

## 学位論文題名

家畜の発生、成長及び食肉の熟成に伴う  
筋原線維Z線の構造変化に関する研究

## 学位論文内容の要旨

本論文は総頁数172頁の和文論文で、図66、表2および引用文献220を含み、他に2篇の参考文献が添えられている。

人類の食生活において主要な動物性蛋白質の供給源となっている食肉は家畜の骨格筋である。家畜の屠殺後、骨格筋は死後硬直を起こすが、その後の熟成に伴い軟らかくなり、風味も改善されて食味が良好な食肉になる。軟らかさは食肉の品質を決定する要因の中で最も重要であり、熟成に伴う食肉の軟化は筋原線維構造および結合組織構造の脆弱化によって起こることが明らかにされている。筋原線維構造の脆弱化の中でZ線の脆弱化は食肉の軟化に対して大きな役割を果たしていると考えられている。Z線の構造は $\alpha$ -アクチニンからなるZ-フィラメントとそれらの間隙を埋めている無定形物質から構成されており、0.1 mMの $\text{Ca}^{2+}$ によって無定形物質が除去されるとZ線は脆弱になることが知られている。本論文は、家畜の発生段階におけるZ線の形成および家畜の成長に伴うZ線の構造と構成成分の変化、特に無定形物質の性状変化を明らかにすると共に、食肉の熟成に伴うZ線の脆弱化の機構を解明することを目的としている。

## (1) 鶏の発生に伴うZ線の構造変化

鶏胚における筋原線維の形成を電顕により追跡すると、発生初期の未成熟の筋原線維においてZ線は既に形成されており、Z-フィラメントの主成分である $\alpha$ -アクチニンも筋原線維の形成に先んじて発現していた。これらの事実は、筋原線維形成の初期段階でZ線が配列し筋原線維形成の核となり、これに細いフィラメントや太いフィラメントが集合して筋原線維が形成されることを示しており、Z線が筋原線維の形成に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

また、7日目胚の胸筋においてはまだ筋原線維が形成されていなかったが、脚筋の場合は7日目胚で既に筋原線維が形成されていた。また、胚の段階で形成される筋原線維は胸筋においても脚筋においても幅の広いZ線で構成されていた。しかし、脚筋の場合は発生及び成長を通じて幅の広いZ線で構成されているのに対して、胸筋の場合は孵化直前から幅の狭いZ線へと変換し始め、孵

化後1週齢で成鶏の胸筋の場合と同様の幅の狭いZ線になった。Z線の幅と筋線維型は密接に関連していること、及びトロポニンT、トロポミオシン並びにコネクチンも鶏の発生の過程で脚筋型から胸筋型に変換することから発生初期の胸筋の筋線維は脚筋型として発現することが明らかになった。

### (2) 家畜の成長に伴うZ線の構造および構成成分の変化

家畜の成長に伴いZ線は幅が広くなり、堅牢になるが、この変化は鶏の場合は10週齢まで、牛の場合は13ヵ月齢までの成長初期に急激に起こった。Z線の堅牢化は家畜の成長に伴い骨格筋の発生張力が大きくなることによって起こるものと見なされる。0.1 mMの $\text{Ca}^{2+}$ を含む溶液でZ線から無定形物質を除去してからZ-フィラメントの幅を測定すると成長に伴う変化は全く認められず、各成長段階における $\alpha$ -アクチニン含量にも全く変化がなかった。従って、成長に伴うZ線の構造変化は無定形物質の蓄積によるものであることが明らかになった。

家畜の骨格筋筋原線維をホスホリパーゼCで加水分解するか界面活性剤Triton X-100で処理するとリン脂質が遊離することを見出した。また、筋原線維のZ線には筋原線維構成タンパク質100 g当り約1 gのリン脂質が存在していることが明らかになった。電顕による観察の結果、ホスホリパーゼCあるいはTriton X-100処理により無定形物質はZ線から消失するが $\alpha$ -アクチニン含量は変化しないことから、リン脂質は無定形物質の主成分であることが明らかになった。Z線を構成するリン脂質の量は、鶏の成長の初期段階で急激に増加し、Z線の幅が広くなることと良く一致した。従って、家畜の成長に伴い無定形物質の主成分であるリン脂質の量が増加し、Z線の構造が堅牢になることが明らかになった。

### (3) 食肉の熟成に伴うZ線の構造および構成成分の変化

Z線の無定形物質の主成分であることが明らかになったリン脂質の量は鶏肉、豚肉及び牛肉の熟成に伴うZ線の脆弱化とよく対応して減少したが、 $\alpha$ -アクチニン含量は殆ど変化しなかった。これらの事実は、食肉の熟成に伴うZ線の脆弱化は無定形物質の性状変化に基づくものであり、Z-フィラメントは関与していないことを示している。即ち、食肉の熟成に伴い筋線維サイトゾルの $\text{Ca}^{2+}$ 濃度が0.1 mMに上昇すると $\text{Ca}^{2+}$ とリン脂質間の反応が起こり、リン脂質が遊離するためにZ線が脆弱になると考えられる。また、この過程で $\text{Ca}^{2+}$ 活性化中性プロテアーゼであるカルパインは全く関与していないことが明らかになり、熟成に伴う食肉の軟化に関する「プロテオリシス説」は全面的に否定され、「 $\text{Ca}^{2+}$ 説」の正当性が立証された。

これらの結果から、筋原線維のZ線は発生の初期段階に形成されて筋原線維形成に重要な役割を担っていること、家畜の成長に伴いZ線の無定形物質の主成分であるリン脂質量の増加によってZ線が堅牢になること、及び食肉の熟成に伴うリン脂質の遊離によりZ線が脆弱になって、食肉の軟化を惹起することを結論としている。

# 学位論文審査の要旨

主査	教授	高橋	興威
副査	教授	齋藤	善一
副査	教授	近藤	敬治
副査	助教授	服部	昭仁

学位論文題名

## 家畜の発生、成長及び食肉の熟成に伴う 筋原線維 Z 線の構造変化に関する研究

本論文は総頁数172頁の和文論文で、図66、表2および引用文献220を含み、他に2篇の参考文献が添えられている。

家畜の骨格筋は屠畜後の熟成に伴い軟らかくなり、風味も改善されて食味が良好な食肉になる。熟成に伴う食肉の軟化は筋原線維構造および結合組織構造の脆弱化によって起こることが明らかにされている。筋原線維構造の脆弱化の中でZ線の脆弱化は食肉の軟化に対して大きな役割を果たしており、Z線の構造は $\alpha$ -アクチニンからなるZ-フィラメントとそれらの間隙を埋めている無定形物質から構成されている。本論文は、家畜の発生段階におけるZ線の形成および家畜の成長に伴うZ線の構造と構成成分の変化を明らかにすると共に、食肉の熟成に伴うZ線の脆弱化機構を解明することを目的としている。得られた結果は以下の通りである。

### (1) 鶏の発生に伴うZ線の構造変化

鶏胚における筋原線維の形成を電顕により追跡すると、筋原線維形成の初期段階でZ線が配列し筋原線維形成の核となり、これに細いフィラメントや太いフィラメントが集合して筋原線維が形成されることが観察され、Z線が筋原線維の形成に重要な役割を果たしていることが明らかになった。また、胚の段階で形成される筋原線維は胸筋でも脚筋でも幅の広いZ線で構成されていたが、脚筋の場合は発生及び成長を通じて幅の広いZ線で構成されているのに対して、胸筋の場合は孵化直前から幅の狭いZ

線へと変換し始め、孵化後1週齢で成鶏の胸筋の場合と同様の幅の狭いZ線になった。従って、発生初期の胸筋の筋線維は脚筋型として発現することが明らかになった。

### (2) 家畜の成長に伴うZ線の構造および構成成分の変化

家畜の成長に伴いZ線は幅が広くなり、堅牢になるが、この変化は鶏の場合は10週齢まで、牛の場合は13ヵ月齢までの成長初期に急激に起こった。Z-フィラメントの幅は成長に伴って全く変化せず、 $\alpha$ -アクチニン含量にも全く変化が認められなかった。従って、成長に伴うZ線の構造変化は無定形物質の蓄積によるものであることが明らかになった。筋原線維のZ線には筋原線維構成タンパク質100g当り約1gのリン脂質が存在していることを見出し、電顕観察の結果、リン脂質は無定形物質の主成分であることを同定した。リン脂質の含量は、成長の初期段階で急激に増加し、Z線の幅が広くなることと良く一致した。従って、家畜の成長に伴い無定形物質の主成分であるリン脂質の含量が増加し、Z線の構造が堅牢になることが判明した。

### (3) 食肉の熟成に伴うZ線の構造および構成成分の変化

リン脂質の含量は鶏肉、豚肉及び牛肉の熟成に伴うZ線の脆弱化とよく対応して減少したが、 $\alpha$ -アクチニン含量は殆ど変化しなかった。これらの事実は、食肉の熟成に伴うZ線の脆弱化は無定形物質の性状変化に基づくものであることを示している。即ち、食肉の熟成に伴い筋線維サイトゾルの $\text{Ca}^{2+}$ 濃度が0.2 mMに上昇すると $\text{Ca}^{2+}$ とリン脂質間の反応が起こり、リン脂質が遊離するためにZ線が脆弱になると考えられる。また、この過程で $\text{Ca}^{2+}$ 活性化中性プロテアーゼカルパインは全く関与していないことが明らかになり、熟成に伴う食肉の軟化に関する「プロテオリシス説」は全面的に否定され、「 $\text{Ca}^{2+}$ 説」の正当性が立証された。

以上の成果は家畜の発生、成長及び食肉の熟成に伴う筋原線維Z線の構造変化を多面的に追究して多くの新知見を見出したものであり、学術上貢献するところが大きく、高く評価される。よって審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者安東賢は博士(農学)の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。