

学位論文題名

牛の成長および牛肉の熟成に伴う
筋肉内結合組織の変化に関する研究

学位論文内容の要旨

本論文は総頁数164頁の和文論文で、図 62、表 3および引用文献 115からなり、他に12編の参考論文が添えられている。

食肉の品質を決める要因の中で軟らかさは人の嗜好性にとって最も重要である。食肉の軟らかさに直接影響を及ぼすのは、筋肉内結合組織の性状に起因する部分と筋原線維の性状に起因する部分とからなっている。筋肉内結合組織に関しては、主成分であるコラーゲン細線維を形成するコラーゲンの分子間架橋が動物の成長に伴い安定な成熟架橋へ転換するのでコラーゲン細線維は堅牢になる。この変化は筋肉内結合組織である筋内膜および筋周膜の物理的強度の増加につながり、老齢な家畜および家禽から生産される食肉が硬く品質が劣ることの一因となっている。一方、家畜の骨格筋を食肉として利用する場合には屠畜後に一定の熟成期間が必要であり、牛肉の場合は10日間以上であるが、この間に食肉は軟化し風味も改善され食味が向上するので食肉としての適性を備えるようになる。熟成に伴う筋肉内結合組織の変化については、これまでに多くの研究が行われてきたが、食肉の軟化に対する筋肉内結合組織の関与については未だ明らかにされていない。本研究は、牛肉の軟らかさに密接に関連している筋肉内結合組織の生化学的特性および構造が牛の成長に伴ってどのように変化するかを詳細に検討するとともに、牛肉の熟成中に起こる筋肉内結合組織の構造変化およびその機構を解明することを目的としている。

(1) 牛の成長に伴う筋肉内結合組織の変化

牛肉の硬さの指標として剪断力価を測定した結果、剪断力価は出生時から36ヶ月齢にかけて増加した。また、筋肉内結合組織のみからなるモデル牛肉の剪断力価は出生時から36ヶ月齢にかけて直線的に増加した。以上の結果は、牛の成長に伴い筋肉内結合組織の物理的強度が増加することを直接的に示すものであり、成長に伴う牛肉の硬さの増加に筋肉内結合組織の物理的強度の増加が関与していることを示している。

牛の成長に伴い筋肉内結合組織の物理的強度が増加する原因を解明するために、成長に伴うコラーゲンの性状変化を追究した。コラーゲンの加熱溶解性は成長に伴い顕著に減少した。また、筋肉内結合組織標品中のピリジノリン含量は胎子から9ヶ月齢にかけて徐々に増加し、その後36ヶ月齢までは急激に増加した。以上の結果は、牛の成長に伴うコラーゲン分子間の成熟架橋の増加はコラーゲンの加熱溶解性の低下に見られるコラーゲン分子間の架橋結合の強化、すなわちコラーゲン細線維の物理的強度の増加をもたらすことを示している。

牛の成長に伴う筋肉内結合組織の構造変化を細胞消化・走査電顕法を用いて追跡すると、筋内膜のコラーゲン細線維の網目構造はより緻密に、筋周膜のコラーゲン線維はより太くなり、筋周膜は厚い層構造となることが明らかになった。無定形基質の主要な構成成分であり、コラーゲン細線維と結合能を有するプロテオグリカンの骨格筋における配列が成長

に伴いどのように変化するかを透過電顕で観察した結果、基底膜におけるプロテオグリカンの配列は加齢とともに規則正しい配列をとること、成牛の半腱様筋の筋周膜ではコラーゲン細線維とより強く結合するデルマトン硫酸鎖を持つプロテオグリカンが相対的に多くなることが明らかになった。

以上の結果に基づいて、牛の成長に伴う筋肉内結合組織の堅牢化と牛肉の硬さとの関連については以下のように結論している。すなわち、牛の成長に伴いコラーゲン分子間にはピリジノリンなどの非還元性の成熟架橋が多くなり、コラーゲンの分子間架橋が強固となり、コラーゲン細線維はより安定な構造となる。また、牛の成長に伴い、筋内膜を構築しているコラーゲン細線維の網目構造は緻密化し、筋周膜を構築しているコラーゲン線維は太くなり厚い層を形成する。プロテオグリカンなどの無定形基質がコラーゲン細線維間の結合を補強し筋肉内結合組織は緻密で堅牢な構造になる。その結果、筋肉内結合組織の物理的強度が増加し、牛の成長に伴う牛肉の硬さの増加がもたらされる。

(2) 牛肉の熟成に伴う筋肉内結合組織の変化

屠畜後4℃で貯蔵した牛肉の剪断力価は熟成10日目までは顕著に低下し、その後熟成の経過とともに緩やかに低下し、熟成28日目の剪断力価は屠畜直後の値の約58%となった。また、結合組織のみからなるモデル牛肉の剪断力価は熟成7日目まではほとんど変化しないが、その後熟成の経過に伴い漸減する傾向が認められた。これらの結果は、牛肉の熟成中に筋肉内結合組織の物理的強度が低下することを直接的に示すものであり、熟成に伴う筋肉内結合組織の構造変化は熟成7日目までは小さいが、その後、徐々に進行することを示している。牛肉の熟成に伴う筋肉内結合組織の脆弱化がどのようなメカニズムで起こるのかを解明するために、筋肉内結合組織の構造および生化学的特性の変化を追究した。

半腱様筋および胸最長筋のコラーゲンの加熱溶解性は熟成中にほとんど変化せず、単離した筋内膜画分および筋周膜画分のコラーゲンの加熱溶解性も熟成に伴う変化はほとんど認められなかった。また、成熟架橋の一つであるピリジノリン含量は熟成中に全く変化しなかった。これらの結果は、コラーゲン細線維の安定化に寄与している分子間架橋は牛肉の熟成中に変化しないことを示している。

4℃で熟成した牛肉の筋肉内結合組織について走査電顕により経時的な構造変化を追跡すると、熟成7日目までは変化が認められなかったが、熟成14日目以降、筋内膜を構築していたコラーゲン細線維の緻密な網目構造は一本一本のコラーゲン細線維にほぐれ疎な構造に、筋周膜を構築していたコラーゲン線維はより細かいコラーゲン細線維の束、あるいは個々のコラーゲン細線維に解離することが明らかになった。このことは、牛肉の熟成に伴い筋肉内結合組織を構築しているコラーゲン細線維間の接着性が低下し、コラーゲン細線維がほぐれやすくなっていることを示すものである。

牛肉の熟成中にコラーゲン細線維がほぐれやすくなる原因を解明するために、筋肉内結合組織の主要な無定形基質成分であるプロテオグリカンの変化を追跡した。牛肉中のプロテオグリカン量は熟成14日目まで急激に低下し、その後熟成の経過とともに漸減した。また、SDS-PAGEによる分析では高分子量のプロテオグリカンが熟成の経過とともに減少し、熟成7日目には消失することが示された。熟成に伴う筋肉内結合組織におけるプロテオグリカンの形態学的変化を透過電顕で観察した結果、筋周膜のコラーゲン細線維に結合しているプロテオグリカンは、熟成7日目まではほとんど変化しないが、熟成14日目以降、その数が減少することが明らかになった。これらの事実は、牛肉の熟成に伴いプロテオグリカンがコラーゲン細線維から解離するか、あるいは酵素的に加水分解されて筋周膜および筋内膜におけるコラーゲン細線維間の接着性が弱まり、コラーゲン細線維で構築されている筋肉内結合組織の構造が脆弱化することを示している。

以上の結果から、筋肉内結合組織構造の脆弱化は牛肉の熟成後期にみられる軟化に寄与しており、熟成初期に起こる軟化は筋原線維構造の脆弱化によるものであると結論している。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 高 橋 興 威
副 査 教 授 近 藤 敬 治
副 査 教 授 島 崎 敬 一

学 位 論 文 題 名

牛の成長および牛肉の熟成に伴う 筋肉内結合組織の変化に関する研究

本論文は総頁数164頁の和文論文で、図 62、表 3および引用文献 115からなり、別に12編の参考論文が添えられている。

牛肉の品質を決める要因の中で軟らかさは人の嗜好性にとって最も重要であり、筋肉内結合組織の性状に起因する部分と筋原線維の性状に起因する部分とからなっている。筋肉内結合組織はコラーゲン細線維と無定形基質で形成されており、牛の加齢に伴って堅牢になるので、老齢な牛から生産される牛肉は硬く品質が劣っている。一方、牛肉を利用する場合、屠畜後に4℃で10日間以上の熟成が必要で、この間に牛肉は軟化し風味も改善され食味が向上する。熟成に伴う牛肉の軟化に対する筋肉内結合組織の関与については不明な点が多い。本研究は、牛肉の軟らかさに密接に関連している筋肉内結合組織の生化学的特性および構造が牛の成長に伴ってどのように変化するかを詳細に検討するとともに、牛肉の熟成中に起こる筋肉内結合組織の構造変化およびその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) 牛の成長に伴う筋肉内結合組織の変化

牛肉の硬さの指標である剪断力価は出生時から36ヶ月齢にかけて増加し、筋肉内結合組織のみからなるモデル牛肉の剪断力価も出生時から36ヶ月齢にかけて増加することを確認し、牛の成長に伴って筋肉内結合組織の物理的強度が増加することを直接的に示した。筋肉内結合組織を形成するコラーゲンの加熱溶解性は牛の成長に伴い顕著に減少し、ピリジノリン含量が増加することを見出し、コラーゲン分子間の成熟架橋であるピリジノリン含量の増加は分子間架橋結合の強化、すなわちコラーゲン細線維の物理的強度の増加をもたらすことを明らかにした。牛の成長に伴う筋肉内結合組織の構造変化を細胞消化・走査電顕法を用いて追跡し、筋内膜のコラーゲン細線維の網目構造はより緻密に、筋周膜のコラーゲン線維はより太くなり、筋周膜は厚い層構造となることを見出した。

また、牛の成長に伴い、筋周膜ではコラーゲン細線維と強く結合するデルマタン硫酸鎖を持つプロテオグリカンが相対的に多くなることを明らかにした。以上の結果に基づいて、牛の成長に伴う筋肉内結合組織の堅牢化と牛肉の硬さとの関連について以下のように結論している。すなわち、牛の成長に伴って、コラーゲンの分子間架橋が強固となるので、コラーゲン細線維はより安定な構造になるとともに、無定形基質を形成するプロテオグリカンがコラーゲン細線維間の結合を補強し筋肉内結合組織は緻密で堅牢な構造になる。従って、筋肉内結合組織の物理的強度が増加し、牛の成長に伴う牛肉の硬さの増加がもたらされる。

(2) 牛肉の熟成に伴う筋肉内結合組織の変化

屠畜後4℃で熟成した牛肉の剪断力価は熟成10日目までは急激に低下し、その後漸減し、熟成28日目には屠畜直後の値の約58%となること、およびモデル牛肉の剪断力価は熟成7日目まではほとんど変化せず、その後漸減することを示し、熟成に伴う筋肉内結合組織の変化は熟成7日目以降、徐々に進行することを明らかにした。単離した筋内膜および筋周膜のコラーゲンの加熱溶解性、およびピリジノリン含量は熟成中に全く変化せず、コラーゲンの分子間架橋は牛肉の熟成中に変化しないことを確認した。熟成に伴う筋肉内結合組織の構造変化を細胞消化・走査電顕法で追跡し、熟成7日目までは変化が認められないが、熟成14日目以降、筋内膜は一本一本のコラーゲン細線維にほぐれ、筋周膜を構築していたコラーゲン線維はより細かいコラーゲン線維、あるいはコラーゲン細線維に解離することを見出し、熟成中にコラーゲン細線維間の接着性が低下することを明示した。コラーゲン細線維どうしを接着するプロテオグリカンの含量は熟成7日目までは変化せず、その後時間の経過とともに漸減した。透過電顕で観察した結果、筋周膜のコラーゲン細線維に結合しているプロテオグリカンは、熟成7日目までは変化しないが、熟成14日目以降、その数が減少することを確認した。これらの事実は、牛肉の熟成に伴いプロテオグリカンの性質が変化するためにコラーゲン細線維間の接着性が弱まり、筋肉内結合組織の構造が脆弱化することを示している。従って、筋肉内結合組織構造の脆弱化は牛肉の熟成後期にみられる軟化に寄与しており、熟成初期に起こる軟化は筋原線維構造の脆弱化によるものであると結論している。

以上の研究成果は牛の成長および牛肉の熟成に伴う筋肉内結合組織の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、学術上応用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、別に行った学力確認試験の結果と合わせて、本論文の提出者 西邑隆徳は博士（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。