たな食料源と生産システム（New food sources and production systems）の一つとして細胞培養食品に関する議論が展開されている。

また、FAO/WHO は、これらの潜在的ハザード因子に加えて、「潜在的ハザードの特定範囲に含まれない懸念事項」として、摂取後の細胞が生存して腫瘍を形成する可能性などを挙げているが、このレポート作成に係るテクニカルパネルによる検討において、その可能性は低いと評価されている。FAO/WHO が特定した合計 54 の潜在的ハザード因子について検討した結果、共通するものに着目すると、15 の因子に集約することができた。

ハザード因子のタイプとしては、①混入・汚染、②投入物の非意図的な残留、③食品成分の変化、④細胞からの非意図的な新規産生に関する、4 つのタイプに分類することができ、このうち、特に④を細胞培養食品に特徴的なハザード因子として抽出した。④には、新規毒素やアレルゲン、あるいは内因性毒素やアレルゲンの増加、細胞由来の遺伝物質の構造的・化学的变化が含まれている。また、「潜在的ハザードの特定範囲に含まれない懸念事項」の造腫瘍性については、原料となる細胞の特性や不死化の方法、培養や加工の方法によっては、潜在的ハザード因子として考慮する必要性が生じる可能性もあると考えられた。従来の食肉では腫瘍部位は除外して喫食しないようにしてきたため、この取り扱いとの整合性の面でも検討が必要である。

以上のことを考慮し、現時点で考えられるリスクプロファイルを作成しまとめた（北

嶋らの分担報告書参照)。リスクプロファイル作成の標準書として「農林水産省及び厚生労働省における食品の安全性に関するリスク管理の標準手順書」を参考にした。

ただし、この細胞培養食品のハザード因子の抽出及びリスクプロファイルの作成については、細胞培養食品の上市化がままならない現状では、収集した情報が不十分な可能性が高く、今後も、開発動向とあわせて調査・検討する必要があると考える。「細胞採取や培養の方法」「起原細胞の種類」「培養液中の成分や使用される物質」「遺伝子改変の有無」「最終製品の分析結果」等、現時点では不足している情報も存在するため引き続き検討していく必要がある。

C-1-4：安全管理において重要と考えられる点の提案：

さらに令和6年度（今年度）は、FAO/WHOのレポートに加えて、シンガポール食品庁の安全性評価要件、米国FDAの市販前コンサルテーションの資料、FSANZの評価資料をはじめとする諸外国の規制動向、ならびに開発動向をもとに、細胞培養食品の潜在的なハザード因子及びリスクプロファイルについて更なる検討を行ったところ、現時点で細胞培養食品の安全管理において重要と考えられる点は、簡潔にまとめると、以下のようになるものと思われた。

1_従来の食品にも想定されるハザード因子に係る安全性の確保には、危害要因分析重要管理点（HACCP）や適正製造規範（GMP）といった既存の手法が適用できるものと考ええる。

2_他方、細胞からの意図しない新規の生理活性物質・アレルゲン・毒素の産生または産生増加によるものは、細胞培養食品に特徴的な潜在的ハザード因子と考えられる。

3_食品は経口的に摂取されることを考慮すると、特に、消化液や熱に安定な変異タンパク質や生理活性物質にも注意を払う必要があるものと考えられる。なお、消化液でタンパク質が分解されたとしても、新規のものも含め、アレルゲンが存在する可能性は否定できないものと考ええる。

4_造腫瘍性についても、使用する細胞の種類によっては注意を払う必要があるものと考えられる。

5_開発の経緯として、技術的な障壁の高い商業規模で細胞を増産するための工夫や、使用した細胞、培養条件等の選択理由について、ハザードが高まっている可能性がないかを検討することが、細胞培養食品の潜在的な食品衛生上の脆弱性への対処において重要と考えられる。

特に2～4の点については、個々の製品毎の細胞の種類、遺伝子改変の有無、培養期間、加熱の有無、摂取量等によって注意を払う必要がある事項であり、個々の製品毎に、既存の評価手法の適用により安全が十分に確保可能かどうか慎重な検討が必要である。それぞれ新たな評価手法の開発が必要となる可能性も考えられる。

また、5の開発の経緯に関する点については、現時点で上市可能となった製品の公開資料ではこの情報が乏しいというのが実情である。しかしながら、実験室レベルで行える小規模な細胞培養ではなく、商業規模で細胞を大量に増殖させることは技術的に最も難しい課題であり、最も未知の部分でもあるため、食品安全上の潜在的な脆弱性を孕んでいる可能性がある。このような商業規模での細胞の増産を可能とするために行った工夫とその選択理由を含む、個々の製品の開発の経緯に関する情報について、ハザードが高まっている可能性がないかを慎重に検討する必要があると考えられる。

<補完的検討としてのプリオンの発現制御に関するレポーター遺伝子アッセイ>

令和4年度（初年度）は、マウスの正常型プリオンパク質をコードする遺伝子の上流1000bpのプロモーター領域を組み込んだレポーター遺伝子発現ベクターを作製し、マウス由来の筋細胞（C2C12）や神経細胞株（Neuro2A）を用い予備検討を行った。令和5年度（昨年度）及び令和6年度（今年度）は、安定導入株とTransient transfectionの細胞を用いて、培養条件

等の違いによるプリオン遺伝子のプロモーター活性の変動を検討した。また、リアルタイムPCR法によりマウスの組織及び細胞株におけるプリオン遺伝子発現変動の検討も行った。その結果、マウス筋芽細胞由来のC2C12細胞では、培養条件により他の細胞株と比べ高いプロモーター活性を示し、細胞増殖因子の添加や2次元から3次元培養などの培養条件の変化により正常型プリオン遺伝子の発現が顕著に変動することが確認され、特に、細胞増殖亢進時にプリオン遺伝子発現が増強されることを見出した。正常型プリオン蛋白質は、その発現の増減の生物学的な意義は明らかとはなっていないが、プリオン感染に関与する原因遺伝子であり、製造・加工時の細胞培養時に想定される細胞増殖に関する培養条件が、正常型プリオン遺伝子の発現に大きく関与していることを示唆した。特に、2次元培養やIGF添加などの細胞増殖亢進時にプリオン遺伝子発現が増強されることを見出し、培養条件の選択理由の重要性に資する成果を得た。また、遺伝子配列欠損型のプリオン遺伝子プロモーターアッセイ系を用いた結果から、その遺伝子発現制御においては、プリオン遺伝子プロモーター領域上流のメチル化領域が関与していることが裏付けられた。

C-2：モデル細胞の分化増殖過程におけるエピジェネティクス解析（仁科）：

C-2-1 肝細胞内で YAP を発現する実験系 n の構築と解析：

令和5年度（昨年度）から令和6年度（今年度）に亘り、培養細胞の大量化の利用が期待され、他方で、調査において懸念されたハザードの一つである転写共役因子 YAP 遺伝子に着目し、この活性化の強弱の効果を解析する目的で、複数種類の活性化型 YAP をマウス肝に発現誘導した実験系を用いて検討した。YAP の活性化の強さが閾値を超える

と、肝がんが生じること、この時にゲノム DNA のメチル化変化（エピジェネティック変化）が生じることを見出した。以下、より具体的に記載する。

リン酸化されるアミノ酸残基 Ser を Ala に置換した3種類の YAP 変異体（1SA, 2SA, 5SA）は、タンパク質の安定性や核への移行能力に違いがあり $5SA > 2SA > 1SA$ の順番の強弱を示す。1）野生型（WT）YAP に比較して、3種類の活性化型 YAP（1SA, 2SA, 5SA、それぞれセリン残基を1個アラニンに置換したもの、2個置換したもの、5個置換したものに対応する）はすべて肝細胞の増殖を促進することが示された。2）また、YAP（2SA）と YAP（5SA）は、4ヶ月経過すると肝がん発症を誘導した。興味深いことに YAP（1SA）は細胞増殖を促進したが、肝がん発症は誘導しなかった。次にがん化の原因を探索するために、YAP（2SA）発現による遺伝子変異やエピジェネティクス変化の解析を行った。その結果、3）既に多くのがん種で報告されているように体細胞ゲノム変化が生じていた。興味深いことに、アセチル化やメチル化のエピジェネティクス変化も誘導されていた。以上の結果は、細胞増殖には YAP の活性化が必要であるが、その活性化が強すぎるとがん発症に至ること、また、YAP の強い活性化は予想通り、ゲノム変化やエピジェネティクス変化を誘導することを示唆している。

この事は、転写共役因子 YAP 遺伝子を潜在的なハザード因子として見出したことの妥当性を表すものと考ええる。

C-3：モデル家畜・家禽細胞の分化増殖過程におけるハザード解析：

C-3-1：モデル家畜細胞の分化増殖過程におけるハザード解析（堀）：

令和6年度（今年度）は、ウシの大動脈平滑筋細胞を用いて、無血清培地での細胞増殖培養条件検討を行なった。また、ウシの気管由来単離平滑筋培養細胞について、昨年度の初代培養時と継代培養時との比較検討結果を踏まえた上で、その際の無血清培地の影響を検討した。

<ウシ大動脈平滑筋の無血清培養>

ウシ大動脈平滑筋細胞は 5 代まで 10% FBS 存在下で継代を継続したところ、安定した平滑筋細胞の形態と増殖を維持していた。5 代継代した細胞を無血清培地に交換し 24 時間培養後、c-Met アゴニスト 30 ng/mL を添加し培養し、さらに 72 時間後に細胞増殖活性を測定した。結果、c-Met アゴニスト添加の有無によって細胞数に有意な変動はなく、有意な細胞増殖活性は得られなかった。今後、c-Met アゴニストの濃度設定や、将来上市される予定の PDGF-BB や IGF-1 の代替ペプチドなどを用いて、無血清培地での細胞増殖培養条件の探索をさらに行っていく必要があると考えられた。

<ウシ気管平滑筋細胞の可塑性>

ウシ気管平滑筋を 10% ウシ胎児血清下で培養と継代を重ねると発現遺伝子群に変動が認められ、細胞の脱分化の可能性が考えられた（昨年度の成果）。そこで、令和 6 年度（今年度）は血清培地下での変化が無血清培地に戻すことで発現遺伝子が血清培養前に戻るか否か、発現遺伝子変動の可塑性について検証した。結果、ウシ胎児血清下で 5 代まで培養したウシ気管平滑筋細胞の遺伝子発現パターンは、5 代まで培養した細胞を 24 時間 x3 日間無血清培地にて培養した細胞から得られた遺伝子発現パターンとの間に差は認められず、継代によって変動した遺伝子変動に可塑性はないことがわかった。すなわち、一旦血清存在下で培養したウシ気管平滑筋細胞は増殖型に脱分化し、発現する遺伝子パターンは生体内での細胞とは異なり、もとは戻らない可能性が考えられた。今後、無血清培地での培養法の確立後に、発現する遺伝子群が生体内での遺伝子発現パターンと同じであるのか検証することが必要と考えられた。

以上の 3 年間の解析結果を踏まえ、細胞培養食品の安全性評価における一般的なターゲットバリデーションについてまとめた。すなわち、細胞培養食品に使用する動物に老齢個体は不向きであること、安定した培養技術・環境が求められること、及び、製品ごとに、生理活性物質の増減を含め、網羅的な遺伝子発現の確認が必要であること、で

ある。

C-3-2: モデル家禽細胞の分化増殖過程におけるハザード解析（福田）:

モデル家禽細胞培養系として、ニワトリの胚消化管平滑筋細胞に着目し、その中でも特に砂嚢平滑筋に注目した。一般に細胞の増殖と分化の維持は相反しているが、砂嚢平滑筋は発生中に高効率で増殖することが知られているため、砂嚢平滑筋は他の消化管平滑筋に比べて、高い増殖下でも平滑筋細胞の分化の維持ができるのではないかと考えた。

C-3-2-1: 三次元培養条件の検討

令和 6 年度（今年度）は、平滑筋細胞塊を這い出させることなく、三次元（3D）で培養すれば、胚の砂嚢内と同様に、平滑筋が分化を維持したまま増殖できるのではないかと考え、検討することとした。

<細胞塊の大きさの検討>

令和 5 年度（昨年度）の終わりに、0.2-0.6mm 程度の平滑筋細胞塊を用いてハンギングドロップ法による 3D 培養を試みたが、結果が安定しなかった。この結果が、細胞塊の大きさが違うことによる可能性を追求するため、細胞塊の大きさが直径 0.4 mm のものと 0.6 mm のものを選び、培養した。厚さはどちらも 0.2 mm 程度だった。直径 0.4 mm の細胞塊では培養液によらず、培養 2 日までに細胞塊の直径は 0.3 mm 程度に縮み、細胞密度が上がり、かつ球状になった。その後、DMEM-10%FBS 条件では、4 日、7 日と培養が進むにつれ細胞塊が大きくなり、0.6-7 mm ほどの直径の球となった。DMEM-1%FBS 条件では、それほど大きくはならず、7 日目の直径は 0.4 mm ほどだった。直径 0.6 mm の細胞塊では 0.4 mm の細胞塊と同様に 2 日までに細胞塊が縮んだが、その後、細胞塊は大きくなり、4 日を過ぎてから徐々に中心部が黒くなって、ネクロシスが疑われた。そこで、この後の解析は 直径 0.4 mm の細胞塊を使用することにした。

<EE 培地の検討>

ニワトリ消化管の器官培養では、ニワトリ胚抽出液(EE)を FBS の代わりに使うことが多い。そこで、DMEM-50%EE 条件で細胞塊を培養したところ、2 日までは同様だったが、4 日には塊の中心部が黒くなり、7 日には黒い部分が増えていた。切片からは細胞塊中心部に細胞が見られず、ネクロシスと思われた。このため、今後の解析では EE を使用しないことにした。EE を細胞塊の 2 次元培養で使った時は、細胞が 2 日でコンフルエントになるなど、EE 条件の増殖刺激が高いことが考えられ、それが細胞死の原因となっている可能性が高いものとする。

<DMEM-1 及び 10%FBS 条件での細胞分化の解析>

ハンギングドロップ法で培養した細胞塊内の細胞の分化を解析するため、細胞塊の切片を作成し、2 次元培養の時と同様に、平滑筋初期マーカーである α SMA、分化した平滑筋マーカーとされる calponin の発現を免疫抗体法で調べた。DMEM-1%FBS 条件では 2 日、4 日、7 日を通して、 α SMA、calponin ともに、細胞塊の最も外側に位置する細胞で非常に強いものの、内部も満遍なく発現していた。ただし、砂嚢で見られた平滑筋の束構造は見られず、細胞は全体で同様の方向に並んでいるだけだった。DMEM-10%FBS 条件では、2 日までは DMEM-1%FBS 条件と同様の組織構築、マーカータンパク質の発現だったが、4 日では細胞塊の一部に、 α SMA、calponin が両方とも出ていない領域が見られた。7 日ではそれがさらに顕著になっており、細胞塊の外側に α SMA、calponin が両陰性の領域が広がっていた。さらに、細胞塊の最も外側の α SMA 強陽性の細胞では calponin が発現していないものが多かった。ここでは、2 次元培養でも見られたように、平滑筋が脱分化している可能性が高い。

DMEM-10%FBS 条件で 4、7 日に見られる calponin 陰性の領域がどのような細胞でできているのかに興味を持った。そこで、胚の平滑筋細胞層に含まれると考えられる、間充細胞と神経叢の細胞に注目した。切片

を Tuji-1 (神経マーカー) および N-CAM1 (神経および砂嚢間充細胞マーカー) で染色したところ、Tuji-1 は calponin 陽性細胞に隣接して発現が少数見られたものの、塊にはなっておらず、神経叢の細胞が増殖し、 α SMA、calponin 陰性領域ができたとは考えづらかった。一方、N-CAM1 は Tuji-1 と重なる、少数の強い染色のほかに、弱い染色が細胞塊内に見られた。この染色は α SMA、calponin 陰性領域にあることもあったが、calponin 陽性領域と重なることもあった。このことは、間充細胞は calponin 陽性の平滑筋と混じって存在していること、間充細胞が増えて α SMA、calponin 陰性領域を作ることがあることを示唆している。

<DMEM-1 及び 10%FBS 条件での細胞増殖の解析>

DMEM-10%FBS 条件では、必ずしも平滑筋だけが増えているわけでないことが示唆されたため、本当に平滑筋細胞塊ハンギングドロップ培養で平滑筋が増殖したのかを EdU の細胞への取り込みと calponin の免疫染色を重ねることで解析した。DMEM-1%FBS 条件では、培養 4 日、7 日ともに calponin 陽性細胞が、EdU を取り込んでいることがわかった。また、EdU 陽性細胞は細胞塊全体に散らばっていた。このことは、平滑筋が分化を維持しながら増殖していることを強く示唆している。一方、DMEM-10%FBS 条件では、4 日では calponin 陽性細胞、陰性細胞の両方に EdU の取り込みが見られ、細胞塊全体に散らばっていた。7 日では、calponin 陰性細胞の方に EdU 陽性細胞が多く、また外側に EdU 陽性細胞が局在するのが見られた。これは DMEM-10%FBS 条件が平滑筋より他の細胞種の増殖条件に合っている可能性がある。

<2 次元培養での細胞塊の分化解析>

平滑筋細胞塊の DMEM-1%FBS 条件の 3 次元培養で、砂嚢平滑筋の分化を維持しながら増殖させることに成功したが、2 次元培養でも塊の部分では同じことが起こっている可能性があるため検証した。直径 0.4mm の細胞塊をコラーゲンコートしたディッシュにまき、DMEM-1%FBS 条件で培養後、残った細

胞塊を回収し、calponin の発現、EdU の取り込みを解析した。2 次元培養では細胞が次々と這い出すので、細胞塊は小さくなっていたが、細胞塊の中には、calponin、EdU 両陽性の細胞が存在しており、ここでも平滑筋が分化を維持しながら増殖していることが示された。

以上の結果から、砂囊平滑筋は細胞塊で培養することで、少なくとも 7 日間平滑筋が分化を維持しながら増殖できることを示した。細胞塊の外側、つまり、細胞接着が弱い細胞が α SMA 強陽性、calponin 陰性になり、脱分化したことを示していることは、昨年度 2 次元培養で示された、細胞接着が平滑筋の分化に重要であることをさらに裏付ける結果と考えられる。これらの成果は、細胞培養食品の作製に際しての培養条件の選択理由の重要性に資する成果と考える。

また、平滑筋細胞が一般的な細胞の増殖刺激条件である 10%FBS よりもかなり低い濃度である 1%FBS で増殖を維持していることは非常に興味深い。このことが、砂囊平滑筋が消化管の他の領域より、よく増殖し、平滑筋層が著しく厚くなる理由の一つである可能性がある。また、今回の培養で DMEM-10%FBS 条件下では、細胞塊は大きくなったが、その原因は平滑筋の増殖が 1%FBS 条件よりも上がったというよりは、間充織細胞などの他の細胞種、すなわち **目的外細胞** が盛んに増殖したためと考えられる。このことは「細胞培養食品」を作製する際に、条件をよく整えないと、一見増殖し収量は上がるものの、ターゲットではない、コンタミネーションまたは元々組織中に存在していた少数の細胞の割合が上昇してしまう可能性を示唆しており、細胞培養食品作製におけるリスクと考えられる。

D. 結論

このように、細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査については、特に開発動向、ならびに安全性や衛生規制の動向を中心に行った結果、それぞれの現状と特徴を整理することができた。補完的な検討として、ハザード要因として懸念される正常型プリオンの発現制御に関

し検討した結果、細胞増殖因子の添加や 2 次元から 3 次元培養などの培養条件を変化させることにより、その遺伝子発現が、顕著に変動することを見出し、培養条件の選択理由の重要性に資する成果を得た。また非意図的な細胞由来生理活性物質や新規のアレルゲンなどの潜在的なハザード因子を抽出して、リスクプロファイルを作成し、安全管理において重要と考えられる点の提案を行なった。他方、各分担研究における検討については、転写共役因子 YAP 遺伝子を潜在的なハザード因子として見出したことを表し、また細胞培養食品の作製に際しての、目的に適った細胞を特定する必要性と、使用する年齢・臓器部位・培養条件などの様々な選択理由に資する成果を得た。

本研究により、「細胞培養食品」の食品衛生法上の安全性評価に向けた課題や方策が明らかとなることが期待され、その安全性評価に向けた新たな制度の枠組みの設定といった行政支援として寄与することが期待される。同時にこの課題への方策を通して、食品衛生法上の安全性を担保した上での「細胞培養食品」の開発につながれば、その安全性について国際的にアピールする上でも重要な成果となり得る。以って、振興と規制の両面からの切れ目のない俯瞰的・長期的政策立案に寄与することが期待される。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表（抜粋）

○五十嵐智女、西村拓也、北嶋 聡：細胞培養食品の安全性に係る諸外国の規制動向について、食品と開発、2025；60 巻 6 号, 1-5, インフォーマ マーケッツ ジャパン（東京）[ISSN: 0911-3932]

Yu Takahashi, Takeshi Igawa, Chiyo Nanba, Hajime Ogino, Hideho Uchiyama, Satoshi Kitajima: Perichordal Vertebral Column Formation in Rana kobai. J Morph. 2025; 286: e70044. [doi.org/10.1002/jmor.70044]
Yuhji Taquahashi, Ken-ich Aisaki,

- Koichi Morita, Kousuke Suga, Satoshi Kitajima: Application of the matrix profile algorithm for detecting abnormalities in rat electrocardiograms. *Fundam. Toxicol. Sci.* 2024; 11(6): 289-296. [doi.org/10.2131/fts.11.289]
- Makiko Kuwagata, Yuko Doi, Hirokatsu Saito, Mariko Tsurumoto, Toshime Igarashi, Takuya Nishimura, Yuhji Taquahashi, Yoko Hirabayashi, Satoshi Kitajima: A 90-day repeated oral dose toxicity study of p-cymene in rats. *Fundam. Toxicol. Sci.* 2024; 11(4): 169-181. [doi.org/10.2131/fts.11.169]
- Kiyoshi Hashimoto, Hiroshi Arakawa, Rikako Imamura, Takuya Nishimura, Satoshi Kitajima, Takuya Sato, Kazuhide Makiyama, Takehiko Ogawa, Satoshi Yokota: A novel alternative method for long-term evaluation of male reproductive toxicity and its recovery using a pre-pubertal mouse testis organ culture system. *J Appl. Toxicol.* 2024; 44(5): 784-793. [doi.org/10.1002/jat.4584]
- Hidehobu Miyaso, Satoshi Yokota, Kousuke Suga, Yui Hashimoto, Céline Kouno, Kenta Nagahori, Masahiro Itoh, Satoshi Kitajima: Histological differences between the central and peripheral areas of the testes of busulfan-administered mice. *J Toxicol Sci.* 2024; 49(4): 139-149. [doi.org/10.2131/jts.49.139]
- Ryuichi Ono, Makiko Kuwagata, Mie Naruse, Akihito Watanabe, Masao Takano, Takuro Hasegawa, Hiromasa Takashima, Yusuke Yoshioka, Takahiro Ochiya, Yoko Hirabayashi, Satoshi Kitajima: Extracellular vesicle small RNAs secreted from mouse amniotic fluid induced by repeated oral administration of VPA to pregnant mice. *Fundam. Toxicol. Sci.* 2024; 11(1): 37-56. [doi.org/10.2131/fts.11.37]
- Takeshi Hase, Samik Ghosh, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Jun Kanno, Hiroaki Kitano, Ayako Yachie: DTox: A deep neural network-based in visio lens for large scale toxicogenomics data. *J Toxicol Sci.* 2024; 49(3): 105-115. [doi.org/10.2131/jts.49.105]
- 菅野 純、相崎健一、北嶋 聡: 遺伝子発現を指標とした毒性評価・予測, 単行本「化学物質の複合影響と健康リスク評価」, 2024; 第2章 複合曝露による毒性の評価手法 第1節, 医歯薬出版(東京) [ISBN: 978-4-263-73220-5]
- 齊藤洋克、北嶋 聡: 化学物質を発生-発達期に曝露した際の情動認知行動影響検出, 化学物質と環境: 化学物質と環境との調和をめざす情報誌, 184, 3-6, 2024
- Ryuichi Ono, Makiko Kuwagata, Mie Naruse, Akihito Watanabe, Masao Takano, Takuro Hasegawa, Hiromasa Takashima, Yusuke Yoshioka, Takahiro Ochiya, Yoko Hirabayashi, Satoshi Kitajima: Extracellular vesicle small RNAs secreted from mouse amniotic fluid induced by repeated oral administration of VPA to pregnant mice. *Fundam. Toxicol. Sci.* 2024; 11(1): 37-56. [doi.org/10.2131/fts.11.37]
- Yoshihiro Nishida, Katsuhiko Hanada. Satoshi Kitajima: Establishment of placental organoids and application of metabolomic analysis to reproductive toxicity studies. *Toxicology Letters*. Vol. 399, S2. S188, 2024. doi.org/10.1016/j.toxlet.2024.07.469
- Kurosawa T, Ikemoto-Uezumi M, Yoshimoto Y, Minato K, Kaji N, Chaen T, Hase E, Minamikawa T, Yasui T,

Horiguchi K, Iino S, Hori M, Uezumi A., Tissue-specific functions of MSCs are linked to homeostatic muscle maintenance and alter with aging. Aging Cell (2024) 23. e14299. DOI: 10.1111/ace1.14299

2. 学会発表 (抜粋)

○五十嵐智女、西村拓也、北嶋 聡: 細胞培養食品の開発や規制に関する最近の国際動向、第 51 回日本毒性学会学術年会、(2024. 7. 4)、福岡

○堀 正敏、三原大輝、後藤もも、徳永 弥月、茶園貴志、黒澤珠希、北嶋 聡: 細胞培養食品バイオハザード研究 2: 培養細胞の遺伝子発現における老齢個体の影響と継代による生体内有害物質合成/分解系の遺伝子変動、51 回日本毒性学会学術年会、(2024. 7. 4)、福岡

○五十嵐智女、西村拓也、北嶋 聡: 細胞培養食品(いわゆる培養肉)の開発と安全性確保に関する最新動向—家畜・家禽以外の動物種を含めて—、日本動物学会第 95 回長崎大会、(2023. 9. 14)、長崎

○北嶋 聡: いわゆる培養肉の開発動向とその食品安全に関する諸外国の規制動向、日本食品化学学会 第 40 回食品化学シンポジウム、(2024. 11. 15)、川崎

○仁科博史: JNK および Hippo リン酸化シグナル伝達経路の生理的役割、神戸大学 CMX 創発医学講演会(2024. 6. 24) 神戸

○金佳誼、福田公子: 砂嚢平滑筋細胞塊からの平滑筋細胞培養、第 47 回日本分子生物学会年会、福岡、2024 年 11 月 27-29 日

○金佳誼、福田公子: A 3D Culture System to Maintain Proliferation and Differentiation of Gizzard Smooth Muscle Cells. 第 58 回日本発生生物学会、第 77 回細胞生物学会合同大会、名古屋、2025 年 7 月 16-18 日

五十嵐智女、安彦行人、小野竜一、高橋 雄、桑形麻樹子、北嶋 聡: ゲノム編集によるノックインマウス作製時に生じた、オンターゲット部位の多様な変異とその次世代伝達、第 71 回日本実験動物学会総会、京都、2024 年 5 月 29 日、ポスター

北嶋 聡、高橋祐次、相崎健一、菅野 純: フグ毒テトロドトキシンを単回経口投与した際のマウス肝及び海馬 Pericellome トキシコゲノミクス、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7 月 3 日、口頭

横田 理、宮宗秀伸、菅 康佑、兼子 智、若山友彦、北嶋 聡: Reactive blue 2 の雄性生殖毒性評価への適用、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7 月 5 日、口頭

小野竜一、桑形麻樹子、成瀬美衣、渡邊章仁、鷹野正生、長谷川拓郎、高島宏昌、吉岡祐亮、落谷孝広、平林容子、北嶋 聡: バルプロ酸(VPA)の妊娠マウスへの反復投与により誘導される羊水由来の細胞外小胞 Small RNA、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7 月 5 日、口頭

齊藤洋克、横田 理、北嶋 聡: セルトリ細胞におけるビメンチンの免疫組織化学的変化と精子形成不全との関連、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7 月 3 日、ポスター

高橋祐次、相崎健一、森田紘一、菅 康佑、辻 昌貴、北嶋 聡: 心電図の異常検出法としてのマトリックスプロファイルアルゴリズムの応用、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7 月 4 日、ポスター

横田 理、前野 愛、北條 幹、辻 昌貴、森田 紘一、菅 康佑、相田麻子、広瀬 明彦、菅野 純、高橋 祐次、北嶋 聡: 多層力

ーボンナノチューブのマウス単回吸入曝露による肺負荷量の経時的変化、第51回日本毒性学会学術年会、福岡、2024年7月4日、ポスター

北嶋 聡： 毒性学 revisited-生命科学のパラダイムシフトと毒性学の進展-, 基調講演 6L-1「拮抗剤、分析と中毒」, 第46回日本中毒学会総会・学術集会, (2024.7.24.)、神戸

北嶋 聡： 網羅的分子毒性学からみたヒトと化学物質との共生, シンポジウム 3S02m「ヒトとヒト、異種生物、そして環境との「共生」を考える」, APPW2025(第130回日本解剖学会・第102回日本生理学会・第98回日本薬理学会 合同大会), 2025.3.19、千葉

Ryuichi Ono, Mie Naruse, Makiko Kuwagata, Yusuke. Yoshioka, Yoko Hirabayashi, Takahiro Ochiya, Masahito Ikawa, Satoshi Kitajima: Detection of EVs in Hepatotoxicity Using CD9-mEmerald Reporter Mouse, INTERNATIONAL SOCIETY FOR EXTRACELLULAR VESICLES ANNUAL MEETING 2024, (2024.5.12, Melbourne, Australia)、口頭

Ono R, Kuwagata M, Naruse M, Watanabe A, Takano M, Hasegawa T, Takashima H, Yoshioka Y, Ochiya T, Hirabayashi Y, Kitajima S: Extracellular Vesicle Small RNAs Secreted from Mouse Amniotic Fluid Induced by Repeated Oral Administration of VPA to Pregnant Mice, Annual Conference of the International Federation of Placenta Associations (IFPA 2024) (2024.9.4., Montreal, Canada)

Ryuichi Ono, Mie Naruse, Makiko Kuwagata, Yusuke. Yoshioka, Yoko Hirabayashi, Takahiro Ochiya, Masahito Ikawa, Satoshi Kitajima: Detection of extracellular vesicles (EVs) in Hepatotoxicity Using CD9-EGFP Reporter Mouse, 58th Congress of the European Societies of Toxicology (2024.9.20., Copenhagen, Denmark)

Ryuichi Ono, Mie Naruse, Yoko Hirabayashi, Takahiro Ochiya, Masahito Ikawa, Satoshi Kitajima: Evaluation of CD9-EGFP Reporter Mice for Organ-Specific EV Detection, ANNUAL MEETING of Society of Toxicology, 2024.3.17, Orlando、口頭

Ono R, Kuwagata M, Naruse M, Watanabe A, Takano M, Hasegawa T, Takashima H, Yoshioka Y, Ochiya T, Hirabayashi Y, Kitajima S: バルプロ酸 (VPA) の妊娠マウスへの反復投与により誘導される羊水由来の細胞外小胞 Small RNA、第51回日本毒性学会学術年会 (2024.6.21 福岡)、口頭

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Ⅱ． 分担研究報告書

食品衛生基準科学研究費補助金

フードテックを応用した細胞培養食品の先駆的な調査検討による
食品衛生上のハザードやリスクに係る研究
-リスクプロファイルの作成とモデル細胞実験系による検証・還元- (22KA1005)

令和6年度 分担研究報告書

分担研究課題：「細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る先駆的な調査検討」

研究分担者 北嶋 聡 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

研究協力者 西村拓也 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部
五十嵐智女 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

研究要旨

フードテック、すなわち食に関する最先端技術を活用した、食料システムの構築や国民の健康増進に資する食品の探索などの観点から、従来の生産方法とは異なる新たな方法で作られる、又はこれまでに食経験のない、若しくはこれまでとは違った方法により摂取されるような新規食品の研究開発が進められている。この代表例としては、骨格筋細胞といった家畜・家禽由来の様々な細胞を採取・培養し食肉の代用品を作る、「いわゆる培養肉」（肉と称するのは適切とは限らないため、以降「細胞培養食品」とする）の研究開発が国内外で進展している（Post M et al, Nature Food, 1 (7), 403-415 (2020)）。現時点で国内では、技術の確立や市場化の目途は立っていないが、様々な研究会の設立をはじめ、研究開発の加速が見込まれ、将来、フードテックを活用した様々な「細胞培養食品」の上市化が想定され、その安全性評価に向けた課題の抽出について検討すべきタイミングを迎えている。そこで本調査研究では、特に「細胞培養食品」に着目し、この食品衛生上の取扱いを検討するため、そのハザードやリスクの特定に向けた課題の抽出をおこない、リスクプロファイルの作成ならびに、想定される今後の動向と方策につき考察することを目的とする。この際、学術的に能動的な調査に努め、あわせて、「細胞培養食品」のモデルとなり得る独自の細胞培養実験系を用いて、抽出した課題の妥当性について検証し、またこの結果を調査の方に還元し、その確度について補強する（先駆的な調査検討）。本研究では具体的には、1) 細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査を行い、2) 調査において懸念されたハザードの事象につき、エビジェネティクス解析等を検討し、また3) モデルとなるウシやニワトリ由来の細胞の分化増殖過程におけるハザード解析を検討した。そして、これらの結果を調査(1)の方に還元し、その確度について補強した。併せて、各種モデル系に係る補完的検討も実施し連携の向上と円滑な進捗を図った。

本分担研究では、この目的に向け、上記1)を中心に検討した。すなわち、細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査を、開発動向、ならびに安全性や衛生規制の動向を中心に調査を実施した。この際、単調な情報収集・整理に終始するのではなく、初代培養系なのか細胞株培養系なのか等、学術的な基軸を拠り所とした能動的な調査に努めた。また併行して、研究分担者の各種モデル系に係る補完的検討も実施し、連携の向上と円滑な進捗を図った。

令和4年度（初年度）、令和5年度（昨年度）及び令和6年度（今年度）に亘り、予定通り、細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査を、開発動向、ならびに安全性や衛生規制の動向を中心に、Web上の公開情報について実施した。調査対象とした「細胞培養食品」は一般的に、細胞培養技術を用いて作られる食品を指すものと考えられるが、この定義については議論が続いている。**開発動向**については、研究開発を資金面などで推進する米国のGFI（Good Food Institute）が公開している関連企業データベースから選出した開発企業を対象とした。**規制動向**の調査対象国は、日本、比較的議論が進んでいると思われるシンガポール、米国、欧州、オーストラリア及びニュージーランドに加えて、令和6年度（今年度）からイスラエル及び韓国を加えた7つの国・地域とし、令和5年度（昨年度）からWHO等の国際機関も調査対象に含めた。調査に先立ち、とりまとめに際しての基本的な考え方を整理し、細胞培養食品の種類に関する便宜的な分類表を用意した。分類表では、出発材料の種類として、1) 生物個体由来（初代培養）、及び2) 細胞株由来の2つの基軸（縦軸）を設け、各々の横軸として、食品衛生上、考慮しなければならない要因、すなわち「由来する生物種、遺伝子組換えの有無、分化過程の有無、培地中の未知因子の有無（血清等）、培地中の抗菌剤の種類、選択培地の使用の有無、加熱（調理）処理の有無、抽出物としての使用の有無、細胞の足場の種類、培養装

置の種類」という項目を準備した。

その結果、令和4年度（初年度）の検討では、それぞれの特徴の例として、開発動向としては、シンガポール政府による世界初の承認事例を挙げることができ、他方、規制動向に関しては、シンガポールをはじめ、EU、オーストラリア・ニュージーランドでは、Novel Food の枠組みの中で細胞培養食品を取り扱っていることを見出したことを挙げることができる。さらに、本調査における検討をもとに、細胞培養食品に関して想定され得るハザードの抽出を試みた。令和5年度（昨年度）の調査検討では、開発動向としては、16 件の開発事例のうち魚介類（サーモン、クロマグロ、ハタ、甲殻類等）を開発対象とするものが 6 社と、魚介由来の開発事例が増えている事が窺え、他方、規制動向に関しては、この時点で細胞培養食品が販売可能となったのはシンガポールと米国、イスラエルの3か国である事、イスラエルでは世界初となる牛由来の製品が承認された事、韓国でも承認申請の受付を開始した事を見出し、また FAO と WHO が公表した 細胞培養食品の安全性に関するレポートでは、各国の規制状況の分析に加えて、潜在的ハザード因子の包括的な検討を行っている事を見出した。以上の調査・検討を踏えて、細胞培養食品に関して想定され得る潜在的なハザード因子を抽出した。

令和6年度（今年度）の調査検討では、1)開発動向として昨年度の16件に引き続き、5社を加えた21件の開発事例を見出し分類表に基づいて整理した。培養の出発材料となる細胞については、初代培養細胞よりも株化細胞が主流となっており、ES 細胞や iPS 細胞の利用をはじめ、すでに別目的で産業化されている細胞の利用の可能性や、必ずしも従来の食肉の細胞に近づけようとしているとは限らないことを見出した。また、2)規制動向に関しては、細胞培養食品を取り扱う「規制の枠組み」として、シンガポールと EU では Novel Food の中に細胞培養食品に特化した規制の枠組みを新たに設定していること、韓国でも暫定規格・基準の認定対象として細胞培養食品を特定した枠組みを新たに設定したこと、オーストラリア・ニュージーランド及びイスラエルでは既存の規制枠に新規の食品を評価する Novel Food 枠を設けて細胞培養食品は当該枠で申請・評価が実施されていること、一方、米国には細胞培養食品に特化した枠組みはなく、既存の規制枠で扱うことを見出した。「上市プロセス」については、Novel Foods として審査・承認を行う、いわば EU 型（シンガポール、EU、オーストラリア・ニュージーランド、イスラエル及び韓国）と、許認可制ではなく市販前コンサルテーションを行う、いわば米国型に大別でき、前者では所管する公的機関による安全性審査と市販前承認が必要であり、後者（米国）では製品に対する許認可制が導入されていないが、FDA による市販前コンサルテーション（任意）の実施が推奨されており、調査対象としたいずれの国・地域においても上市前に安全性の確認を行うプロセスがあることを見出した。細胞培養食品固有の「安全性審査項目と審査情報の公開」については、シンガポールでは安全性評価要件の詳細が明示されているものの、審査結果は公開されておらず、審査における判断基準等は明確になっていないこと、他方、米国では、FDA による市販前コンサルテーションの資料が公開されていることを見出した。一方、EU、オーストラリア・ニュージーランド、イスラエル及び韓国では、必要な要件は明示されており、審査情報については、EU 及びオーストラリア・ニュージーランドで公開されることを見出した。公表されている「承認の事例」としては、2025 年 3 月の時点において、細胞培養食品の販売が許可又は可能となったのはシンガポール、米国、イスラエル及び香港のみである。イスラエルでは、2024 年 1 月 Aleph farm 社の培養ウシ肉が販売承認を取得し、シンガポールでは、Vow 社の培養ウズラ肉を 2024 年 4 月に販売承認し、香港では Vow 社のウズラ培養肉が 2 カ国目となる販売承認を 2024 年 11 月に取得した。2025 年 3 月に、豚由来の培養脂肪が、米国 FDA の市販前コンサルテーションを終了し、豚由来のものとしては世界で初めて販売が可能となる見通しである。国際食品規格の策定等を担う CODEX でも新たな食料源と生産システム (New food sources and production systems) の一つとして細胞培養食品に関する議論が展開されている。以上の調査・検討を踏えて、細胞培養食品に関して想定され得る潜在的なハザード因子を改めて抽出でき、「リスクプロファイルの作成及び安全管理の提案」について検討でき、円滑に進捗した。

なお補完的な検討として、ハザード要因として懸念される正常型プリオンの発現制御に関し検討することとした。マウス筋芽細胞由来の C2C12 細胞を用いた解析の結果、細胞増殖因子の添加や 2 次元から 3 次元培養などの培養条件を変化させることにより、その遺伝子発現が、顕著に変動することを見出し、培養条件の選択理由の重要性に資する成果を得た。また、遺伝子配列欠損型のプリオン遺伝子プロモーターアッセイ系を用いた結果から、その遺伝子発現制御においては、プリオン遺伝子プロモーター領域上流のメチル化領域が関与していることが裏付けられた。

このように、細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査を、特に開発動向、ならびに安全性や衛生規制の動向を中心に行った結果、それぞれの現状と特徴を整理することができた。非意図的な細胞由来生理活性物質や新規のアレルゲンなどの潜在的なハザード因子を抽出して、リスクプロファイルを作成し、安全管理において重要と考えられる点の提案を行なった。

A. 研究目的

フードテック、すなわち食に関する最先端技術を活用した、食料システムの構築や国民の健康増進に資する食品の探索などの観点から、従来の生産方法とは異なる新たな方法で作られる、又はこれまでに食経験のない、若しくはこれまでとは違った方法により摂取されるような新規食品の研究開発が進められている。この代表例としては、骨格筋細胞といった家畜・家禽由来の様々な細胞を採取・培養し食肉の代用品を作る「食肉代替食品」の一種である「いわゆる培養肉」の研究開発が国内外で進展している (Post M et al, Nature Food, 1 (7), 403-415 (2020))¹。一般的に、細胞培養技術を用いて作られる食品を指すものと考えられるが、この定義については議論が続いている。規制上の正式名称も定まっていないが、“肉”と称するのは適切とは限らないため、以降「細胞培養食品」とする。現時点で国内では、技術の確立や市場化の目途は立っていないが、様々な研究会の設立をはじめ、研究開発の加速が見込まれ、将来、フードテックを活用した様々な「細胞培養食品」の上市化が想定され、その安全性評価に向けた課題の抽出について検討すべきタイミングを迎えている。

そこで本調査研究では、特に「細胞培養食品」に着目し、この食品衛生上の取扱いを検討するため、そのハザードやリスクの特定に向けた課題の抽出をおこない、リスクプロファイルの作成ならびに、想定される今後の動向と方策につき考察することを目的とする。この際、学術的に能動的な調査に努め、あわせて、「細胞培養食品」のモデルとなり得る独自の細胞培養実験系を用いて、抽出した課題の妥当性について検証し、またこの結果を調査の方に還元し、その確度について補強する(先駆的な調査検討)。

この際、単調な情報収集・整理に終始するのではなく、初代培養系なのか細胞株培養系なのか等、

学術的な基軸を拠り所とした能動的な調査に努めた。また併行して、研究分担者の各種モデル系に係る補完的検討も実施し、連携の向上と円滑な進捗を図った。この補完的検討として、ハザード要因として懸念されるプリオンの原因遺伝子である正常型プリオン蛋白質の発現制御に関し検討した。また特に令和6年度(今年度)の調査では、新たなリスク管理方法の動向に着目した検討を行い、引き続き、潜在的なハザードの抽出、リスクプロファイルの作成及び安全管理の提案について検討した。

B. 研究方法

B-1: 調査対象および情報収集の方法

細胞培養食品に関する以下の2項目について、Web上の公開情報の調査を実施した。

- 1) 開発動向
- 2) 安全性や衛生規制の動向(規制の主体、安全性確保措置の内容)

「開発動向」については、細胞培養食品に関する研究開発を資金面などで推進する米国のGFI (Good Food Institute) が公開している関連企業データベース²から、知名度や予算獲得状況、開発の進捗状況等を勘案して、なるべく国や開発品の種類が偏らないように、令和4年度(初年度)は開発企業12社、令和5年度(昨年度)は開発企業16社、令和6年度(今年度)は開発企業21社を選定して事例調査の対象とし、各企業の開発状況について当該企業の公式ホームページを中心に調査を行った。なお、GFIのデータベースに収載されている細胞培養食品の開発企業は2024年8月の時点で約180社にのぼり、すべての開発企業についての網羅的な調査は困難なことから、前述の21社に絞った事例調査とした。

「安全性や衛生規制の動向」に関する調査対象国は、日本、比較的議論が進んでいると思われるシンガポール、米国、欧州、オーストラリア及

¹ Post, M.J., Levenberg, S., Kaplan, D.L. et al. Scientific, sustainability and regulatory challenges of cultured meat. Nat Food 1, 403-415 (2020). <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0112-z>

² State of the Industry Report: Cultivated meat and

seafood <https://gfi.org/resource/cultivated-meat-eggs-and-dairy-state-of-the-industry-report/> (最終アクセス日: 2025年5月13日)

びニュージーランドとし、令和6年度（今年度）からイスラエル及び韓国を加えた。各国における規制の主体となる組織、法律、安全性確保措置などを調査対象とした。規制に関する組織として、例えば、日本では内閣府食品安全委員会、厚生労働省、農林水産省、環境省、消費者庁を、シンガポールではSFA（Singapore Food Agency）、米国ではFDA（Food and Drug Administration）、USDA-FSIS（United States Department of Agriculture - Food Safety and Inspection Service）、欧州ではEUレベルでのEFSA（European Food Safety Authority）、各国レベルではイギリスのFSA（Food Standards Agency）及びオランダのNVWA（Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit（オランダ語名称）、Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority（英語名称））、オーストラリア及びニュージーランドではFSANZ（Food Standards Australia New Zealand）を中心に調査した。さらに、令和5年度（昨年度）からWHO等の国際機関も調査対象に含めた。

また、インターネット検索においては、培養肉を意味する以下のキーワードで検索を行った：クリーンミート、細胞農業、純肉、培養肉、animal free meat、cell-based meat、cellular agriculture、clean meat、cultivated meat、cultured meat、in-vitro meat、lab-grown meat、slaughter-free meat。

包括的な情報収集を行った期間は、令和4年度（初年度）は、令和4年（2022年）6月下旬から8月下旬、令和5年度（昨年度）は令和5年8月中旬から10月初旬、令和6年度（今年度）は令和6年8月下旬から10月下旬であり、個別に各項目において情報更新の都度、随時反映した。

B-2： 調査に際しての基本的な考え方

細胞培養食品の開発動向についての調査の開始に先立ち、基本的な考え方を整理した（図1）。

「細胞培養」という言葉だけでは具体的に指しているものが曖昧模糊となるように考えられたた

め、学術的観点で便宜的な分類表を研究代表者の方で予め用意、提案した（表1）。この分類表は、無論、これらの項目を埋めること自体が目的なのではなく、あくまでも、調査に際して、当該細胞培養食品の位置づけや特徴をわかりやすく把握するための分類表である。

ここではまず大きく2つ、すなわち1) 生物個体由来、及び2) 細胞株由来に分け、これを基軸とした。前者は初代培養・プライマリー培養系、後者はiPS細胞などの各種幹細胞を含む、細胞株培養系をイメージしつつ、また指している。DNA配列によって決定される遺伝現象とは対照的に、DNAやヒストンへの後天的な化学修飾により制御される遺伝現象を「エピジェネティクス」と呼び、DNAのメチル化やヒストンのアセチル化、メチル化などが、後天的な修飾として作用する。2つに大別した理由は、細胞を培養する出発時点において、後者の株化細胞の方が生体組織内に存在する元の細胞からは性質が大きく変化しているため、ゲノムに変異が入る可能性が高いだけでなく、この「エピジェネティクス」の影響が、後者の方がはるかに大きいと考えられるためであり、この影響の評価を考慮する必要がある。

加えて、前者は各種細胞の混合物であることが多いため、混合物としての取り扱いをせざるを得ないと考えられるのに対して、後者は単一の細胞株である可能性が高いためである。すなわち、エピジェネティクスと各種細胞の混合物か否か、という観点から2つに大別した。アナロジーとしては、前者は閉鎖系である前提で発酵食品、後者は細胞医薬品であるように思える。

この2つの基軸（縦軸）につき、横軸として、食品衛生上、考慮しなければならない要因、すなわち「由来する生物種、遺伝子組換えの有無、分化過程の有無、培地中の未知因子の有無（血清等）、培地中の抗菌剤の種類、選択培地³の使用の有無、加熱（調理）処理の有無、抽出物として使用の有無、細胞の足場の種類、培養装置の種類」という項目を準備した。この内「由来する種」について

³ 選択培地とは、目的のDNA配列が導入された細胞を薬剤耐性によって選択する際に使用される、G418や

Puromycine、Hygromycineのような抗生物質を添加した培地などを想定している。

は、[ヒト、飼料安全法下の家畜・家禽・水産動物・ミツバチ、及び、これら以外の動植物(含む、昆虫)]という細目を用意した。これは、飼料安全法下で飼育されている種であれば、飼料に関する一定の安全性が担保されているが、そうでない場合は飼料の安全性についても検討する必要がある可能性があり、安全性を検討する対象の範囲が広がると考えられるためである。ヒト細胞を使用する場合には、いわゆる生命倫理の問題が生じることとなる。

以上のように、表1では縦軸で「初代培養系なのか、細胞株培養系なのか」を区別し、横軸で「食品衛生上、考慮しなければならない要因」を挙げ、細胞培養食品特有のハザードとの関連が想定される項目を設定した。こうした分類表を予め用意しておくことにより、網羅性をもって、横断的に、懸念点が考察できるように考えており、たとえ、関連する開発製品が急速に増加したとしても、対応できるものとする。

B-3: 補完的検討としての正常型プリオン蛋白質の発現制御に関するレポーター遺伝子アッセイ

補完的検討により、連携の向上と円滑な進捗を図った。具体的には、正常型プリオン蛋白質の発現制御に関し検討することとした。正常型プリオン蛋白質の筋細胞での遺伝子発現制御を明らかにするため、株化筋細胞を用い組織特異的に転写制御される培養条件(増殖期間、ストレス等)や培地成分(増殖因子や分化因子等)の有無について検討するため、マウス横紋筋由来細胞株C2C12及び比較対象としてマウス神経由来細胞株Neuro-2aを用い、レポーター遺伝子アッセイ系としてpNL2.2[NlucP/Hygro]ベクターにプリオン遺伝子のプロモーター領域約1000bpを導入したベクターを作製し検討した。令和6年度(今年度)は、C2C12細胞では、他の細胞株と比べ高いプロモーター活性を示すが、この活性への細胞増殖因子の添加や2次元から3次元培養などの条件の変化の影響、及び、この発現制御の詳細を検討するために、メチル化領域を欠損させたプロモーターを用いたプロモーターアッセイ系及びリアルタ

イムPCR法により検証を行った。

C. 研究結果及び考察

令和4年度(初年度)、令和5年度(昨年度)、及び令和6年度(今年度)に亘り、予定通り、細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査を、1) 開発動向、ならびに2) 安全性や衛生規制の動向を中心に調査を実施した。

C-1: 細胞培養食品の開発動向

開発企業数の動向としては、令和6年度(今年度)のGFIの開発企業データベースの調査から、細胞培養食品全体では2020年以降に設立した企業数が全体の半数以上を占め活発化している様相ではあるものの、2021年をピークに新規参入企業数が減少していることを見出した。家禽・家畜だけでなく、魚介類を開発する企業も約3割存在しており、魚介類も開発対象として引き続き注目されている状況が窺えた。

細胞培養食品の開発動向についての調査に先立ち、とりまとめに際しての基本的な考え方を整理し、予め用意した細胞培養食品の分類表(表1)に基づき調査したところ、令和4年度(初年度)の調査で見出した12件、令和5年度(昨年度)の16件を含めて、令和6年度(今年度)は21件の開発事例の情報を収集できた。各々の事例の開発状況と、細胞培養食品の種類に関する情報として、出発材料の種類(初代培養細胞と株化細胞の区別)、由来する生物種、遺伝子組換えの有無、分化過程の有無、培地中の未知因子の有無、培地中の抗菌剤の種類、選択培地の使用の有無、加熱処理の有無、抽出物としての使用の有無、細胞の足場の種類、培養装置の種類について、表2にまとめた。また、2025年3月時点までの細胞培養食品の開発と上市の時系列について、図2にまとめた。

令和4年度(初年度)の調査終了時点(2023年3月末)における開発品の上市は、シンガポール政府が2020年12月に世界で初めて承認したEat Just社(米国)の鶏由来の細胞培養食品(チキンナゲット)と、翌2021年12月に承認された同社の鶏由来の形状の異なる製品(胸肉)の2品目のみ

であった。しかし、令和5年度（昨年度）の調査終了時点（2024年4月）では、米国でも Upside Foods 社と GOOD Meat 社（Eat Just 社の細胞培養肉部門を担当する子会社）の鶏由来の細胞培養食品が販売可能となり（2023年6月）、シンガポールではVow社のウズラ由来の製品が承認され（2024年4月）、イスラエルでは世界初の牛由来の製品となるAleph Farms社の培養牛ステーキが承認されている（2024年1月）。令和5年度（昨年度）の1年間で細胞培養食品が販売可能となった国は3か国となり、製品の数も鶏4品目、ウズラ1品目、牛1品目、開発企業数は5社へと拡大したことになる。さらに、令和6年度（今年度）の調査終了時点（2025年3月）では、香港でVow社のウズラ培養肉が2カ国目となる販売承認を取得し（2024年11月）、米国ではMission Barns社の培養豚脂肪がFDAによる市販前コンサルテーションを終了し、これは豚由来の製品としては世界初である。まとめると、現時点までに販売承認を取得又は販売が可能となったのは、動物種3種（鶏、ウズラ、牛）、開発企業4社（Good Meat社、Upside Foods社、Aleph Farms社、VOW社）、国・地域4つ（シンガポール、米国、イスラエル、香港）である。

各開発企業のホームページを中心とした調査の結果、細胞培養食品の開発対象となっている生物種及び使用されている細胞の種類は多種多様であり、令和4年度（初年度）は出発材料の種類（初代培養細胞と株化細胞の区別）がそもそも不明なものが多かったが、令和6年度（今年度）の調査では初代培養細胞よりも株化細胞が主流となっていた。FDAとFSANZが公表した資料によると、販売可能となった鶏由来の2品目と審査中のウズラ由来の1品目の細胞培養食品には、いずれも株化細胞が使用されている。多能性を有する幹細胞であるES細胞やiPS細胞に関する開発も進

められており、前者は、イスラエルAleph Farms社やフランスGourmey社、後者はオランダMeatable社などである。注目すべきものとして、ワクチン製造の分野における鳥類の細胞株の細胞培養食品への利用が挙げられ、この例として、Eat Just社（Good Meat社）及びGourmey社ものを挙げることができる^{4, 5, 6, 7}。このように、すでに別目的で産業化されている細胞も対象となる可能性がある。また、筋肉や脂肪等への分化を行わない事例もあり、必ずしも従来の食肉の細胞に近づけようとしているとは限らないことになる。

由来する生物種では、牛や鶏が比較的多く利用されているようである。また、魚介類を専門に扱っている企業もある（Finless Foods社やShiok Meats社）。令和6年度（今年度）の調査では、GFIの企業リストにおける開発品種では牛肉が最も多いが、2番目として魚類、3番目として鶏肉が挙げられており、表2の21件の開発事例のうち魚介類（サーモン、クロマグロ、ハタ、甲殻類等）を開発対象とするものが7社と、魚介由来の開発事例が増えている事が窺えた。特筆すべきは、IntegriCulture社（日本）の「食べられる培養フォアグラ」すなわち骨格筋ではなく「肝細胞」を利用した製品開発であり、すなわち肉とはいえ骨格筋だけを対象としていないこととなる。

加えて、将来の想定として、既存の畜産物の代替ではなく、自然保護の観点からの生物種（うなぎ、マグロやクジラなど）に適用した場合の培養肉の有用性が考えられたが、食品の安全性というよりは、すでに、食用に供する対象としてふさわしいかという、倫理的、社会的な側面からの問題が掲げられている報告⁸が見出せ、こうした問題に注視しないといけなことが明らかとなった。その一方で、今後、開発対象となる動物種や細胞

⁴ Human Food Made with Cultured Animal Cells Inventory; <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=AnimalCellCultureFoods&id=001>（最終アクセス日：2025年5月13日）

⁵ ATCC, UMNSAH/DF-1 (CRL-3586); <https://www.atcc.org/products/crl-3586>（最終アクセス日：2025年5月13日）

⁶ Lin J, Yi X, Zhuang Y. Medium optimization based on comparative metabolomic analysis of chicken embryo fibroblast DF-1 cells. RSC Adv. 2019 Aug 30;9(47):27369-27377. doi: 10.1039/c9ra05128g. PMID: 35529190;

PMCID: PMC9070647.

⁷ Vive la France! Vive Gourmey's cell-based foie gras! ; <https://medium.com/point-nine-news/vive-la-france-vive-gourmeys-cell-based-foie-gras-c6959ab0dfff1>（最終アクセス日：2025年5月13日）

⁸ Stephens, N., Di Silvio, L., Dunsford, I., Ellis, M., Glencross, A., & Sexton, A. Bringing cultured meat to market: technical, socio-political, and regulatory challenges in cellular agriculture, Trends in food science & technology, 78, 155-166 (2018) DOI: 10.1016/j.tifs.2018.04.010

種が拡大していくことにより、細胞培養食品の製造に適した新たな動物種や組織、細胞が発見される可能性もと考えられた。

培地に関しては、当初はウシ血清などの動物由来の材料を使用して研究開発が始まっているが、製品化に向けたコストダウンや動物福祉(動物の権利も含む)を目的に、動物由来の成分を使用しない方向での研究開発が主流となっている。

抗菌剤や選択培地などといった人為的なものを、できるだけ使用しない方向で進んでいる傾向がみてとれ、表1の分類表の横軸部分の項目は、食品衛生上、あまり考慮しなくてもよい方向で動いているように思える。

ただし、今後、こうした動向はどうなるか注視する必要はあるが、こうした分類表を用意することにより、網羅性をもって、横断的に、懸念点が考察できるように考えており、たとえ、関連する開発製品が急速に増加したとしても、網羅的に分類した上で考察できるものとする。

また、学術文献や特許の調査から、細胞培養食品の開発において課題となっている細胞の大量培養を可能にするための方法として、培養細胞のコンタクトインヒビションや器官サイズを制御するHippo-YAPシグナル伝達経路が注目されていることを見出した^{9, 10, 11}。すなわち、YAPの活性化を介してHippoシグナルを抑制することによって細胞増殖を促進し、細胞培養密度を高めることが期待されている。細胞の大量培養の工程こそが食品安全上もっとも未知の部分であること、また、Hippo-YAPシグナル伝達経路は幹細胞性の維持やがん化なども制御していることから、この経路に着目した潜在的なハザードの検討についても、本研究班のモデル細胞系を用いた分担研究課題(仁科)において行った。

C-2: 安全性や衛生規制の動向

シンガポール、米国、欧州、オーストラリア・ニュージーランド、イスラエル、韓国における細胞培養食品に関する安全性や衛生規制の動向を表3にまとめた。これらの国・地域における細胞培養食品を取り扱う規制の枠組みと上市プロセスは、Novel Foodsとして審査・承認を行う、いわばEU型(シンガポール、EU、AUS/NZ、イスラエル及び韓国)と、Novel Foodsの枠組みを有しておらず、許認可制ではなく市販前コンサルテーションを行う、いわば米国型に大別できる(図3)。米国以外の国・地域では、細胞培養食品はNovel Foodsの枠組みの中で規制され、所管する公的機関による安全性審査と市販前承認が必要である。シンガポールとEUではNovel Foodの中に細胞培養食品に特化した規制の枠組みを新たに設定している。米国では製品に対する許認可制が導入されていないが、FDAによる市販前コンサルテーション(任意)の実施が推奨されており、調査対象としたいずれの国・地域においても上市前に安全性の確認を行うプロセスがある。細胞培養食品としての販売が最初に承認されたのは鶏で、次いでウズラの申請と続き、当初の開発研究の中心であった牛や豚のような家畜よりも、家禽の細胞培養食品の上市が先行した。

まず、2020年12月にシンガポール食品庁(SFA)が世界に先駆けてEat Just社の鶏の細胞培養食品の販売を承認し、2019年11月22日付のNovel Foodsの安全性評価要件の文書の中で細胞培養食品に特化した安全性評価に必要な情報を示した。この文書は随時更新されており、2023年7月20日付の文書¹²では、評価に必要な情報について、Q2.8で「一般的に、安全性評価には、製造工程に

⁹ Hadi J, Brightwell G. Safety of Alternative Proteins: Technological, Environmental and Regulatory Aspects of Cultured Meat, Plant-Based Meat, Insect Protein and Single-Cell Protein. Foods. 2021; 10(6):1226. <https://doi.org/10.3390/foods10061226>

¹⁰ Hippo patent (Memphis Meats): WO 2018/208628 A1 (15.11.2018)

¹¹ Liu Z, Lin L, Zhu H, Wu Z, Ding X, Hu R, Jiang Y, Tang C, Ding S, Guo R (2021) YAP Promotes Cell Proliferation and Stemness Maintenance of Porcine

Muscle Stem Cells under High-Density Condition. Cells, 10, 3069. <https://doi.org/10.3390/cells10113069>

¹² Requirements for the Safety Assessment of Novel Foods and Novel Food Ingredients, Singapore Food Agency. Updated 20 July 2023.

<https://www.sfa.gov.sg/docs/default-source/food-information/requirements-for-the-safety-assessment-of-novel-foods-and-novel-food-ingredients.pdf>

最新版が掲載される SFA の該当ページは下記

<https://www.sfa.gov.sg/food-information/novel->

おける細胞培養の同一性と遺伝的安定性、純度に関する情報、ならびに使用する全ての投入物（培地成分や足場材など）の同一性と純度に関する情報、さらに製造工程から生じる可能性のあるハザードに関する情報を含むべき」と説明されている。具体的な可否の基準は明示されていないが、例えば食品に使用されることが知られていない培地成分の安全性については、Q2. 11で最終的な培養肉の製品において残留しないことを示すか、残留する場合は、培地成分の残留レベルを従来法で成長させた食肉に存在する同一化合物と比較することや、培養肉における意図的な使用レベルを考慮した上で同一化合物の毒性データと比較することによって安全性を示すことができるとしている。遺伝子組換え生物／微生物を用いる場合は、遺伝子組換え生物の安全性評価項目が適用される。また、SFAの別の刊行物¹³によると、細胞培養食品の作り方として、酵母細胞やビールやヨーグルト用の乳酸菌の増殖など、既存の食品製造プロセスと同様に、細胞をバイオリクターに入れて増殖させる方法が想定されているようである（図4）。ただし、世界初となった鶏の細胞培養食品を販売承認した際の安全性評価に係る文書は公開されていない。2025年3月時点までに、シンガポールで販売承認されたのは、Eat Just社の鶏由来の2品目（2020年・2021年）、Vow社のウズラ由来の1品目（2024年4月）である。

米国では、2019年に審査の実施主体がUSDA-FSIS（米国農務省食品安全検査局）とFDA（米国

食品医薬品局）による分担体制で、FDAが市販前コンサルテーションを行うことがUSDA-FDA合意文書¹⁴にて発表された。2022年11月16日にUpside Foods社、2023年3月にGOOD Meat社の鶏の細胞培養食品がFDAの市販前コンサルテーションを終了し、FDAは両社の安全性に関する結論にこれ以上の疑問点はないことを表明¹⁵し、両社の製品はUSDAの認証取得を経て販売可能になったことが2023年6月に報道された。さらに、3例目として、2025年3月に豚由来の培養脂肪が米国FDAの市販前コンサルテーションを終了し、豚由来のものとしては世界で初めて販売が可能となる見通しである。FDAによる市販前コンサルテーションの文書は公開されており、Upside Foods社の開発品に用いられた細胞の不死化には遺伝子組換え技術が使用されている。FDAは培養動物細胞食品の市販前コンサルテーションに関する業界向けガイダンスの開発を行っているようであるが、公開予定が当初の2022年から遅れている¹⁶。

オーストラリア及びニュージーランドにおいても、培養肉はNovel Food（ただし定義は欧州のものとは異なる）として位置付けられている。培養肉固有の安全性審査項目は示されていないが、FSANZは成分によっては適用される可能性のある基準を公表している¹⁷。2023年2月27日付でオーストラリア・ニュージーランドの食品規制機関（FSANZ: Food Standards Australia New Zealand）がVow社のウズラの細胞培養食品の申請を受理し、評価を開始したことを公表した。審査

[food/novel-food](#)（最終アクセス日：2025年5月13日）

¹³ Singapore Food Agency (2021) “A growing culture of safe, sustainable meat”, Published 04 Jan 2021, Updated 22 Jan 2021.

<https://www.sfa.gov.sg/food-for-thought/article/detail/a-growing-culture-of-safe-sustainable-meat>（最終アクセス日：2024年4月23日）

¹⁴ Formal Agreement Between FDA and USDA Regarding Oversight of Human Food Produced Using Animal Cell Technology Derived from Cell Lines of USDA-amenable Species

<https://www.fda.gov/food/domestic-interagency-agreements-food/formal-agreement-between-fda-and-usda-regarding-oversight-human-food-produced-using-animal-cell>（最終アクセス日：2025年5月13日）

¹⁵ FDA Completes First Pre-Market Consultation for Human Food Made Using Animal Cell Culture

Technology

<https://www.fda.gov/food/cfsan-constituent-updates/fda-completes-first-pre-market-consultation-human-food-made-using-animal-cell-culture-technology>（最終アクセス日：2025年5月13日）

¹⁶ Foods Program Guidance Under Development. “Pre-market Consultation on Cultured Animal Cell Foods: Draft Guidance for Industry”

<https://www.fda.gov/food/guidance-documents-regulatory-information-topic-food-and-dietary-supplements/foods-program-guidance-under-development>（最終アクセス日：2025年5月13日）

¹⁷ Food Standards Australia New Zealand, “Cell-based meat”

<https://www.foodstandards.gov.au/consumer/safety/Cell-based-meat>（最終アクセス日：2024年4月23日）

中であることを公式発表しているのは、調査対象とした中ではオーストラリア・ニュージーランドのみである。評価資料を公開して2回のパブリックコメントの募集が行われ、2025年3月にFSANZがVow社の申請内容を承認し、正式な販売承認が目前である事を見出した。なお、Vow社のウズラの製品は2024年4月に先にシンガポール、同年11月に香港で販売承認を取得した。

欧州では培養肉はNovel Foodとして位置付けられ、EFSAが申請時に必要な培養肉固有の項目（安全性審査項目）をチェックリスト形式で提供している¹⁸。しかし、可否の基準は公表されていない。遺伝子組換え技術を使用した場合には遺伝子組換えの規制を適用すると明言している。

日本は、培養肉に特化した安全性評価の具体的な内容は今回の調査では見出せなかった。

さらに、当初の調査対象に含めていなかった国の動向として、イスラエル保健省が、2024年1月17日付でAleph Farms社の牛培養ステーキを承認した事を見出した¹⁹。これは牛由来の細胞培養食品の世界初の承認事例であるが、審査資料は公表されていない。

また、韓国の食品医薬品安全処(MFDS) (旧KFDA)が、2024年2月21日付でいわゆる培養肉・培養魚の承認申請の受付を開始した事を見出した²⁰。具体的には、「食品等の暫定基準及び規格認定基準」を改正・告示し、この中で、細胞培養を使用して生産された原料を食品として認めるための手続きが明確化され、承認申請を行えるようになった。ただし現時点では、提出資料の要件は定められ、また審査期間は270日間と定まっているものの、審査における判断基準、及び、審査結果の公開の有無については明確になっていない。

以上のように、各国におけるリスク管理方法

の動向としては、安全性評価に必要な情報は示されているが、各開発品の原料となる細胞や製造方法等が多岐にわたることから、細胞培養食品全般に適用できる承認基準等を示したガイドラインは策定されておらず、市販前の製品毎に個別の対応が行われている状況にある事を見出した。各国の規制当局による細胞培養食品の安全性に関する審査情報の公開状況に着目すると、EU及びオーストラリア・ニュージーランドでは、細胞培養食品またはNovel Foodとしての安全性審査に必要な要件は明示されており審査情報は公開となるが、一方、評価要件を公表しているシンガポールは審査資料及び審査結果を公開しておらず、許認可制を導入していない米国では市販前コンサルテーションの資料を公開しているのみで、いずれも審査における判断基準等は明確になっていないこと、また公表されている申請・評価・承認の事例としては、2025年3月の時点において、細胞培養食品が販売可能となった地域はシンガポールと米国、イスラエル、香港の4か所で、鶏4品目（シンガポール、米国）、ウズラ1品目（シンガポール、香港）、牛1品目（イスラエル）に拡大した事を見出した。これらの情報は随時更新されていくことから、引き続き動向を注視していく必要がある。

C-3: 潜在的なハザードの抽出及びリスクプロファイルの作成

本調査において収集したシンガポール食品庁によるNovel Foodsの安全性評価要件について、細胞培養食品の生産・製造において想定されている主な潜在的ハザードを抽出し、表4にまとめた。シンガポールの当該文書を引用することにした理由は、本調査における検討により抽出したハ

¹⁸ European Food Safety Authority (2018) "Administrative guidance on the submission of applications for authorisation of a novel food pursuant to Article 10 of Regulation (EU) 2015/2283", EFSA supporting publication 2018:EN-1381, Published: 15 February 2018, Approved: 7 February 2018, doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN-1381 <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1381> (最終アクセス日: 2025年5月13日)

¹⁹ イスラエル保健省 <https://www.gov.il/he/Departments/news/17012024-02> (最終アクセス日: 2025年5月13日)

²⁰ 韓国 MFDS 「食品等の暫定基準及び規格認定基準」一部改正告示 https://www.mfds.go.kr/brd/m_207/view.do?seq=14965&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=1 (最終アクセス日: 2025年5月13日)

ザードと同じものが想定されていたからである。本調査において最初に掲げた、細胞培養食品の安全性確保において確認が必要な観点を項目とした表1と合わせて検討した結果、本研究班が特に注目すべきハザードは、生物個体より採取した初代培養細胞よりも大きな性質の変化が生じている可能性のある、株化細胞を用いた場合の、人工消化液等で分解されない異常型プリオンのような変異タンパク質やアレルゲン、甲状腺ホルモン、ヒスタミンのような低分子の生理活性物質の産生の可能性であると考えられる。甲状腺ホルモンに関連する例として、ハンバーガーの中に牛の甲状腺が混入したために起こった甲状腺中毒症が知られている^{21, 22, 23}。ヒスタミンに関しては、ヒスタミンが高濃度に蓄積された食品、特に魚類及びその加工品を食べることにより発症する、アレルギー様の食中毒が知られており、ヒスタミンは熱に安定であり、また調理加工工程で除去できない²⁴。このような、加熱や消化液にも安定で、有害作用のある物質が重要なハザードと考えられる。ただし、令和6年度（今年度）の開発動向の調査結果より、特に魚介類由来の細胞を用いた場合については、家畜・家禽由来の場合との大きな相違点として、生食を想定した製品開発が行われていることにも注意が必要である。

また、細胞培養食品のハザードの同定と安全

性の確認を行うためには、製品ごとに、製造方法を明らかにすること、培養に用いたすべてのものについての品質および特性を確認することが前提と考える。

昨年度及び今年度は、FAO と WHO が 2023 年に公表した細胞培養食品（cell-based food）の安全性に関するレポートを検討したところ、このレポートでは、各国（オーストラリアおよびニュージーランド、カナダ、中国、欧州（EU、英国、スイス、ノルウェー、アイスランド）、インド、イスラエル、日本、カタール、シンガポール、および、米国）の規制状況の分析に加えて、潜在的ハザード因子の包括的な検討を行っていることを見出した（表5）。このレポートでは、細胞培養食品の製造工程を 4 つの段階、すなわち、1) 細胞の調達、2) 細胞の増殖・生産、3) 細胞の採取、および、4) 食品加工に分け、各段階における潜在的ハザード因子を特定した結果、多くのものが既によく知られた従来の食品にも存在する因子であったことから、その安全性確保には適正製造規範や衛生規範、HACCP などの既存の前提条件プログラムが適用できるとしている。実際、国際食品規格の策定等を担うCODEXでも新たな食料源と生産システム（New food sources and production systems）の一つとして細胞培養食品に関する議論が展開されている^{25, 26, 27}。また、

²¹ Parmar MS, Sturge C. Recurrent hamburger thyrotoxicosis. CMAJ. 2003 Sep2;169(5):415-7. <https://www.cmaj.ca/content/cmaj/169/5/415.full.pdf>（最終アクセス日：2025 年 5 月 13 日）

²² Hedberg CW, Fishbein DB, Janssen RS, Meyers B, McMillen JM, MacDonald KL, White KE, Huss LJ, Hurwitz ES, Farhie JR, et al. An outbreak of thyrotoxicosis caused by the consumption of bovine thyroid gland in ground beef. N Engl J Med. 1987 Apr 16;316(16):993-8. doi: 10.1056/NEJM198704163161605.

²³ Kinney JS, Hurwitz ES, Fishbein DB, Woolf PD, Pinsky PF, Lawrence DN, Anderson LJ, Holmes GP, Wilson CK, Loschen DJ, et al. Community outbreak of thyrotoxicosis: epidemiology, immunogenetic characteristics, and long-term outcome. Am J Med. 1988 Jan;84(1):10-8. doi: 10.1016/0002-9343(88)90002-2.

²⁴ ヒスタミンによる食中毒について（厚生労働省 HP）
<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000130677.html>（最終アクセス日：2025 年 5 月 13 日）

²⁵ REPORT OF THE EIGHTY FIRST SESSION OF

THE
EXECUTIVE COMMITTEE OF THE CODEX
ALIMENTARIUS COMMISSION ;
https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworksp.ace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-702-81%252FFinal%252520Report%252FFREP21_EXEC2e.pdf（最終アクセス日：2025 年 5 月 13 日）

²⁶ REPORT OF THE EIGHTY FIRST SESSION OF
THE
EXECUTIVE COMMITTEE OF THE CODEX
ALIMENTARIUS COMMISSION ;
https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworksp.ace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-702-81%252FFinal%252520Report%252FFREP21_EXEC2e.pdf（最終アクセス日：2025 年 5 月 13 日）

²⁷ CCEXEC 86 ; <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/meetings/detail/en/?meeting=CCEX>

FAO/WHOは、これらの潜在的ハザード因子に加えて、「潜在的ハザードの特定範囲に含まれない懸念事項」として、摂取後の細胞が生存して腫瘍を形成する可能性などを挙げているが、このレポート作成に係るテクニカルパネルによる検討において、その可能性は低いと評価されている。FAO/WHOが特定した合計54の潜在的ハザード因子について検討した結果、共通するものに注目すると、表5に示した15の因子に集約することができた。ハザード因子のタイプとしては、①混入・汚染、②投入物の非意図的な残留、③食品成分の変化、④細胞からの非意図的な新規産生に関する、4つのタイプに分類することができ、このうち、特に④を細胞培養食品に特徴的なハザード因子として抽出した。④には、新規毒素やアレルゲン、あるいは内因性毒素やアレルゲンの増加、細胞由来の遺伝物質の構造的・化学的变化が含まれている。また、「潜在的ハザードの特定範囲に含まれない懸念事項」の造腫瘍性については、原料となる細胞の特性や不死化の方法、培養や加工の方法によっては、潜在的ハザード因子として考慮する必要が生じる可能性もあると考えられた。従来の食肉では腫瘍部位は除外して喫食しないようにしてきたため、この取り扱いとの整合性の面でも検討が必要である。

以上のことを考慮し、現時点で考えられるリスクプロファイルを、表6、表7にまとめた。2つの表の内容は本質的には同じであるが、表7では各ハザードに対する検査法等についても検討した。リスクプロファイル作成の標準書として「農林水産省及び厚生労働省における食品の安全性に関するリスク管理の標準手順書²⁸」を参考にした。

ただし、この細胞培養食品のハザード因子の抽出及びリスクプロファイルの作成については、細胞培養食品の上市化がままならない現状では、収集した情報が不十分な可能性が高く、今後も、開発動向とあわせて調査・検討する必要があると

考える。「細胞採取や培養の方法」「起原細胞の種類」「培養液中の成分や使用される物質」「遺伝子改変の有無」「最終製品の分析結果」等、現時点では不足している情報も存在するため引き続き検討していく必要がある。

C-4：安全管理において重要と考えられる点の提案

さらに令和6年度（今年度）は、FAO/WHOのレポートに加えて、シンガポール食品庁の安全性評価要件、米国FDAの市販前コンサルテーションの資料、FSANZの評価資料をはじめとする諸外国の規制動向、ならびに開発動向をもとに、細胞培養食品の潜在的なハザード因子及びリスクプロファイルについて更なる検討を行ったところ、現時点で細胞培養食品の安全管理において重要と考えられる点は、簡潔にまとめると、以下のようなものと思われた。

1_従来の食品にも想定されるハザード因子に係る安全性の確保には、危害要因分析重要管理点（HACCP）や適正製造規範（GMP）といった既存の手法が適用できるものと考ええる。

2_他方、細胞からの意図しない新規の生理活性物質・アレルゲン・毒素の産生または産生増加によるものは、細胞培養食品に特徴的な潜在的ハザード因子と考えられる。

3_食品は経口的に摂取されることを考慮すると、特に、消化液や熱に安定な変異タンパク質や生理活性物質にも注意を払う必要があるものと考えられる。なお、消化液でタンパク質が分解されたとしても、新規のものも含め、アレルゲンが存在する可能性は否定できないものと考ええる。

4_造腫瘍性についても、使用する細胞の種類によっては注意を払う必要があるものと考えられる。

5_開発の経緯として、技術的な障壁の高い商業規模で細胞を増産するための工夫や、使用した細胞、培養条件等の選択理由について、ハザードが高まっている可能性がないかを検討することが、細胞培養食品の潜在的な食品衛生上の脆弱性への対処において重要と考えられる。

特に2～4の点については、個々の製品毎の細胞

の種類、遺伝子改変の有無、培養期間、加熱の有無、摂取量等によって注意を払う必要がある事項であり、個々の製品毎に、既存の評価手法の適用により安全が十分に確保可能かどうか慎重な検討が必要である。それぞれ新たな評価手法の開発が必要となる可能性も考えられる。

また、5の開発の経緯に関する点については、現時点で上市可能となった製品の公開資料ではこの情報が乏しいというのが実情である。しかしながら、実験室レベルで行える小規模な細胞培養ではなく、商業規模で細胞を大量に増殖させることは技術的に最も難しい課題であり、最も未知の部分でもあるため、食品安全上の潜在的な脆弱性を孕んでいる可能性がある。このような商業規模での細胞の増産を可能とするために行った工夫とその選択理由を含む、個々の製品の開発の経緯に関する情報について、ハザードが高まっている可能性がないかを慎重に検討する必要があると考えられる。

以上、諸外国における規制動向及び開発動向をふまえた、細胞培養食品の潜在的なハザード因子の検討をもとに、その安全管理において重要と考えられる点について簡潔にまとめた。将来的には、技術開発が進むことにより、例えば医学・生物学的な特徴づけが十分になされていないような、より新規性の高い細胞についても検討が必要になってくることも想定され、細胞培養食品の開発を見据えた、潜在的なハザード因子の継続的な調査・検討が必要と考える。

C-5: 補完的検討としてのプリオンの発現制御に関するレポーター遺伝子アッセイ

令和4年度（初年度）は、マウスの正常型プリオンパク質をコードする遺伝子上流1000bpのプロモーター領域を組み込んだレポーター遺伝子発現ベクターを作製し、マウス由来の筋細胞（C2C12）や神経細胞株（Neuro2A）を用い予備検討を行った。令和5年度（昨年度）及び令和6年度（今年度）は、安定導入株とTransient transfectionの細胞を用いて、培養条件等の違いによるプリオン遺伝子プロモーター活性の変動を検討した。また、リアルタイムPCR法によりマウスの組織及び細胞株におけるプリオン遺伝子発現変動の検討も行った。その結果、図5に示すように、マウス筋芽細胞由来のC2C12細胞では、

培養条件により他の細胞株と比べ高いプロモーター活性を示し、細胞増殖因子の添加や2次元から3次元培養などの培養条件の変化により正常型プリオン遺伝子の発現が顕著に変動することが確認され、特に、細胞増殖亢進時にプリオン遺伝子発現が増強されることを見出し、培養条件の選択理由の重要さに資する成果を得た。正常型プリオン蛋白質は、その発現の増減の生物学的な意義は明らかとはなっていないが、プリオン感染に関与する原因遺伝子であり、製造・加工時の細胞培養時に想定される細胞増殖に関する培養条件が、正常型プリオン遺伝子の発現に大きく関与していることを示唆した。特に、2次元培養やIGF添加などの細胞増殖亢進時にプリオン遺伝子発現が増強されることを見出した。また、遺伝子配列欠損型のプリオン遺伝子プロモーターアッセイ系を用いた結果から、その遺伝子発現制御においては、プリオン遺伝子プロモーター領域上流のメチル化領域が関与していることが裏付けられた。

D. 結論

このように、細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査を、特に開発動向、ならびに安全性や衛生規制の動向を中心に行った結果、それぞれの現状と特徴を整理することができ、また非意図的な細胞由来生理活性物質や新規のアレルゲンなどの潜在的なハザード因子を抽出して、リスクプロファイルを作成することができ、安全管理において重要と考えられる点の提案を行なった。

本研究により、「細胞培養食品」の食品衛生法上の安全性評価に向けた課題や方策が明らかとなることが期待され、その安全性評価に向けた新たな制度の枠組みの設定といった行政支援として寄与することが期待される。同時にこの課題への方策を通して、食品衛生法上の安全性を担保した上での「細胞培養食品」の開発につながれば、その安全性について国際的にアピールする上でも重要な成果となり得る。以って、振興と規制の両面からの切れ目のない俯瞰的・長期的政策立案に寄与することが期待される。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表 (抜粋)

○五十嵐智女、西村拓也、北嶋 聡：細胞培養食品の安全性に係る諸外国の規制動向について、食品と開発、2025；60 巻 6 号, 1-5, インフォーママーケット ジャパン (東京) [ISSN: 0911-3932]

Yu Takahashi, Takeshi Igawa, Chiyo Nanba, Hajime Ogino, Hideho Uchiyama, Satoshi Kitajima: Perichordal Vertebral Column Formation in Rana kobai. J Morph. 2025; 286: e70044.
[doi.org/10.1002/jmor.70044]

Yuhji Taquahashi, Ken-ich Aisaki, Koichi Morita, Kousuke Suga, Satoshi Kitajima: Application of the matrix profile algorithm for detecting abnormalities in rat electrocardiograms. Fundam. Toxicol. Sci. 2024; 11(6): 289-296.
[doi.org/10.2131/fts.11.289]

Makiko Kuwagata, Yuko Doi, Hirokatsu Saito, Mariko Tsurumoto, Toshime Igarashi, Takuya Nishimura, Yuhji Taquahashi, Yoko Hirabayashi, Satoshi Kitajima: A 90-day repeated oral dose toxicity study of p-cymene in rats. Fundam. Toxicol. Sci. 2024; 11(4): 169-181.
[doi.org/10.2131/fts.11.169]

Kiyoshi Hashimoto, Hiroshi Arakawa, Rikako Imamura, Takuya Nishimura, Satoshi Kitajima, Takuya Sato, Kazuhide Makiyama, Takehiko Ogawa, Satoshi Yokota: A novel alternative method for long-term evaluation of male reproductive toxicity and its recovery using a pre-pubertal mouse testis organ culture system. J Appl. Toxicol. 2024; 44(5): 784-793.
[doi.org/10.1002/jat.4584]

Hiddenobu Miyaso, Satoshi Yokota, Kousuke Suga, Yui Hashimoto, Céline Kouno, Kenta Nagahori, Masahiro Itoh, Satoshi Kitajima: Histological differences between the central and peripheral areas of the testes of

busulfan-administered mice. J Toxicol Sci. 2024; 49(4): 139-149.
[doi.org/10.2131/jts.49.139]

Ryuichi Ono, Makiko Kuwagata, Mie Naruse, Akihito Watanabe, Masao Takano, Takuro Hasegawa, Hiromasa Takashima, Yusuke Yoshioka, Takahiro Ochiya, Yoko Hirabayashi, Satoshi Kitajima: Extracellular vesicle small RNAs secreted from mouse amniotic fluid induced by repeated oral administration of VPA to pregnant mice. Fundam. Toxicol. Sci. 2024; 11(1): 37-56.
[doi.org/10.2131/fts.11.37]

Takeshi Hase, Samik Ghosh, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Jun Kanno, Hiroaki Kitano, Ayako Yachie: DTox: A deep neural network-based in visio lens for large scale toxicogenomics data. J Toxicol Sci. 2024; 49(3): 105-115.
[doi.org/10.2131/jts.49.105]

菅野 純、相崎健一、北嶋 聡：遺伝子発現を指標とした毒性評価・予測、単行本「化学物質の複合影響と健康リスク評価」, 2024; 第2章 複合曝露による毒性の評価手法 第1節, 医歯薬出版(東京)
[ISBN: 978-4-263-73220-5]

齊藤洋克、北嶋 聡：化学物質を発生-発達期に曝露した際の情動認知行動影響検出, 化学物質と環境：化学物質と環境との調和をめざす情報誌, 184, 3-6, 2024

Ryuichi Ono, Makiko Kuwagata, Mie Naruse, Akihito Watanabe, Masao Takano, Takuro Hasegawa, Hiromasa Takashima, Yusuke Yoshioka, Takahiro Ochiya, Yoko Hirabayashi, Satoshi Kitajima: Extracellular vesicle small RNAs secreted from mouse amniotic fluid induced by repeated oral administration of VPA to pregnant mice. Fundam. Toxicol. Sci. 2024; 11(1): 37-56.
[doi.org/10.2131/fts.11.37]

Yoshihiro Nishida, Katsuhiko Hanada. Satoshi Kitajima: Establishment of placental organoids and application of metabolomic analysis to reproductive toxicity studies. Toxicology Letters. Vol.399, S2. S188, 2024.

Kurosawa T, Ikemoto-Uezumi M, Yoshimoto Y, Minato K, Kaji N, Chaen T, Hase E, Minamikawa T, Yasui T, Horiguchi K, Iino S, Hori M, Uezumi A., Tissue-specific functions of MSCs are linked to homeostatic muscle maintenance and alter with aging. *Aging Cell* (2024) 23. e14299.

DOI: 10.1111/accel.14299

2. 学会発表 (抜粋)

○五十嵐智女、西村拓也、北嶋 聡: 細胞培養食品の開発や規制に関する最近の国際動向、第 51 回日本毒性学会学術年会、(2024. 7. 4)、福岡

○堀 正敏、三原大輝、後藤もも、徳永 弥月、茶園貴志、黒澤珠希、北嶋 聡: 細胞培養食品バイオハザード研究 2: 培養細胞の遺伝子発現における老齢個体の影響と 継代による生体内有害物質合成/分解系の遺伝子変動、51 回日本毒性学会学術年会、(2024. 7. 4)、福岡

○五十嵐智女、西村拓也、北嶋 聡: 細胞培養食品(いわゆる培養肉)の開発と安全性確保に関する最新動向—家畜・家禽以外の動物種を含めて—、日本動物学会第 95 回長崎大会、(2023. 9. 14)、長崎

○北嶋 聡: いわゆる培養肉の開発動向とその食品安全に関する諸外国の規制動向、日本食品化学学会 第 40 回食品化学シンポジウム、(2024. 11. 15)、川崎

五十嵐智女、安彦行人、小野竜一、高橋 雄、桑形麻樹子、北嶋 聡: ゲノム編集によるノックインマウス作製時に生じた、オンターゲット部位の多様な変異とその次世代伝達、第 71 回日本実験動物学会総会、京都、2024 年 5 月 29 日、ポスター

北嶋 聡、高橋祐次、相崎健一、菅野 純: フグ毒テトロドトキシンを単回経口投与した際のマウス肝及び海馬 Percellome トキシコゲノミクス、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7

3 日、口頭

横田 理、宮宗秀伸、菅 康佑、兼子 智、若山友彦、北嶋 聡: Reactive blue 2 の雄性生殖毒性評価への適用、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7 月 5 日、口頭

小野竜一、桑形麻樹子、成瀬美衣、渡邊章仁、鷹野正生、長谷川拓郎、高島宏昌、吉岡祐亮、落谷孝広、平林容子、北嶋 聡: バルプロ酸(VPA)の妊娠マウスへの反復投与により誘導される羊水由来の細胞外小胞 Small RNA、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7 月 5 日、口頭

齊藤洋克、横田 理、北嶋 聡: セルトリ細胞におけるビメンチンの免疫組織化学的变化と精子形成不全との関連、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7 月 3 日、ポスター

高橋祐次、相崎健一、森田紘一、菅 康佑、辻 昌貴、北嶋 聡: 心電図の異常検出法としてのマトリックスプロファイルアルゴリズムの応用、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7 月 4 日、ポスター

横田 理、前野 愛、北條 幹、辻 昌貴、森田 紘一、菅 康佑、相田麻子、広瀬 明彦、菅野 純、高橋 祐次、北嶋 聡: 多層カーボンナノチューブのマウス単回吸入曝露による肺負荷量の経時的変化、第 51 回日本毒性学会学術年会、福岡、2024 年 7 月 4 日、ポスター

北嶋 聡: 毒性学 revisited—生命科学のパラダイムシフトと毒性学の進展—, 基調講演 6L-1「拮抗剤、分析と中毒」, 第 46 回日本中毒学会総会・学術集会、(2024. 7. 24.)、神戸

北嶋 聡: 網羅的分子毒性学からみたヒトと化学物質との共生, シンポジウム 3S02m「ヒトとヒト、異種生物、そして環境との「共生」を考える」, APPW2025(第 130 回日本解剖学会・第 102 回日本生理学会・第 98 回日本薬理学会 合同大会), 2025. 3. 19、千葉

Ryuichi Ono, Mie Naruse, Makiko Kuwagata, Yusuke Yoshioka, Yoko Hirabayashi, Takahiro Ochiya, Masahito Ikawa, Satoshi Kitajima: Detection of EVs in Hepatotoxicity Using CD9-mEmerald Reporter Mouse, INTERNATIONAL SOCIETY FOR EXTRACELLULAR VESICLES ANNUAL MEETING 2024, (2024. 5. 12, Melbourne,

Australia)、口頭

Ono R, Kuwagata M, Naruse M, Watanabe A, Takano M, Hasegawa T, Takashima H, Yoshioka Y, Ochiya T, Hirabayashi Y, Kitajima S: Extracellular Vesicle Small RNAs Secreted from Mouse Amniotic Fluid Induced by Repeated Oral Administration of VPA to Pregnant Mice, Annual Conference of the International Federation of Placenta Associations (IFPA 2024) (2024.9.4., Montreal, Canada)

Ryuichi Ono, Mie Naruse, Makiko Kuwagata, Yusuke Yoshioka, Yoko Hirabayashi, Takahiro Ochiya, Masahito Ikawa, Satoshi Kitajima: Detection of extracellular vesicles (EVs) in Hepatotoxicity Using CD9-EGFP Reporter Mouse, 58th Congress of the European Societies of Toxicology (2024.9.20., Copenhagen, Denmark)

Ryuichi Ono, Mie Naruse, Yoko Hirabayashi, Takahiro Ochiya, Masahito Ikawa, Satoshi Kitajima: Evaluation of CD9-EGFP Reporter Mice for Organ-Specific EV Detection, ANNUAL MEETING of Society of Toxicology, 2024.3.17, Orlando、口頭

Ono R, Kuwagata M, Naruse M, Watanabe A, Takano M, Hasegawa T, Takashima H, Yoshioka Y, Ochiya T, Hirabayashi Y, Kitajima S: バルプロ酸 (VPA) の妊娠マウスへの反復投与により誘導される羊水由来の細胞外小胞 Small RNA、第51回日本毒性学会学術年会 (2024.6.21 福岡)、口頭

G. 知的財産所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査に際しての基本的な考え方

「細胞培養食品」とは、バイオプシー（生体組織採取）サンプルから直接あるいは分化させて大量に細胞を増殖させたもの、又は株化された細胞を大量に増殖させたものを指す

「細胞培養」という言葉だけでは具体的に指しているものが曖昧
このため、学術的観点で便宜的な分類表を予め用意

細胞培養食品（いわゆる培養肉）の分類表

出発材料の種類	由来する生物種*	遺伝子組換えの有無	分化過程の有無	培地中の未知因子の有無（血清等）	培地中の抗菌剤の種類	選択培地の使用の有無	加熱（調理）処理の有無	抽出物としての使用の有無	細胞の足場の種類	培養装置の種類
生物個体由来（動・植物、菌類等）										
細胞株由来（ES細胞、iPS細胞等、各種幹細胞を含む）										

*ヒト、飼料安全法下の家畜・家禽・水産動物・ミツバチ、及び、これら以外の動植物（含む、昆虫）

飼料安全法に含まれるものは、牛、馬、豚、めん羊、山羊及びしか、鶏及びうずら、みづばち、ぶり、まだい、ぎんざけなど、計32種

2つの基軸（縦軸）：初代培養系なのか、細胞株培養系なのか

エピジェネティクスと各種細胞の混合物か否か、という観点から2つに大別

	初代培養系 生物個体由来	vs	細胞株培養系 細胞株由来 (ES細胞、iPS細胞等の各種幹細胞を含む)
エピジェネティクスの影響	比較的小さいと考えられる		ゲノムに変異が入っている可能性が高いだけでなく、エピジェネティクスの影響が、こちらの方がはるかに大きいと考えられるため、この影響の評価を考慮する必要がある
各種細胞の混合物か否か	混合物であることが多いため、混合物としての取り扱いをせざるを得ないと考えられる		単一の細胞株である可能性が高い
アナロジー（私見） 閉鎖系である前提	発酵食品		細胞医薬品

横軸：食品衛生上、考慮しなければならない要因

- 由来する生物種
- 遺伝子組換えの有無
- 分化過程の有無
- 培地中の未知因子の有無（血清等）
- 培地中の抗菌剤の種類
- 選択培地の使用の有無
- 加熱（調理）処理の有無
- 抽出物としての使用の有無
- 細胞の足場の種類
- 培養装置の種類

細胞培養食品特有の
ハザードとの関連が
想定される項目

このうち、「由来する生物種」については、飼料安全法を考慮した細目を用意
ヒト細胞を使用する場合には、いわゆる生命倫理の問題が生じる

分類表を用意しておくことにより、網羅性をもって、横断的に、懸念点が考察できる
→たとえ、関連する開発製品が急速に増加しても対応が可能

図1 細胞培養食品の食品衛生上のハザードやリスクに係る調査に際しての基本的な考え方に基づく分類表の設定

細胞培養食品の開発と上市の歴史

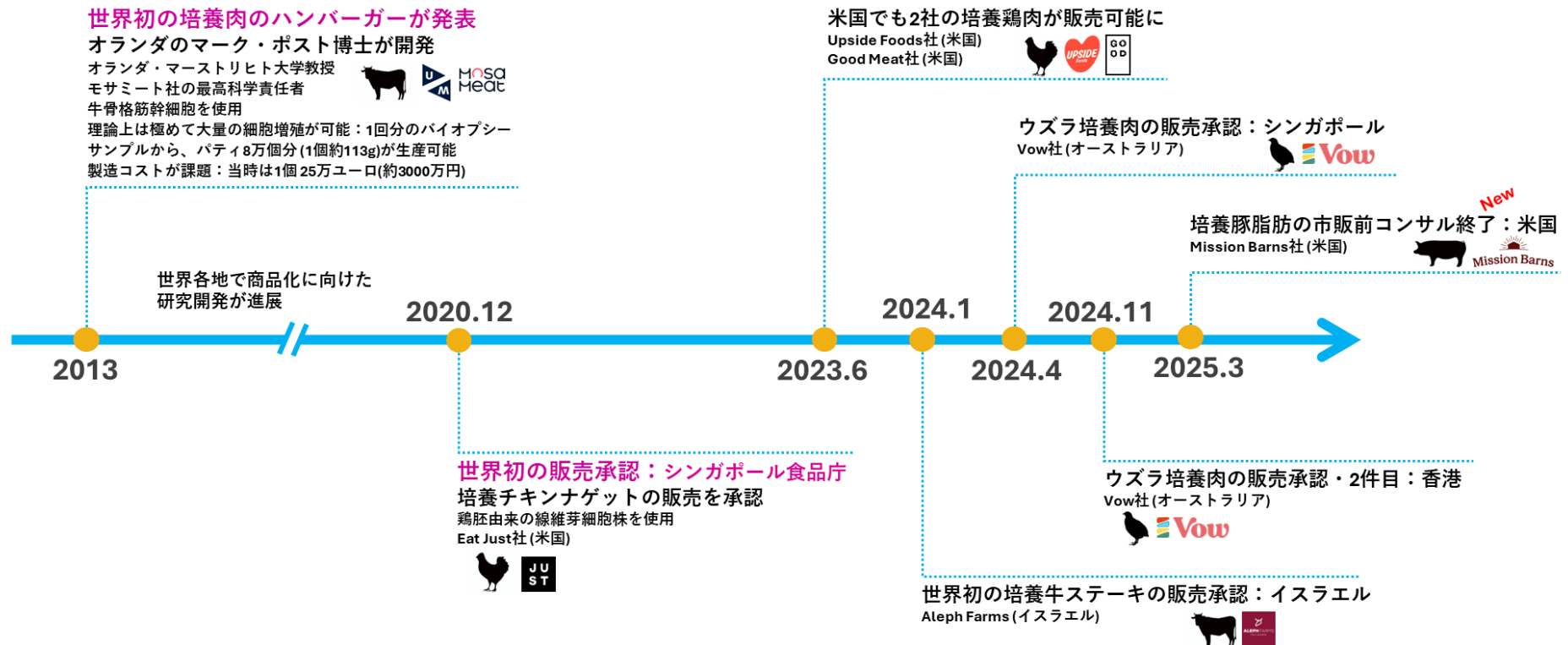


図2 細胞培養食品の開発と上市の歴史

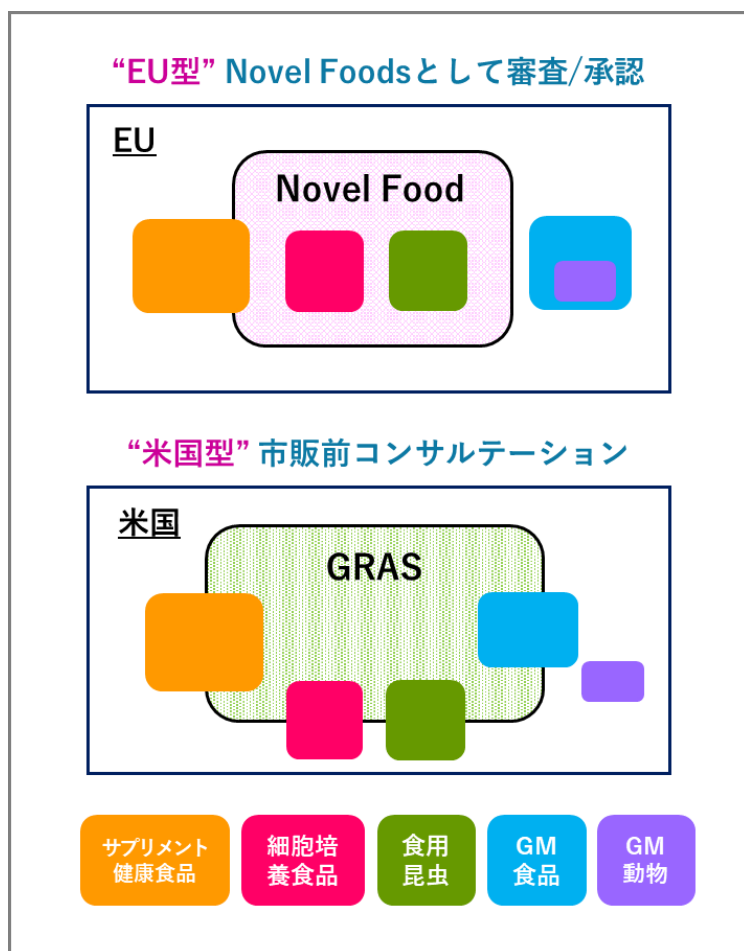


図3 諸外国の規制における細胞培養肉の位置づけと上市プロセス

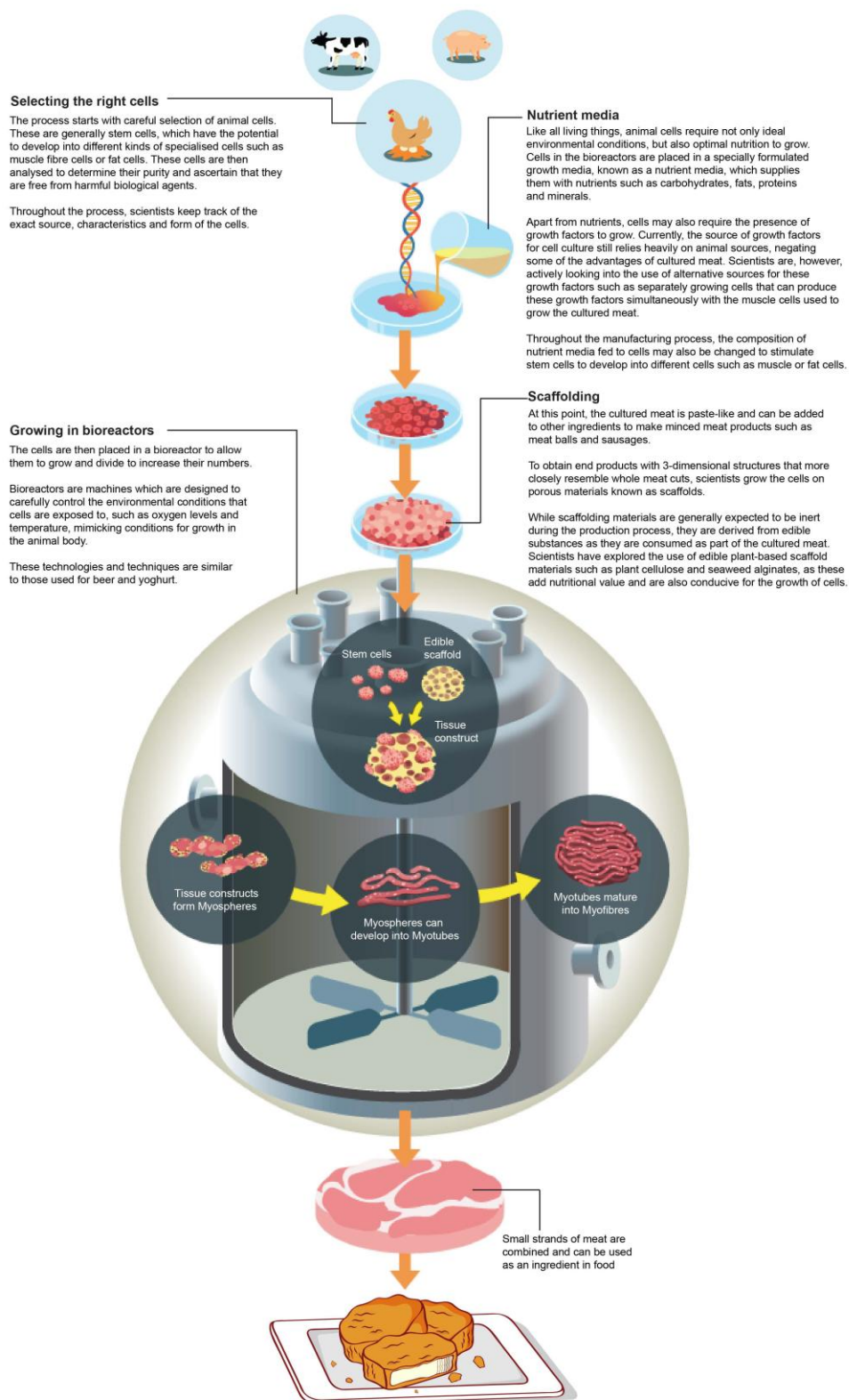
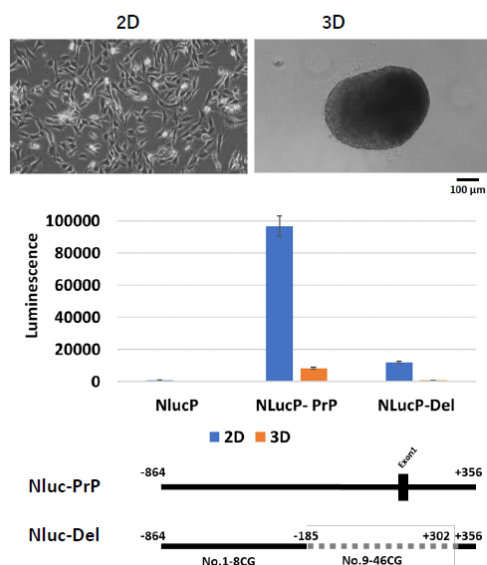


図4 シンガポール食品庁の刊行物におけるバイオリアクターを用いた細胞培養食品の作り方

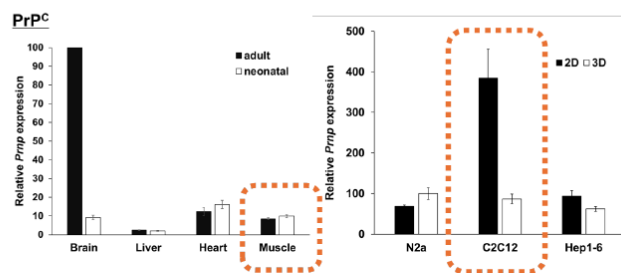
Image credit: Firn/Shutterstock.com

出典 : A growing culture of safe, sustainable meat, By Singapore Food Agency, Published 04 Jan 2021, Updated 22 Jan 2021. <https://www.sfa.gov.sg/food-for-thought/article/detail/a-growing-culture-of-safe-sustainable-meat>

1. Establishment of *Prnp* promoter assay in C2C12



2. *Prnp* expression in mouse tissues and cell lines (Real time PCR)



3. Enhanced increase of *Prnp* expression in 2D w/wo IGF-1 in C2C12

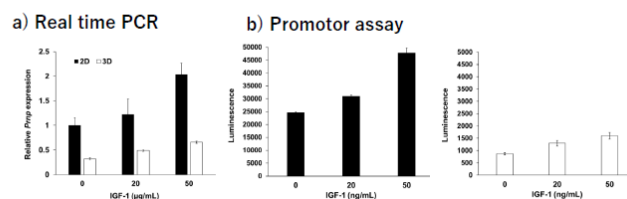


図5 補完的検討としてのプリオンの発現制御に関するレポーター遺伝子アッセイとリアルタイム PCR 解析

表 1 研究代表者が提案する細胞培養食品（いわゆる培養肉）の分類表

出発材料 の種類	由来する 生物種*	遺伝子組 換えの有 無	分化過程 の有無	培地中の 未知因子 の有無 (血清等)	培地中の 抗菌剤の 種類	選択培地 の使用の 有無	加熱(調 理)処理 の有無	抽出物と しての使 用の有無	細胞の足 場の種類	培養装置 の種類
生物個体由来 (動・植物、菌類等)										
細胞株由来 (ES 細胞、iPS 細胞等、 各種幹細胞を含む)										

*ヒト、飼料安全法下の家畜・家禽・水産動物・ミツバチ、及び、これら以外の動植物(含む、昆虫)

飼料安全法に含まれるものは、牛、馬、豚、めん羊、山羊及びしか、鶏及びうずら、みつばち、ぶり、まだい、ぎんざけなど、計 32 種

表2 国内外における細胞培養食品の開発状況とその種類（調査時点：2024年9月）

通 番	開発企業 開発品 *1	開発状況*2	出発材料の種 類*3 (初代培養細胞 と株化細胞 の区別)	由来する生 物種*4	遺伝子組換 えの有無	分化過程の 有無	培養培地中 の未知因子 の有無(血清 など)	培地中の抗 菌剤の種類	選択培地の 使用の有無	加熱(調理) 処理の有無	抽出物として の使用の有 無	細胞の足場 の種類	培養装置の種類
1	Wildtype (米国) 培養サーモン	できるだけ早期に米 国での販売を予定	受精卵(株化 細胞)	サーモン	不明	有	不明 (FBS 不含)	使用せず	不明	無 (生食を推 奨)	不明	植物由来の 成分と合わ せて成形	最大 20 万ポンド(約 90.7 トン)を生産する プラントを稼働
2	Finless Foods (米国) 培養クロマグロ	マグロ細胞由来の 細胞培養マグロ肉 製品を開発中	生物個体(初 代培養細胞)	クロマグロ	不明	不明	不明	不明	不明	不明 生食も想定	不明	細胞が 3D 構 造を形成する ために足場を 設置	2022 年、250 L の培 養槽を設置したパイ ロット施設を稼働
3	BlueNalu 培養シーフード (米国) (特に乱獲、輸入 又は養殖が困難 な種)の開発	2021 年にはパイロ ット施設を開設、市場 テストを開始	不明	クロマグロ	無	有	不明 (FBS 不含)	不明	不明	不明 生食も想定	不明	不明	・2021 年パイロット生 産施設を開設 ・8 基の 10 万 L パイ オリアクターを使用 し、年間最大 600 万 ポンドの大規模施設 を 2027 年操業開始 予定。
4	Blue Seafood (旧 Bluu Biosciences) (ドイツ) サーモン、ニジマ ス等のフィッシュ ボールとフィッ シュフィンガー、 刺身や切り身	2025 年初頭にシン ガポールで承認予 定、その後米国、欧 州をターゲット	幹細胞を採取 して細胞株を 作成(株化細胞)	サーモン、ニ ジマス、コイ	無	不明	不明 (FBS 不含)	使用せず	不明	不明 生食も想定し た製品も有	不明	植物タンパク 質により食感 を最適化	・2024 年 4 月にパイ ロットプラントを開設 ・最大 2000 リットル の大型発酵槽による 生産拡大予定
5	Umami Bioworks (旧 Umami Meat) (シンガポール) 培養ハタ、ウナ ギ、ハタハタ、 鯛、マグロ等の魚 介類 *2024 年 Shio k Meats(シンガ ポール)と合併	2023 年 4 月培養ハ タの試食会開催 2023 年 5 月日本進 出を決定 2024 年 10 月韓国 企業と細胞培養魚 介類の GMP 対応生 産施設の設立に共 同出資 培養魚のペットフー ドへの展開も計画	間葉系幹細胞、細胞株を 使用(株化細胞)	ハタ、ウナギ 等魚介類	不明	有 (間葉系幹細胞から筋肉、 脂肪を構築)	不明 (FBS に代わ る植物由来 血清、 NUProtein 社 の成長因子 使用の可能 性も有)	不明	不明	不明 (2023 年 4 月 試食会時には加熱処理 有)	不明	3D プリンター で成形	マレーシアの培養魚 肉企業 Cell AgriTech と共同で、 マレーシアのケダ州 に、年間生産量 3000 トン以上の工場 を 2025 年第 1 四半 期から段階的に開設 予定
※	ShioK Meats (シンガポール) 培養甲殻類、培 養牛肉、豚肉、羊 肉	2023 年の商品化を 予定	筋細胞、脂肪 細胞(区別不 明)	甲殻類	無	不明	不明 (FBS 不含)	不明	不明	不明	不明	不明	2021 年には製品開 発の小型工場をシン ガポールに開設(最 大 500 L のバイオリア クターを投入)

通 番	開発企業 開発品 *1	開発状況*2	出発材料の種 類*3 (初代培養細胞と株化細胞の区別)	由来する生 物種*4	遺伝子組換 えの有無	分化過程の 有無	培養培地中 の未知因子 の有無(血清 など)	培地中の抗 菌剤の種類	選択培地の 使用の有無	加熱(調理) 処理の有無	抽出物として の使用の有 無	細胞の足場 の種類	培養装置の種類
6	Upside Foods(旧 Memphis Meats) (米国) 培養鶏、牛、魚介 類	2023 年 6 月米国で 細胞培養食品の販 売が可能	成鶏の筋肉組 織由来の筋芽 細胞株と中期 受精卵の皮膚 組織由来の線 維芽細胞様細 胞株(株化細胞)	鶏	有 (ただしシス ジェニック。不 死化に際し、 ニフトリテロメ ラーゼ逆転写 酵素(TERT) を発現するシ ス遺伝子の 導入など組換 え技術を使用 する場合有)	有	有 (細胞株の開 発段階では、 ウシ又はブタ 由来の成分 (血清及びト リプトシン) 細胞増殖や 分化の過程 では、FBS 有)	細胞株の開 発段階では 抗生物質、抗 真菌薬を使用 (細胞増殖や 分化の過程 では、抗生物 質、抗真菌薬 は使用せず)	無	有 (加熱(165° F)処置を想 定)	不明	不明 (培養時には 足場等は加 えていない)	・カリフォルニア州に 商業施設(EPIC)で、 2000 リットル規模を 定期的に生産 ・イリノイ州に生産量 最大 3,000 万ポンド の工場の建設を 2023 年発表したが、 EPIC の拡張を優先 すると発表。拡張に より EPIC で年間 50000 ポンドの肉を 生産するよう設計さ れている
7	Eat Just (GOOD Meat) (米国) チキンナゲット等	2020 年シンガポー ルで細胞培養食品 の販売が承認 2023 年 6 月米国で 細胞培養食品の販 売が可能 2024 年 5 月シンガ ポールで低コストの 新製品 GOOD Meat3 の小売を開 始	ATCC より購 入した鶏の線 維芽細胞株 UMNSAH/DF1 を基に、自社 で浮遊培養及 び低血清条件 に適應させた 細胞株 C1F- P1(株化細胞)	鶏	無	無	有 (FBS 有)	使用せず	無	有 (加熱(165° F)処置を想 定)	無	天然素材の 足場で成長さ せる 又は 3D プリ ンターで成形	・シンガポール生産 センターには 6000L のバイオリアクターを 導入予定 ・生産設備を複数建 設(米国では 10 基 の 25 万 L のバイオ リアクター導入予定 ⇒委託先の ABEC と 訴訟) ・米国の製造は CDMO の JOINN Biologics に委託 (1000L のバイオリア クター)
8	VOW (オーストラリア) 培養ウズラ、カン ガルー等	2023 年 2 月ウズラ 細胞培養食品の承 認申請を FSANZ が 受理・評価開始	Coturnix japonica(ニホ ンウズラ)から 単離された胚 性線維芽細胞 を細胞株とし て貯蓄(株化 細胞)	ウズラ	無	無	無 (動物由来成 分不含有)	使用せず (細胞株の開 発段階では 抗生物質を 使用 (細胞増殖の 過程では、抗 生物質は使 用せず)	無	有 (最低 72°C)	無	不明	・30 トン生産量の製 造施設が稼働中 ・2024 年には 3000 トンの生産量の施設 が稼働予定

通 番	開発企業 開発品 *1	開発状況*2	出発材料の種 類*3 (初代培養細胞と株化細胞の区別)	由来する生 物種*4	遺伝子組換 えの有無	分化過程の 有無	培養培地中 の未知因子 の有無(血清 など)	培地中の抗 菌剤の種類	選択培地の 使用の有無	加熱(調理) 処理の有無	抽出物として の使用の有 無	細胞の足場 の種類	培養装置の種類
9	Aleph Farms (イスラエル) 培養牛肉 培養コラーゲン	細胞培養食品 「Aleph Cuts」を 2023 年 7 月にスイ スで、8 月に英国で 規制機関に申請	ESC(株化細胞)	牛	無	有 (筋肉とコ ラーゲンに分 化)	不明 (動物由来成 分、FBS 不 含)	使用せず	不明	不明 (グリル等の 加熱を想定)	不明	植物ベース の足場 (3D バイオブ リンター・リブ ステーキの場 合)	・パイロット設備を稼働 ・Esco Aster との提携を発表 ・VBL セラピューティクス ¹ の製造施設を買収 ・2024 年後半からタイに工場を建設予定 (2,000~5,000 リットルのバイオリクターを設置予定)
10	Mosa Meat (オランダ) 培養牛肉	今後数年間で、細胞 培養食品の販売に 関する規制当局の 承認を取得	筋肉及び脂肪 前駆細胞(幹 細胞)(区別不 明)	牛	無	有 (筋繊維に分 化)	不明 (FBS 不含)	不明	不明	不明 (グリル等の 加熱を想定)	不明	99%水で構成 されたゲル内 に留置	・2021 年 7 月パイ ロット生産施設の拡大を発表 ・Esco Aster との提携を発表 ・2023 年には年間最大数十万個のハンバーガーを製造可能とする 4 施設目を開設
11	Believer Meats (イスラエル) 培養鶏、子羊、 牛、豚	培養牛肉の生産は まもなく予定	線維芽細胞を 細胞株として 貯蔵(株化細胞)	牛 鶏 子羊 豚	無	不明	不明 (FBS 不含)	使用せず	不明	不明	不明	植物性タンパク質で細胞を強化	・2021 年 6 月イスラエルに産業用細胞培養食品生産施設を開設 ・2022 年 12 月米国に最低 1 万トンの年間生産量となる工場の建設を着工
12	東大竹内昌治教授と日清食品 (日本) 培養ステーキ肉	2019 年に世界初のサイコロステーキ状組織の作製に成功、2022 年 3 月に試食実験を実施、2025 年 3 月までに組織の作製を目指す。 2024 年 8 月、筋肉と脂肪を兼ね備えた細胞培養牛肉、5.5 cm × 4 cm × 1.5 cm の作製に成功したと発表	筋芽細胞(区別不明)	牛	不明	有 (筋芽細胞を細胞融合させ筋繊維に分化)	不明 (独自に開発した「食用血清」(特許出願中))	不明	不明	不明	不明 (食用色素の使用)	独自に開発した「食用血漿ゲル」(特許出願中)	不明

通 番	開発企業 開発品 *1	開発状況*2	出発材料の種 類*3 (初代培養細胞と株化細胞 の区別)	由来する生 物種*4	遺伝子組換 えの有無	分化過程の 有無	培養培地中 の未知因子 の有無(血清 など)	培地中の抗 菌剤の種類	選択培地の 使用の有無	加熱(調理) 処理の有無	抽出物として の使用の有 無	細胞の足場 の種類	培養装置の種類
13	インテグリカル チャー株式会社 (日本) ニワトリ・カモ・ア ヒル肝臓由来細胞 培養食品	2022 年に無血清基 礎培地を用いて、ニ ワトリおよびカモ肝 臓由来細胞培養に 世界で初めて成功。 2022 年 12 月には、 月産 8 キロ、100 グ ラムあたり約 3 万円 で生産が可能となる 見込。 オープンイノベーショ ンプラットフォームに おける、培地、足場 等の研究成果有	肝臓由来細胞 (初代培養細胞)	鶏 カモ アヒル	不明	不明	不明 (無血清基礎 培地で培養 に成功)	使用せず	不明	不明	不明 (フィーダー 槽の上清成 分を加えてい る)	不明	独自の連結式の培 養槽 CulNet® system 2026 年に 2000 L の、2028 年に 8000 L の培養槽導入予定
14	ダイバースファーム 株式会社 (日本) 培養鶏肉 培養フォアグラ	2025 年の大阪万博 における汎用品販 売を目指す	生物個体(初 代培養細胞)	鶏	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	網目状の鋳 型	・ネットモールド法 ・2022 年にラボ、パ イロットプラントの建 設予定としていた (2022 年時点)
15	Cubiq Foods (スペイン) 培養油脂	2023 年初頭までに 米国市場で販売予 定	不明	アヒル (2022 年 7 月時点)	不明	不明	不明 (FBS 不含、 (2022 年 7 月 時点))	不明	不明	不明	不明	不明	不明
16	Meatable (オランダ) 培養ウシ、ブタ肉	シンガポール申請済 みと報道	iPS 細胞 (株化細胞)	ブタ	不明	有 (筋肉と脂肪 細胞に分化、 OPTi-OX 技 術)	不明 (FBS 不含)	不明	不明	不明	不明	不明 (エラスチン 様ポリペプチ ド等を研究対 象)	・Esco Aster との提 携を発表 ・2023 年 11 月には 200L のバイオリアク ターを備えるパイロッ ト施設を開設(今後 今後は 500L へ増量 見込み)
17	Cellmeat (韓国) 培養エビ等甲殻 類 キャビア等	2024 年 3 月韓国に 細胞培養エビを申請 したと発表	不明	独島エビ、 オシエトラ 牛・豚・鶏	無	不明	不明 (FBS 不含)	不明	不明	不明	不明	不明	培養独島エビが年間 200 トン生産可能な 設備を竣工
18	Vital Meat (フランス) 培養鶏肉 培養豚肉、白身 魚	2023 年 12 月シンガ ポールに、2024 年 5 月英国に申請したと 発表	受精卵(株化 細胞)	鶏	無	不明	不明 (動物由来成 分、FBS 不 含)	使用せず	不明	不明	不明	不明	250 リットルのバイオ リアクターによりキロ 単位の培養鶏肉の 生産を達成

通 番	開発企業 開発品 *1	開発状況*2	出発材料の種類*3 (初代培養細胞と株化細胞の区別)	由来する生物種*4	遺伝子組換えの有無	分化過程の有無	培養培地中の未知因子の有無(血清など)	培地中の抗菌剤の種類	選択培地の使用の有無	加熱(調理)処理の有無	抽出物としての使用の有無	細胞の足場の種類	培養装置の種類
19	Gourmey (フランス) 培養フォアグラ	2024 年 7 月、EU、米国、シンガポール、英国、スイスに申請したと発表	ESC(株化細胞)	アヒル	不明	不明	不明 (動物由来成分は不含)	不明	不明	不明 (グリル、フライパンによる加熱を想定)	不明	不明	2022 年 10 月パリに 46,000 平方フィートの商業生産施設を建設
20	The Cultivated B (ドイツ) ハイブリッドソーセージ	2023 年 9 月 EFSA との事前申請手続きを開始したと発表。その後の申請に関する発表は確認できなかった。	株化細胞	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	工業グレードのバイオリアクター製品である AUXO V によりラボスケールから工業スケールの 25,000 リットルの提供が可能
21	Simple Planet (韓国) 各種動物の細胞培養食品原料	詳細は不明であるが、韓国規制機関への申請手続きを実施していると報じられている。	幹細胞(株化細胞)	牛、豚、鶏、魚介類等	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	・韓国に総容量 1,150 リットルの製造施設を建設中(2025 年までに稼働予定)。 ・2025 年末までにシンガポール、タイ、インド、米国で生産を開始予定(生産能力 20,000 リットルを目標)

*1 開発者の情報(国、地域、企業、大学、プロジェクト名)や、開発品の名称など。

*2 研究段階なのか、製品化に向けた開発段階にあるのか、上市予定があるのかなどの情報を含む。

*3 生物個体より採取した生体組織の初代培養細胞なのか、株化細胞なのかを区別する。生体組織の種類(筋肉、肝臓など)、細胞株の種類に関する情報も含む。

*4 由来する動植物菌類などの生物種。飼料安全法下の家畜・家禽・水産動物・ミツバチ、または、これら以外の動植物(含む、昆虫)の区別に関しては不明。

桃色セル  : 販売承認を取得または販売が可能となった開発企業

表3 海外における細胞培養食品の安全性確保及び衛生規制の動向（2025年3月時点）

項目	シンガポール*1	米国*2	EU*3	オーストラリア 及びニュージーランド*4	イスラエル*5	韓国*6
審査の実施主体	SFA	USDA-FSIS と HHS-FDA	EFSA	FSANZ	MOH-NSF	MFDS
規制区分	Novel Food	細胞培養食品に特化した規制枠は現時点設定されていない	Novel Food	固有の規制枠なし、Novel Food 等既存の規約の範囲内で取扱う	固有の規制枠なし、Novel Food の規約の範囲内で取扱う	暫定規格・基準の認定対象
上市プロセス	市販前承認が必要	許認可制ではない ・FDA による市販前コンサルテーション（任意） ・USDA-FSIS による製造施設の検査済み証明（GOI）および製品の検査済みマークの取得（必須）	市販前承認が必要	市販前承認が必要	市販前承認が必要	市販前承認が必要
細胞培養食品固有の安全性審査項目	Novel Food 全般の安全性評価要件に加えて、以下の情報が必要である。 1.Cultured meat 製品の特徴（栄養組成、抗菌剤・成長促進剤・調節因子の残留レベル） 2.Cultured meat 製造に使用された原材料および全ての投入物の特性・純度・安全性（細胞株や幹細胞およびその誘導に使用した化学物質、培地、成長促進剤、調節因子、抗菌剤、足場材、溶媒、酵素、加工助剤を含む） 3.製造工程の説明には、細胞株の選択、細胞適応、細胞増殖、足場、抽出、濃縮、洗浄を通して培地や細胞株が感染性因子（例：ウイルス、細菌、真菌、プリオン）を含まないことを確保するために行われた無菌処理の工程も含める。 4.細胞株の詳細情報（背景情報、識別情報、由来、選択、スクリーニング方法、樹立、保管、感染性因子を含まないことを示す生物学的試験等、生検の適合性・動物疾患がないこと） 5.培地の詳細情報（添加した抗菌剤等のすべての物質と意図しない代謝物を含む培地の組成等、リスクアセスメントまたは非食品グレードの全成分・意図しない代謝物の残留レベルのテスト、抗生剤の耐性情報、製造中に培地成分として用いられた生物学的物質の安全性評価） 6.ゲノム不安定性と遺伝的浮動により、最終製品に食品安全上のハザードをもたらすレベルの望ましくない物質が生成されないことを合理的に証明する情報（細胞培養の動物種と関連する既知の物質の系統的文献レビューに加えて、毒素やアレルゲンの in silico ゲノム検査またはトランスクリプトミクス・プロテオミクス・メタボロミクスの手法によるスターター細胞に対する最終細胞製品の定量的比較の組合せによる標的分析の対象とする物質のリスト作成）	不明 業界向けガイダンス作成中： FDA が 2024 年 12 月迄に Food Program Guidance Documents として「Premarket Consultation on Cultured Animal Cell Foods: Draft Guidance for Industry」を公表予定	Novel Food 全般に関するもののうち、細胞培養食品に関する以下項目がある。 ＜アイデンティティとして＞ 1.元となる動物の国際命名法に従った名称（科、属、種などの分類学的情報） 2.植物、藻類、菌類に関しては、国際的に認知されたデータベースと方法論に基づく同一性の検証 3.材料として使用した臓器及び、組織又は生物の部分 4.材料を手に入れた研究所又は培養株 5.セルの ID 情報 6.使用する細胞又は組織培養のための材料 7.細胞株のタイプ ＜製造工程として＞ 1.供給源として使用する細胞の種類 2.初代細胞を使用する場合：出所、精製ステップ、細胞分離、細胞選択、細胞継代、病原体及び微生物汚染物質が存在しない事に関する情報	細胞培養食品固有の安全性審査項目は設定されていない 成分によっては、以下の基準が適用される可能性がある： 1.Novel Food 2.加工助剤 3.食品添加物 4.遺伝子技術の利用 5.ビタミンとミネラル 6.食品の本質を示すラベル 7.細胞培養食品の定義 8.食品の安全要件	細胞培養食品の評価要件として、以下が挙げられている。 1.細胞株の同一性 2.細胞の改変、選抜、増殖、保存 3.製造工程 4.アレルゲンと毒素 5.最終製品の仕様 6.賞味期限とラベル表示 7.ばく露評価 8.持続可能性	細胞培養食品の評価要件として、以下が挙げられている。 1.原料名 2.起源（細胞供与体）に関する資料 3.開発経緯、国内外の認定及び使用状況 4.細胞（細胞株の作製方法、管理方法、検証方法、特性）に関する資料 5.製造方法に関する資料 6.原料の特性（性状、成分分析、有害物質）に関する資料 7.安全性（消化性、アレルギー誘発性、毒性、摂取量）に関する資料

項目	シンガポール*1	米国*2	EU*3	オーストラリア 及びニュージーランド*4	イスラエル*5	韓国*6
	7.細胞製品の再現性と一貫性を確保するために、適正細胞培養規範(GCCP)が適用されていることを証明する情報(遺伝的安定性の評価(例:核型分析)、最終細胞製品の分裂速度や組成の変動のモニタリング) 8.使用する細胞株の性質によって発生するリスクが高い食品安全上のハザードに関する安全性評価とリスク低減措置(例:毒素を含むリスクの高い貝類の細胞株を利用する場合は、ゲノム、トランスクリプトーム、またはプロテオーム解析、実施可能なリスク低減措置など)		3.樹立細胞株を使用する場合:出所、細胞株の調製、バンキング工程、継代番号 4.使用する細胞に加えられた改変(選択、分化、不死化、適応、再プログラミング等)、それらの改変と懸念物質の生成との関連性に関する情報 5.細胞株又は組織の処理、抽出、スクリーニング、選択のためのプロセスの説明 6.生産プロセス全体にわたる細胞の遺伝的安定性に関する情報 7.適正細胞培養規範及びEMA ガイダンス文書に概説されているような関連規格への準拠			
遺 伝 子 組換えの 扱い	遺伝子組換え生物/微生物を使用する場合は、遺伝子組換え生物の安全性評価項目を適用	遺伝子組換え技術及びその応用食品に特化した規制枠組はないが、表示に関する規制があり、細胞培養食品への適応は現状明確でない	GMO の規制(Regulation (EC) No 1829/2003)を適用	「遺伝子技術の利用」の場合は当該枠が適用となる。	Novel Food の規制の範囲内に遺伝子組換え食品も含まれる	該当する場合は、新規食品原料としての評価の前に、遺伝子組換え食品等としての承認が必要。
食 品 安 全管理シ ステム	・HACCP(推奨) ・GMP(推奨) ・GCCP(推奨)	・cGMP(義務) ・PCHF(義務) (上記に HACCP 含)	・HACCP(全ての食品に対し義務)	・規約3.2.1(HACCP 概念に基づく食品安全プログラム)準拠(義務)(注:FSANZによる提案の段階であり、確定していない)	・HACCP(義務) ・GMP(義務) (Sensitive food 全体に対し義務)	申請要件として食品安全管理システムに関する記載はない(現状では適用義務品目の対象ではないと考えられる)。

項目	シンガポール*1	米国*2	EU*3	オーストラリア 及びニュージーランド*4	イスラエル*5	韓国*6
審 査 情 報 の 公 開	現状では非公開	・許認可制ではないため、 審査資料に該当するもの がない ・FDAによる市販前コンサル テーションの文書は公開 (申請者の利益を損なう 除法は非開示) ・USDA - FSIS による製 造施設および製品の検査 に係る資料は非公開	原則公開、申請者の利益を 損なう場合は非公開	通常は申請資料及び評 価文書を公開	現状では非公開	不明
公表され た申請、 評価、承 認の事 例	1. 2020 年 12 月: Eat Just 社の培養チキンナゲット(鶏)の 販売を承認 2. 2021 年 12 月: Eat Just 社の培養チキンの胸肉(鶏)の 販売を承認 3. 2024 年 4 月: Vow 社の培養ウズラの販売を承認 4. 多数の申請事例有	FDA は 3 社の市販前コン サルテーション終了、FDA は安全性に関する質問は これ以上ないことを表明 [承認・認証ではない] 1. 2022 年 11 月: Upside Foods 社の鶏培養肉 2. 2023 年 3 月: GOOD Meat 社の鶏培養肉 ⇒2023 年 6 月、上記 2 社は USDA - FSIS によ る製造施設の検査済み 証明(GOI)および製品 の検査済みマークを取 得し販売が可能になっ たと報道 3. 2025 年 3 月: Mission Barns 社の培養豚脂肪 2024 年 7 月: Gourmey 社 は FDA に養フォアグラ肉 を申請したと公表	2024 年 7 月: Gourmey 社 の培養フォアグラ肉の申請 を EC/EFSA が受理	2023 年 2 月: Vow 社の ウズラ細胞培養食品の 承認申請を FSANZ が 受理・評価開始 (2023 年 12 月、製造の 最初の 3 段階(細胞株、 製造方法、細胞採取)に 焦点を当てたリスク評価 に対する 1 回目のパブ リックコメント募集を開 始し、2024 年 2 月募集 を終了。官報掲載は 2025 年 2 月予定)	2024 年 1 月: Aleph Farms 社の培養ウ シ肉の販売を承認	CellMeat の培養エビ 等の申請事例有

*1 Requirements for the Safety Assessment of Novel Foods and Novel Food Ingredients, Singapore Food Agency. Version dated 20 Jul 2023. <https://www.sfa.gov.sg/docs/default-source/food-information/requirements-for-the-safety-assessment-of-novel-foods-and-novel-food-ingredients.pdf> *2 FDA, Human Food Made with Cultured Animal Cells ; <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/human-food-made-cultured-animal-cells> *3 European Food Safety Authority “Guidance on the scientific requirements for an application for authorisation of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283”: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/8961> *4 Food Standards Australia New Zealand, “Cell Based Meat” <https://www.foodstandards.gov.au/consumer/safety/Cell-based-meat> *5 Novel food in Israel ; <https://www.gov.il/en/pages/novel-food> *6 <https://impfood.mfds.go.kr/CFBDD02F02?active=00049&cntntsSn=555747&cntntsMngId1=00049&cntntsMngId2=00049> (2024 年 10 月 1 日アクセス)

表4 細胞培養食品の生産・製造に関して想定されている主な潜在的ハザード*

対象	潜在的なハザードとして想定されているもの
遺伝子改変	毒素産生、病原性関連遺伝子の挿入、抗生物質耐性
原材料（一般事項）	不純物、汚染 製造に用いられるすべての原材料（input）および可能性のあるすべての代謝物（意図的か非意図的かを問わず）の有害性
細胞株	細胞株または幹細胞の誘導に使用される化学物質
	感染性因子（ウイルス、細菌、真菌、プリオンなど）
	細胞株に加えられた改変（modifications）・適応（adaptions）による、食品安全上のリスクをもたらす可能性のある物質の発現
	生検（食用動物から採取する場合）に用いた動物の疾病
培地	非食品グレードの成分及び潜在的な意図しない代謝物の残留
	培地成分として使用される生物学的物質（biological substances）
	抗菌剤耐性への寄与
製造工程	感染性因子（ウイルス、細菌、真菌、プリオンなど）による培地や細胞株の汚染
最終細胞製品	栄養組成の偏り
	残留する抗菌剤、成長促進剤及び／又は調整因子
	ゲノムの不安定性と遺伝的浮動による、食品安全上のハザードをもたらすレベルの望ましくない物質の生成 ・動物種に関連する既知の望ましくない物質 ・潜在的な毒素/アレルゲン ・スターター細胞と最終細胞製品との定量的比較において食品安全上懸念される発現量の異なる望ましくない物質

* 本表では、下記のシンガポール食品庁の安全性評価要件において想定されている潜在的なハザードを抽出した。当該文書を引用することにした理由は、本調査における検討により抽出したハザードと同じものが想定されていたからである。Requirements for the Safety Assessment of Novel Foods and Novel Food Ingredients, Singapore Food Agency. Version dated 26 Sep 2022. https://www.sfa.gov.sg/docs/default-source/food-import-and-export/Requirements-on-safety-assessment-of-novel-foods_26Sep.pdf

表5 FAO&WHO が4つの製造段階に着目して特定した潜在的なハザード因子の検討

No.	ハザード因子（情報源：FAO/WHO 2023）＊	製造工程				ハザード因子のタイプ			
		細胞調達	生産	収穫	食品加工	混入・汚染	投入物の非意図的な残留	食品成分の変化	細胞からの非意図的な新規産生
1	異物混入					●			
2	動物医薬品					●			
3	微生物毒素					●			
4	汚染化学物質（機器、洗浄剤、原料、空気、水、または包装材料から混入）					●			
5	重金属					●			
6	マイクロプラスチック（含、ナノプラスチック）					●			
7	病原体、病原因子（細菌、ウイルス、真菌、寄生虫、原虫、プリオン）					●			
8	食物アレルギー（一般的なもの）					●	●	●	
9	抗菌剤						●		
10	有害化学物質 /食品添加物の残留物（培地安定剤、細胞機能調節剤、栄養素等）						●		
11	潜在的に危険な構造材料および関連物質						●		
12	食品成分の物理化学的変化							●	
13	細胞由来の遺伝物質の構造的・化学的変化							●	●
14	意図的な遺伝子組換えによる新規アレルギー誘発性物質または有害物質（導入遺伝子が関与するものや、その結果生じる内在性遺伝子の変化を含む）								●
15	新規毒素やアレルギー、あるいは内因性毒素やアレルギーの増加（ゲノム/表現型の不安定性と関連）								●

＊ FAO & WHO. 2023. Table 5, 6, 7, 8 より抽出 黄色セル：細胞培養食品に特徴的と考えられ注目しているハザード因子

表6 リスクプロファイルの検討（その1）

検討項目	現時点で想定される事柄
①食品の特徴と、対象となるハザード	・特徴：動物から細胞を採取し、バイオリアクター等で培養し、増殖させた細胞を成形したもの。 ・動物種の起源（飼料安全法下の家畜・家禽・魚類などか、それ以外か（野生動物、実験動物、愛玩動物、展示動物など）） ・採取環境と方法（と畜場での採取の法的規制） ・細胞の起源（細胞を採取する動物の健康状態、凍結細胞、継代細胞、株化細胞など） ・細胞の変異（増殖能の変化、形質の保持） ・細胞の選抜 ・培養環境と方法、一連の工程が製造か生産かの整理、特徴的な培養法の食品衛生上の整理・規制 ・培養液の成分（添加物、ホルモン等成長因子、抗生物質、またそれぞれの成分の試薬グレード）、培養液の成分を添加物として規制するか？ ホルモンや成長因子の使用が許容されるのか。 ・培養期間中の汚染 ・毒性物質および生理活性物質の有無（新規の毒性物質や、変異タンパク等）、製品中のホルモン等の量（既存食肉製品と比較） ・栄養成分が通常の食肉と異なる可能性 ・遺伝子改変の有無
②ハザードが注目されるようになった経緯	細胞を採取し、培養された細胞を成形した新開発食品であり、食経験はない。そのため、細胞採取や培養による食品衛生上の影響が不明。
③ハザードの科学的特性と分析法	・原材料である細胞の安全性→採取源である動物・細胞の評価方法とトレーサビリティの確立。 ・培養期間中に腫瘍細胞化や人体に影響を及ぼすような変異等が起こる可能性→増殖能等の細胞の動態・状態の解析（シーケンス、癌化遺伝子の活性化、異常タンパクの検出、種を超えたがん細胞の転移の有無等） ・培養液・培養環境中の未指定添加物やホルモン、抗生物質等の有無→情報を製造者から入手し、リスト化。培養液の成分を添加物として規制する場合は、指定添加物の枠組みを超えるような成分について、新たな添加物として指定することによる個別のリスク管理。 ・製品中の毒性成分（毒素、変異タンパク等）および生理活性物質の有無が不明→成分分析、毒性試験、シーケンス ・培養液に含まれるホルモンや抗生物質等の製品中への残留→既存の規制又は残留基準値の設定によるリスク管理。 ・製品中の栄養成分構成が既存の牛肉と異なる→成分分析 ・アレルゲンの生成の有無→既存のアレルゲンタンパクについての分析
④人の健康への悪影響	・食品の汚染による食中毒 ・未指定添加物や変異タンパク等摂取による毒性 ・栄養成分の構成が従来品と異なることでの代謝障害 ・アレルゲンの生成による食物アレルギーあるいは接触皮膚炎（かぶれ）の誘発
⑤海外および国内におけるハザードの含有実態	承認申請状況や審査結果の一部が公開されているが、詳細は不明。
⑥ハザードの低減方法	上記の種々の検査。製品の消費期限。摂取前の加熱などによる殺菌・調理法。個別製品のデータを確認し、検討する必要がある

⑦国際的及び各国の取り組み情報	USA: FDA(培養までの過程)・USDA (培養後からの過程) での共管。市販前コンサルテーションあり。 EU: Novel food としてオンライン申請・調査。加盟各国の食品衛生の枠組みも適用される。事前相談制導入予定。
⑧リスクに対する消費者の認識	いくつかの調査報告論文があるが、消費者の受け入れは様々。製品の実物がなく、リスクも含めて情報伝達は十分ではない
⑨リスク評価機関への想定質問事項	・製品特有の毒性物質（毒性物質、栄養成分の偏り、アレルゲンの生成）および生理活性物質の有無 ・遺伝子改変の有無 ・汚染等、衛生面の問題 ・細胞の起源、製造方法、規制する法・枠組み
⑩不足しているデータ	・詳細な培養法（手法、培地） ・成形法 ・製品化までに使用される物質 ・最終的な製品の各分析結果（毒性物質、栄養成分の偏り、アレルゲンの生成） ・遺伝子改変の有無 ・バイオアッセイ

表7 リスクプロファイルの検討（その2）—ハザードおよび検査法等—

ハザードの系統	ハザード	特徴	検査法、リスク軽減法等
感染・毒性物質	異常型プリオン	細胞起源動物の汚染、従来の食肉と異なる製造過程（長期培養等）による変異タンパク産生の懸念	採取動物の管理、ELISA 等による異常タンパクの検出、人工胃腸液による分解の有無
	細菌・ウイルス等による汚染	細胞起源動物の汚染、培養期間中の細菌汚染	採取動物の管理、細菌検査、ウイルス検査、LPS 等、製品の消費期限の設定、調理法（摂取法）
	毒性物質	従来の食肉と異なる製造過程による毒性物質産生の懸念	メタゲノミクス解析、バイオアッセイ
細胞異常	エピジェネティックな変化	従来の食肉と異なる製造過程による左記変異の懸念	ChIPSeq など
	遺伝子変異等、形質の変化	従来の食肉と異なる製造過程による、癌化を含めて左記変異の懸念	シーケンス、培養細胞の観察、がん遺伝子活性の測定など
	外来遺伝子	iPS 細胞や遺伝子改変細胞を使用する可能性	食品衛生法上の規制、シーケンスなど
	生理活性物質の産生	生理活性物質の産生量増加や新たな産生による影響の可能性	メタボロミクス、リポドミクス解析など
製品の成分 （感染、毒性除く）	重金属	細胞起源の動物の状態・従来の食肉とは異なる製造過程	金属分析
	アミノ酸等、栄養成分の組成	従来の食肉とは異なる製造過程	タンパク解析など
	アレルゲン	従来の食肉と異なる製造過程によるアレルゲン産生の懸念	アレルゲン検査、バイオアッセイ
	残留する培養液成分（ホルモン、抗生物質）	特殊な培養液・培養法による、製品中の残留物質による健康被害	培養液の情報、成分分析、従来の食肉との比較、添加物規制（培養液の成分を規制する場合）、食品衛生法上の規制
その他	消化・代謝障害	従来の食肉と組成が異なることでの、消化吸収障害	動物実験、調理法（摂取法）
	異常細胞の摂取による健康被害	従来の食肉と製造過程が異なる事で生じた癌化細胞が、種を超えた転移を起こす可能性	シーケンス、調理法（摂取法）、動物実験
	汚染食品・毒性物質の摂取による食中毒	従来の食肉と異なる製造過程で、左記のような細菌等がコンタミしている可能性	細菌・ウイルス・毒性検査、製品の消費期限の設定、調理法（摂取法）、バイオアッセイ
	異常タンパクの摂取による人獣共通感染症	従来の食肉と異なる製造過程で産生された変異タンパク等が種を超えた感染を起こす可能性	変異タンパクの検査
	アレルギー疾患	従来の食肉と異なる製造過程で産生された新たなアレルゲンが含有されている可能性	アレルゲン検査、バイオアッセイ

分担研究報告書

分担研究課題 「モデル細胞の分化増殖過程におけるエピジェネティクス解析」

研究分担者 仁科 博史 東京科学大学 総合研究院 難治疾患研究所
発生再生生物学分野

研究要旨

本分担研究では、これまでに食経験のない、若しくはこれまでとは違った方法により摂取されるような新規食品を安全の視点から研究する。特に遺伝子変異やエピジェネティクス変化による解析等を検討し、細胞の分化増殖過程におけるハザード解析を検討する。

転写共役因子 YAP はその強力な細胞増殖促進活性から、正常培養細胞を増やすために利用が考えられている。一方、YAP は強力ながん発症促進活性も有している。それゆえ、YAP 利用に当たっては、正常培養細胞をがん化誘導することなく、正常細胞状態のまま細胞増殖させる技術の開発が必要である。この目的遂行のために、我々は先ず、YAP 遺伝子をマウス肝臓に発現させる実験を行った。その結果、1) 野生型(WT)YAP に比較して、3 種類の活性型 YAP (1SA, 2SA, 5SA、それぞれセリン残基を 1 個アラニンに置換したもの、2 個置換したもの、5 個置換したものに対応する) はすべて肝細胞の増殖を促進することが示された。2) また、YAP (2SA) と YAP (5SA) は肝がん発症を誘導した。興味深いことに YAP (1SA) は細胞増殖を促進したが、肝がん発症は誘導しなかった。次にがん化の原因を探索するために、YAP (2SA) 発現による遺伝子変異やエピジェネティクス変化の解析を行った。その結果、3) 既に多くのがんで報告されているように体細胞ゲノム変化が生じていた。興味深いことに、アセチル化やメチル化のエピジェネティクス変化も誘導されていた。以上の結果は、細胞増殖には YAP の活性化が必要であるが、その活性化が強すぎるとがん発症に至ること、また、YAP の強い活性化は予想通り、ゲノム変化やエピジェネティクス変化を誘導することを示唆している。結論として、細胞増殖のために、YAP を利用する場合には、適切 YAP 活性を制御することが必要であることが示された。

A. 研究目的

転写共役因子 YAP はその強力な細胞増殖促進活性から、正常培養細胞を増やすために利用が考えられている。実際、各種細胞に活性型 YAP を導入すると、細胞増殖は促進される。一方、YAP は強力ながん発症促進活性も有している。ヒトの複数のがん種において YAP の活性化が報告されている。肝がんでは、50%以上で YAP が活性化されているという報告もある。それゆえ、YAP 利用に当たっては、正常培養細胞をがん化誘導することなく、正常細胞状態のまま細胞増殖させる技術の開発が必要である。本研究では、野生型 YAP、活性化の程度の異なる YAP を肝細胞に導入し、その細胞増殖能とがん化誘導能を検討することを目的にした。

細胞増殖誘導活性を付与するために、YAP のアミノ酸残基の置換に着目した。野生型は刺激がない場合は不活性型であるため、細胞増殖を誘導しない。細胞増殖を誘導するためには、該当の Ser (S) 残基を Ala (A) 残基に置換する必要がある。3 種類の活性型 YAP (1SA, 2SA, 5SA、それぞれセリン残基を 1 個アラニンに置換したもの、2 個置換したもの、5 個置換したものに对应する) の活性化の程度は、YAP (5SA) > YAP (2SA) > YAP (1SA) の順番になることが知られている。

B. 研究方法

YAP の活性化体 YAP (2SA) を発現する環状プラスミドを、Hydrodynamic 法を用いてマウスの肝臓にモザイク状に導入した。その後、マウスの肝臓を回収し、組織学的解析、RNA-seq 解析、Whole Exome Sequence (WES) 解析、DNA メチル化解析を行った。

ネットワーク解析には、NetworkAnalysist 3.0 (<https://www.networkanalyst.ca>) を使用した。

プラスミド

Flag タグおよび Myc タグ×5 (5 つの Myc がタンデムになっている) を付加した Full-length human YAP cDNA を pLIVE プラスミド (Mirus Bio) の Xba I サイトに挿入した発現ベクターを用いた。IRES 型プラスミドも同様

に Flag-Myc-YAP (2SA)-IRES-NLS-Cre cDNA を pLIVE プラスミドの Xba I サイトに挿入した発現プラスミドを用いた。YAP (1SA), YAP (2SA), YAP (5SA) は PCR を用いてサイト特異的に変異を導入したものを用いた⁷。発現プラスミドに挿入されたそれぞれの cDNA はマウス AFP エンハンサーおよびマウス Albumin プロモーターによって発現が誘導される。

Hydrodynamic tail vein injection (HTVi) 発現プラスミド (20 μ g) をマウス体重の約 10% 量の TransIT-EE Hydrodynamic Delivery Solution (Mirus Bio) に希釈した (20–23g のマウスに対して 2 ml)。実験に使用するマウスの尻尾を 42–50°C のお湯に 20–30 秒浸し、2.5ml シリンジと 27G の注射針を用いて発現プラスミドを希釈した溶液を尾静脈から約 7–8 秒で導入した。

HE 染色

マウス肝臓を 4% paraformaldehyde (PFA) 中で 4°C で一晩振盪し、固定した。PFA 固定後 70% EtOH 中で一晩固定した。EtOH 固定後の肝臓は分葉し、Thermo Excelsior ES を用いてパラフィン置換した。パラフィン置換した肝臓を用いてパラフィンブロックを作製した。MICROM HM335E を用いてパラフィンブロックを 5 μ m の厚みに薄切し、切片を作製した。薄切切片の脱パラフィンは、Xylene で 15 分間×2 回、100% EtOH で 10 分間×2 回、90% EtOH で 5 分間×1 回、70% EtOH で 5 分間×1 回、流水で軽く洗浄後、Milli-Q で軽く洗浄する手順で行った。脱パラフィン後の切片を Mayer's Hematoxylin で 10 分間染色し、42–45°C のお湯で 10 分間処理した後に、Eosin で 5 分間染色した。染色後の切片は 70% EtOH で 1 分間×1 回、100% EtOH で 3 分間×2 回、100% EtOH で 5 分間×1 回、Xylene で 5 分間×2 回洗浄する手順で透徹し、MOUNT-QUICK (DAIDO) とカバーガラスを用いて封入した。組織像の観察及び撮影は、BZ-X710 (KEYENCE) で行った。

RNAseq 解析

RNA 配列解析は、タカラバイオ株式会社 (日本、滋賀) に委託した。RNeasy Mini Kits (74104; QIAGEN, Hilden, German) を用いて、製造者の指示に従って total RNA を抽出した。抽出した RNA を DNase I (2270B; Takara, Shiga, Japan) とインキュベートし、ゲノム

を分解させた。RNAの品質は、まず1.5%アガロースゲルでの電気泳動で評価し、その後、吸光光度計で評価した。遺伝子は、fold-changeが2より大きいとき、差次的に発現しているとみなされた。GO解析は、Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) tool (<https://david.ncifcrf.gov/>) を用いて行った。

(倫理面への配慮)

本研究においては組換えDNA実験を含むが、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」、およびこれに基づく政省令・告示に示される基準に適合し、かつ所属機関の承認を得ている。また、動物実験の承認も得ている。

C. 研究結果及び考察

その結果、1) 野生型(WT)YAP に比較して、3種類の活性化型 YAP(1SA, 2SA, 5SA、それぞれセリン残基を1個アラニンに置換したもの、2個置換したもの、5個置換したものに対応する)はすべて肝細胞の増殖を促進することが示された。2) また、YAP(2SA)とYAP(5SA)は肝がん発症を誘導した。興味深いことにYAP(1SA)は細胞増殖を促進したが、肝がん発症は誘導しなかった。次にがん化の原因を探索するために、YAP(2SA)発現による遺伝子変異やエピジェネティクス変化の解析を行った。その結果、3) 既に多くのがんが報告されているように体細胞ゲノム変化が生じていた。興味深いことに、アセチル化やメチル化のエピジェネティクス変化も誘導されていた。以上の結果は、細胞増殖にはYAPの活性化が必要であるが、その活性化強すぎるとがん発症に至ること、また、YAPの強い活性化は予想通り、ゲノム変化やエピジェネティクス変化を誘導することを示唆している。

D. 結論

令和6年度は、YAPの有する細胞増殖能とがん化誘導能について検討し、YAPの活性化の強弱によって、がん化誘導能の有無が決定することが示唆された。食品となる培養細胞の増殖に応用する場合は、YAP活性化を制

御可能な技術の導入を考慮する必要があると考えられる。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- Miki Nishio, Keiko Yamaguchi, Junji Otani, Katsuya Yuguchi, Daisuke Kohno, Tsutomu Sasaki, Tadahiro Kitamura, Masakazu Shinohara, Tomoyoshi Soga, Koichi Kawamura, Atsuo T., Masashi Oshima, Hiroki Hikasa, Minna Woo, Takehiko Sasaki, Hiroshi Nishina, Kazuwa Nakao, Tomohiko Maehama and Akira Suzuki (2025) Mob1 deletion in murine mature adipocytes ameliorates obesity and diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* accepted
- 仁科博史：やっぱり Science は面白い！ *日本 Cell Death 学会 HP*
- 小藤智史、仁科博史：ストレス応答シグナルによる肝再生制御 *医学のあゆみ* 2025年5月17日発行予定
- 仁科博史、セコム科学技術振興財団の研究者インタビュー 2024年10月1日

2. 学会発表

仁科博史、JNK および Hippo リン酸化シグナル伝達経路の生理的役割、神戸大学 CMX 創発医学講演会(2024. 6. 24) 神戸

G. 知的財産所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書（R6年度：最終年度）

分担研究課題 「モデル家畜細胞の分化増殖過程におけるハザード解析」

研究分担者 堀 正敏（東京大学大学院農学生命科学研究科）

研究要旨

フードテックを応用した新開発食品のうち、これまでに食経験のない骨格筋細胞など家畜・家禽由来の様々な細胞を採取・培養し食肉の代用品を作る「培養肉」（本研究では「細胞培養食品」と呼ぶ）の研究開発が加速度的に進んでいる。しかし、細胞培養食品の上市化に際しその安全性評価に向けた課題の抽出や具体的な安全性基準については整備されていない。本研究では、牛の気管平滑筋や大動脈平滑筋など、実際の家畜の臓器を用いた細胞培養系を樹立し、その開発途上に現れる細胞の様々な変化を検証することで、細胞培養食品の安全性基準の礎となる基盤を構築する。

最終年度（令和 6 年度）は、まず、ウシの大動脈平滑筋細胞を用いてウシ胎児血清（FBS）10%による培養と、無血清培地+GF 代替ペプチド添加での細胞増殖活性について検証した。10 月に FGF2 代替ペプチドが上市され、既に市販されている HGF 代替ペプチドとともにウシの大動脈平滑筋細胞無血清培地での細胞増殖について検証を試みたが、細胞増殖活性などの明確な結果を得ることができなかった。今後、濃度設定や混合適用、将来上市される予定の PDGF-BB や IGF-1 の代替ペプチドなどを用いて、無血清培地での細胞増殖培養条件の探索をさらに行っていく必要があると考えられた。ウシ気管平滑筋を FBS 10%による血清培地で培養した後、無血清培地で培養することで変動遺伝子群が血清培地培養前（Primary cells）での遺伝子発現に戻る可塑性を有するか否かを検証した。結果、血清培地での細胞培養継代によって変動した遺伝子群は、無血清培地での培養によっても初代培養時の状態に戻ることはなく、遺伝子変動に可塑性は認められなかった。

以上、3 年間の解析により、培養肉安全性評価における一般的なターゲットバリデーションを示すことがきたが、平滑筋細胞を用いた無血清培地による細胞増殖培養条件については更なる検討を要する。

A. 研究目的

地球上の人口増加や異常気象を背景に、将来の食糧不足が問題となっている。この地球規模の問題を解決する一つの手法として、様々なフードテックの研究が進み、様々な代替肉の開発が手掛けられている。中でも骨格筋細胞をはじめとする家畜・家禽由来の様々な細胞を採取・培養し食肉の代用品を作る「培養肉」（本研究では以下「細胞培養食品」とする）の研究開発の進展は目覚ましい。

しかし、細胞培養食品の上市化に際しその安全性評価に向けた課題の抽出や具体的な安全性基準については整備されていない。本研究では、牛の気管平滑筋や大動脈平滑筋など、実際の家畜の臓器を用いた細胞培養系を樹立し、その開発途上に現れる細胞の様々な変化を検証することで、細胞培養食品の安全性基準の礎となる基盤を構築する。

（最終年度の研究目的） ウシの大動脈平滑筋細胞を用いてウシ胎児血清（FBS）10%による培養と、無血清培地下 GF 代替ペプチド添加での細胞増殖活性について検証し、無血清環境下でのウシ由来平滑筋細胞の増殖条件を見出すことを目的とした。また、ウシ気管平滑筋をFBS10%による血清培地で培養した後、無血清培地で培養することで変動遺伝子群が血清培地培養前（Primary cells）での遺伝子発現に戻る可塑性を有するか否かを明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

ウシ大動脈平滑筋細胞（第2継代細胞株、TOYOB0 CAB35405）をDMEM培地10% ウシ胎児血清下で培養した。細胞は70%コンフレントの状態まで継代して実験に供した。5代継代した細胞をDMEM無血清培地にて24時間培養した後、肝細胞増殖因子（Hepatocyte Growth Factor : HGF）c-Metアゴニスト、または線維芽細胞増殖因2（Fibroblast Growth Factor2 ; FGF2）FGFR1c アゴニスト（PepitiGrowth, Tokyo, 日本）各30 ng/mLを添加し培養し、72時間後に細胞増殖活性を測定した。

屠場よりウシの気管を入手し、気管平滑筋細胞をコラゲナーゼ/エラスターゼカクテルにて

単離し、DMEM培地10% ウシ胎児血清下で培養した。細胞は70%コンフレントの状態まで継代した。その時の細胞を集めtotal RNAの抽出を行った。また、5代まで継代した後に無血清培地にて24時間ごと3回無血清培地にて培養を継続した細胞を採取し、total RNAの抽出を行った。得られたtotal RNAをもとに、RNAseq解析を行い変動する遺伝子の比較解析を行った。

C. 研究結果及び考察

（ウシ大動脈平滑筋の無血清培養）

ウシ大動脈平滑筋細胞は5代まで10% FBS存在下で継代を継続したところ、安定した平滑筋細胞の形態と増殖を維持していた。5代継代した細胞を無血清培地に交換し24時間培養後、c-MetアゴニストまたはFGFR1c アゴニスト30 ng/mLを添加し培養し、さらに72時間後に細胞増殖活性を測定した。結果、c-Metアゴニスト添加の有無によって細胞数に有意な変動はなく、有意な細胞増殖活性は得られなかった。今後、c-MetアゴニストならびにFGFR1c アゴニストの濃度設定や、将来上市される予定のPDGF-BBやIGF-1の代替ペプチドなどを用いて、無血清培地での細胞増殖培養条件の探索をさらに行っていく必要があると考えられた。

（ウシ気管平滑筋細胞の可塑性）

ウシ気管平滑筋を10% ウシ胎児血清下で培養と継代を重ねると発現遺伝子群に変動が認められ、細胞の脱分化の可能性が考えられた（二年度の成果）。そこで、本年度は血清培地下での変化が無血清培地に戻すことで発現遺伝子が血清培養前に戻るか否か、発現遺伝子変動の可塑性について検証した。結果、ウシ胎児血清下で5代まで培養したウシ気管平滑筋細胞の遺伝子発現パターンは、5代まで培養した細胞を24時間x3日間無血清培地にて培養した細胞から得られた遺伝子発現パターンとの間に差は認められず、継代によって変動した遺伝子変動に可塑性はないことがわかった。すなわち、一旦血清存在下で培養したウシ気管平滑筋細胞は増殖型に脱分化し、発現する遺伝子パター

ンは生体内での細胞とは異なり、もとには戻らない可能性が考えられた。今後、無血清培地での培養法の確立後に、発現する遺伝子群が生体内での遺伝子発現パターンと同じであるのか検証することが必要と考えられた。

D. 結論

ウシ大動脈平滑筋細胞を用いた無血清培地での細胞増殖活性維持方法については、完全合成ペプチドの技術を利用して条件を見出していくことが肝要と考えられた。また、細胞培養食品の実用化を考えた場合、ある程度までウシ胎児血清培地にて細胞を増やしたのちで、完全無血清培地での培養を行うことで食品としての安全性を担保できる可能性があると考えられる。しかし、本研究により一旦血清培養して変動した遺伝子発現はその後の無血清培地での培養によって培養前の遺伝子パターンに戻ることはなく、遺伝子発現変動に可塑性は得られなかった。この成績はウシ気管平滑筋における成績であるが、今後、ここの対象となる細胞において無血清、血清での培養によって変動する遺伝子群やその可塑性について検証することが重要と考えられた。

以上の3年間の解析結果を踏まえ、細胞培養食品の安全性評価における適切な指標を選定しその妥当性を評価し、まとめることができた。一般的なターゲットバリデーションについてまとめた。すなわち、細胞培養食品に使用する動物に老齢個体は不向きであること、安定した培養技術・環境が求められること、及び、製品ごとに、生理活性物質の増減を含め、網羅的な遺伝子発現の確認が必要であること、である。

E. 健康機器情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

細胞培養食品バイオハザード研究 2

培養細胞の遺伝子発現における老齢個体の影響と継代による生体内有害物質合成/分解系の遺伝子変動

堀 正敏、三原大輝、後藤 もも、徳永弥生、伊藤 浩人、茶園貴志、黒澤珠希、北嶋 聡

日本毒性学会 第51回学術年会 (2024)7月3-5日 (福岡市)

G. 知的財産所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

分担研究課題 「モデル家禽細胞の分化増殖過程におけるハザード解析」

研究分担者 福田 公子 東京都立大学理学研究科生命科学専攻

研究要旨

一般的に、分化と増殖は相反していると考えられている。しかし、胚の器官ではある程度分化した細胞が増殖していることが見られる。そのため、胚内の条件を再現できれば、分化を維持したまま増殖させることが可能と考えられる。このような系を確立することで、あらためて「細胞培養食品」作出に関わるリスク因子を抽出したり、確認したりすることを目指した。昨年度までに、ニワトリ14日胚の砂囊平滑筋層の細胞塊を平面に撒いて、また3Dで培養する方法を確立した。本年度はこれらの培養で細胞塊がどのように変化していったかを解析した。3D培養ではハンギングドロップ法を用いたが、そのときの細胞塊の大きさが重要であることがわかった。0.6mmの直径のものは、どのような培養液でも、内部でおそらくネクロシスが起り、細胞が死んでいた。一方、0.4mmの直径の細胞塊の培養では細胞死は起こらなかった。また、培養液によっても細胞の振る舞いかなり違うことがわかった。1% FBS入りのDMEMで培養したときには、細胞塊はあまり大きくならなかったが、7日間の培養期間を通して塊全体で平滑筋マーカーである α Smooth muscle actinおよびcalponinを発現していた。また、細胞塊にはEdU陽性細胞が多く見られ、平滑筋が分裂していることが示唆された。一方、10% FBS入りのDMEMで培養すると、7日間の培養で、細胞塊は2倍程度まで大きくなったが、培養4日以降、細胞塊の外側にcalponinを発現していない細胞が現れ、calponin陽性細胞と明瞭に区別される区画を作っていた。calponin陽性より、陰性細胞の方に分裂細胞が多く見られるという特徴もあった。Calponin陰性細胞の細胞腫を特定するために、砂囊筋層に含まれると考えられる、神経細胞と間充織のマーカーの発現を調べたところ、Calponin陰性細胞の領域では、神経マーカーTuji1陽性細胞はあまり存在してなかった。間充織マーカーでもあるN-CAM1は存在している場合と、していない場合があった。今年度の研究で、砂囊平滑筋は低濃度FBS存在下でも増えることができること、高濃度FBS存在下では2次元培養と同様、平滑筋の脱分化が起きているか、間充織などの他種の細胞が増殖することがわかった。細胞培養時には、元々の組織に少量の多種細胞が混ざっており、これを完全に取り除くことは難しい。培養条件によっては、ターゲット外の細胞がより増殖するリスクがあることを示している。

A. 研究の目的

細胞培養食品の作成の際に、胚の細胞はターゲットになりうる。これは、胚の細胞がある程度の分化をしながらも、胚内で増殖するためである。しかし、胚の器官でどのような因子が働いているのか完全に解明されている例は少なく、胚細胞を分化形質を維持したまま培養に成功している例は少ない。例えば、ニワトリの胃の一つである砂嚢（筋胃）は他の消化器官に比べ、厚い平滑筋層を持つことが知られている。砂嚢では、平滑筋の前駆細胞の時点から、増殖能が高いが、平滑筋が分化し、特徴的な収縮タンパク質を発現した後でも、高い増殖能を維持していることが知られている。しかし、これまで、砂嚢平滑筋を単離して培養すると、ウシ胎児血清(FBS)などを添加した増殖条件では分化を保てず、収縮できなくなること、インスリン添加で増殖させない条件だと、分化を維持できることが示されている。昨年度まで、我々は砂嚢平滑筋細胞塊を2次元的に培養し、細胞塊から這い出した直後は分化が維持されているものの、その後の増殖でディッシュ内で散らばり、脱分化してしまうことを示した。そこから、細胞同士の接触が平滑筋分化維持に関わっている可能性を考え、昨年度後半から、より胚の組織に近い、3D培養を試みた。

B. 研究方法

組織

ニワトリ（ヒペコネラ種）の14日胚の砂嚢平滑筋層を単離し、用いた。動物実験は「東京都立大学研究倫理委員会規程」および「東京都立大学動物実験管理規程」に基づいて計画し、承認されたもの(A6-20)に従って実施した。

細胞塊の作成

単離した14日胚の砂嚢の平滑筋層を眼科ハサミで細かく切断した後、パスツールによるピペッティングを行い、直径0.4または0.6 mmの細胞塊を作成した。

平面細胞培養

細胞塊をDMEM培地1または10%ウシ胎児血清(FBS)条件で、コラーゲンコートしたチャンバースライドに播種した。細胞は5% CO₂インキュベーターで1, 4, 7日間培養した。培養後に残った細胞塊は細胞塊は固定後、凍結切片作成し、 α Smooth muscle actin(α SMA)およびcalponin抗体で免疫染色をおこなった。

ハンギングドロップ培養

DMEM培地1, 10%ウシ胎児血清(FBS)条件または、DMEM培地50%ニワトリ胚抽出液(EE)条件を用いた。EEは12日胚の胚全体を取り出してDMEM培地に1:1で混ぜ、ブレンダーにかけたものを遠心し、その上澄を用いた。

シャーレの蓋に20ulの培地を滴下し、培地の中に細胞塊を入れた後、PSBを入れたシャーレに蓋を被せることでハンギングドロップにし、5% CO₂インキュベーターで培養した。

1, 4, 7日間培養した細胞塊は、凍結切片作成後、 α SMAおよびcalponin抗体で免疫染色をおこなった。さらにTuji-1及びN-CAM1抗体でも染色した。

EdUによる増殖細胞の検出

2次元およびハンギングドロップ法で培養中に、Click-iT™ EdU Cell Proliferation Kit for Imaging, Alexa Fluor™ 488 dye (Invitrogen)を用いて、増殖細胞を検出した。培養液を100 uM EdUを含む培養液に変換し、4時間後に固定後、細胞塊を回収し、薄切、マニュアルに従って染色した。

C. 研究結果及び考察

C-1. 3D培養条件の検討

これまで、砂嚢平滑筋細胞の培養では、増殖を抑えるような条件でのみ、分化状態を保ったまま培養できるとされていた。昨年度、平滑筋細胞塊をつかった2次元培養では、細胞塊から這い出た直後は平滑筋の形態、収縮タンパク質の発現から平滑筋の特徴を保っていると考えられるが、その外側では細胞密度が下がり筋線維芽細胞様に変化すること、また、単離細胞の培養では、すぐに平滑筋の特

徴を失うことがわかった。このことから平滑筋細胞塊を這い出させることなく、3Dで培養すれば、胚の砂嚢内と同様に、平滑筋が分化を維持したまま増殖できるのではないかと考えた。

① 細胞塊の大きさの検討

昨年度の終わりに、0.2-0.6mm程度の平滑筋細胞塊でハンギングドロップ法で3D培養を試みたが、結果が安定しなかった。これが、細胞塊の大きさが違うことによる可能性を追求するため、細胞塊の大きさが直径0.4 mmのものと、0.6mmのもののみを選び、培養した。厚さはどちらも0.2mm程度だった。直径0.4 mmの細胞塊では培養液によらず、培養2日までに細胞塊の直径は0.3mm程度に縮み、細胞密度が上がり、かつ球状になった。その後、DMEM-10%FBS条件では、4日、7日と培養が進むにつれ細胞塊が大きくなり、0.6-7mmほどの直径の球となった。DMEM-1%FBS条件では、それほど大きくはならず、7日目の直径は0.4mmほどだった。直径0.6 mmの細胞塊では0.4mmの細胞塊と同様に2日目までに細胞塊が縮んだが、その後、細胞塊は大きくなり、4日を過ぎてから徐々に中心部が黒くなって、ネクロシスが疑われた。そこで、この後の解析は直径0.4 mmの細胞塊を使用することにした。

② EE培地の検討

ニワトリ消化管の器官培養では、ニワトリ胚抽出液(EE)をFBSの代わりに使うことが多い。そこで、DMEM-50%EE条件で細胞塊を培養したところ、2日までは同様だったが、4日には塊の中心部が黒くなり、7日には黒い部分が増えていた。切片からは細胞塊中心部に細胞が見られず、ネクロシスと思われた。このため、今後の解析ではEEを使用しないことにした。EEを細胞塊の2次元培養で使った時は、細胞が2日でコンフルエントになるなど、EE条件の増殖刺激が高いことが考えられ、それが細胞死の原因となっている可能性が高い。

③ DMEM-1, 10%FBS条件での細胞分化の解析
ハンギングドロップ法で培養した細胞塊内の細胞の分化を解析するため、細胞塊の切片を作成し、2次元培養の時と同様に、平滑筋

初期マーカーである α SMA、分化した平滑筋マーカーとされるcalponinの発現を免疫抗体法で調べた。DMEM-1%FBS条件では2日、4日、7日を通して、 α SMA、calponinともに、細胞塊の最も外側に位置する細胞で非常に強いものの、内部も満遍なく発現していた。ただし、砂嚢で見られた平滑筋の束構造は見られず、細胞は全体で同様の方向に並んでいるだけだった。DMEM-10%FBS条件では、2日まではDMEM-1%FBS条件と同様の組織構築、マーカータンパク質の発現だったが、4日では細胞塊の一部に、 α SMA、calponinが両方とも出ていない領域が見られた。7日ではそれがさらに顕著になっており、細胞塊の外側に α SMA、calponinが両陰性の領域が広がっていた。さらに、細胞塊の最も外側の α SMA強陽性の細胞ではcalponinが発現していないものが多かった。ここでは、2次元培養でも見られたように、平滑筋が脱分化している可能性が高い。

DMEM-10%FBS条件で4, 7日に見られるcalponin陰性の領域がどのような細胞でできているのかに興味を持った。そこで、胚の平滑筋細胞層に含まれると考えられる、間充織細胞と神経叢の細胞に注目した。切片をTuji-1(神経マーカー)およびN-CAM1(神経および砂嚢間充織細胞マーカー)で染色したところ、Tuji-1はcalponin陽性細胞に隣接して発現が少数見られたものの、塊にはなっておらず、神経叢の細胞が増殖し、 α SMA、calponin陰性領域ができたとは考えづらかった。一方、N-CAM1はTuji-1と重なる、少数の強い染色のほかに、弱い染色が細胞塊内に見られた。この染色は α SMA、calponin陰性領域にあることもあったが、calponin陽性領域と重なることもあった。このことは、間充織細胞はcalponin陽性の平滑筋と混じって存在していること、間充織細胞が増えて α SMA、calponin陰性領域を作ることがあることを示唆している。

④ DMEM-1, 10%FBS条件での細胞増殖の解析
DMEM-10%FBS条件では、必ずしも平滑筋だけが増えているわけでないことが示唆された

ため、本当に平滑筋細胞塊ハンギングドロップ培養で平滑筋が増殖したのかをEdUの細胞への取り込みとcalponinの免疫染色を重ねることで解析した。DMEM-1%FBS条件では、培養4日、7日ともにcalponin陽性細胞が、EdUを取り込んでいることがわかった。また、EdU陽性細胞は細胞塊全体に散らばっていた。このことは、平滑筋が分化を維持しながら増殖していることを強く示唆している。一方、DMEM-10%FBS条件では、4日ではcalponin陽性細胞、陰性細胞の両方にEdUの取り込みが見られ、細胞塊全体に散らばっていた。7日では、calponin陰性細胞の方にEdU陽性細胞が多く、また外側にEdU陽性細胞が局在するのが見られた。これはDMEM-10%FBS条件が平滑筋より他の細胞種の増殖条件に合っている可能性がある。

C-2 2次元培養での細胞塊の分化解析

平滑筋細胞塊のDMEM-1%FBS条件の3次元培養で、砂嚢平滑筋の分化を維持しながら増殖させることに成功したが、2次元培養でも塊の部分では同じことが起こっている可能性があるため検証した。直径0.4mmの細胞塊をコラーゲンコートしたディッシュにまき、DMEM-1%FBS条件で培養後、残った細胞塊を回収し、calponinの発現、EdUの取り込みを解析した。2次元培養では細胞が次々と這い出すので、細胞塊は小さくなっていたが、細胞塊の中には、calponin、EdU両陽性の細胞が存在しており、ここでも平滑筋が分化を維持しながら増殖していることが示された。

D. 結論と今後の展望

本年度の実験で、砂嚢平滑筋は細胞塊で培養することで、少なくとも7日間は平滑筋が分化を維持しながら増殖できることを示した。細胞塊の外側、つまり、細胞接着が弱い細胞が α SMA 強陽性、calponin陰性になり、脱分化したことを示していることは、昨年度2次元培養で示された、細胞接着が平滑筋の分化に重要であることをさらに裏付ける結果と考えられる。また、平滑筋細胞が一般的な細胞の増殖刺激条件である10%FBSよりも

かなり低い濃度である1%FBSで増殖を維持していることは非常に興味深い。これが砂嚢平滑筋が消化管の他の領域よりよく増殖し、平滑筋層が著しく厚くなる理由の一つの可能性はある。また、今回の培養でDMEM-10%FBS条件下では、細胞塊は大きくなったが、その原因は平滑筋の増殖が1%FBS条件よりも上がったというよりは、間充織細胞などの他の細胞種が盛んに増殖したためと考えられる。このことは「細胞培養食品」を作製する際に、条件をよく整えないと、一見増殖し収量は上がるものの、ターゲットではない、コンタミネーションまたは元々組織中に存在していた少数の細胞の割合が上昇してしまう可能性を示唆しており、細胞培養食品作製におけるリスクと考えられる。今回、DMEM-1%FBS条件で培養中の細胞塊中の増殖細胞には、calponin陽性細胞だけでなく、陰性細胞もあった。血管平滑筋では、収縮型と増殖型があり、増殖型では収縮タンパク質の発現が落ちることが報告されている。砂嚢平滑筋でも増殖型が存在するのか、今後、calponin陰性の増殖細胞の子孫細胞を調べることで明らかにできると考えている。また、今回の培養では砂嚢の組織構築の維持ができていない。これには更なる細胞外因子が必要と考える。

E. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

金佳誼、福田公子：砂嚢平滑筋細胞塊からの平滑筋細胞培養、第47回日本分子生物学会年会、福岡、2024年11月27-29日

金佳誼、福田公子：A 3D Culture System to Maintain Proliferation and Differentiation of Gizzard Smooth Muscle Cells. 第58回日本発生生物学会、第77回細胞生物学会合同大会、名古屋、2025年7月16-18日

F. 知的財産所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
五十嵐智女、西村拓也、 北嶋 聡	細胞培養食品の安全性に係る諸外国の規制動向について	食品と開発	60	1 - 5	2025

消費者庁長官 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度食品衛生基準科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）
2. 研究課題名 フードテックを応用した細胞培養食品の先駆的な調査検討による食品衛生上のハザードやリスクに係る研究 -リスクプロファイルの作成とモデル細胞実験系による検証・還元-
3. 研究者名 （所属部署・職名） 安全性生物試験研究センター毒性部・部長
（氏名・フリガナ） 北嶋 聡・キタジマ サトシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査（※2）
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（※3）	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☒	☐	☒	国立医薬品食品衛生研究所	☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること （指針の名称： ）	☐	☒	☐		☐

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査の場合は、その理由を記載すること。
（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 消費者庁の行う食品安全分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ （無の場合はその理由： ）
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ （無の場合は委託先機関： ）
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ （無の場合はその理由： ）
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ （有の場合はその内容： ）

（留意事項） ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年1月24日

消費者庁長官殿

機関名 国立大学法人東京科学大学

所属研究機関長 職 名 理事長

氏 名 大竹 尚登

次の職員の令和6年度食品衛生基準科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品安全科学研究事業
2. 研究課題名 フードテックを応用した細胞培養食品の先駆的な調査検討による食品衛生上のハザードやリスクに係る研究-リスクプロファイルの作成とモデル細胞実験系による検証・還元-
3. 研究者名 (所属部署・職名) 難治疾患研究所・教授
- (氏名・フリガナ) 仁科 博史・ニシナ ヒロシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☒ 有 ☐ 無	☒	東京医科歯科大学	☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし、
部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月28日

消費者庁長官 殿

機関名 国立大学法人東京大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 藤井 輝夫

次の職員の令和6年度食品衛生基準科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 食品安全科学研究事業
- 研究課題名 フードテックを応用した細胞培養食品の先駆的な調査検討による食品衛生上のハザードやリスクに係る研究 -リスクプロファイルの作成とモデル細胞実験系による検証・還元-
- 研究者名 (所属部署・職名) 大学院農学生命科学研究科・教授
(氏名・フリガナ) 堀 正敏・ホリ マサトシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 食品衛生基準分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分母研究者の所属する機関の長も作成すること。

消費者庁長官 殿

機関名 東京都立大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 大橋 隆哉

次の職員の令和 6 年度食品衛生基準科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 食品安全科学研究事業
- 研究課題名 フードテックを応用した細胞培養食品の先駆的な調査検討による食品衛生上のハザード
やリスクに係る研究-リスクプロファイルの作成とモデル細胞実験系による検証・還元
- 研究者名 (所属部署・職名) 理学研究科生命科学専攻・准教授
(氏名・フリガナ) 福田公子・フクダキミコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☒	☐	☒	東京都立大学研究倫理委員会	☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。