

黒毛和種牛肉の肉質等級と筋線維型構成との関係

矢倉彩乃^{1#}・石川澄華^{1#}・野地智法¹・麻生 久¹・柴田昌宏^{2*}・渡邊康一^{1*}

[#] Equal contribution

¹ 東北大学大学院農学研究科・動物機能科学講座・機能形態学分野, 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 468-1 〒980-8572

² 日本獣医生命科学大学・動物科学科・動物栄養学教室, 東京都武蔵野市境南町 1-7-1 〒180-8602

2020 年 2 月 9 日受付, 2020 年 2 月 18 日受理

要 約

黒毛和種牛は骨格筋に I 型筋線維が多いことが高度な脂肪交雑をもたらす要因と考えられているが, 黒毛和種牛枝肉の格付と筋線維型構成との関連性はいまだ明確ではない。本研究では黒毛和種牛肉の肉質等級と筋線維型構成の関連を検証した。等級の異なる黒毛和種去勢牛枝肉 12 頭分 (2 等級 5 頭, 3 等級 4 頭, 4 等級 3 頭: 約 28 ヶ月齢) のリブロー部分肉より胸最長筋を分離し, ホルマリン固定パラフィン切片を用いて筋線維型割合と筋線維断面面積を測定した。筋線維型割合, 筋線維断面面積ともに肉質等級間で有意差は認められず, 高い肉質等級ほど胸最長筋面積が大きくなるのは, 筋線維の肥大ではなく脂肪組織の増大によるものであることが明らかとなった。黒毛和種牛肉の肉質等級の向上に対して筋線維型構成が関与する度合いは低く, 脂肪組織の発達を促す栄養制御が重要であることが示された。

キーワード: 黒毛和種牛肉 筋線維型 肉質等級

東北畜産学会報 70 (1) : 14 ~ 18 2020

緒 言

我が国の牛肉の肉質は, 牛枝肉取引規格に基づいて A ~ C に格付される歩留等級と, 1 ~ 5 に格付けされる肉質等級の 2 つを組み合わせることによって表示される (公益社団法人日本食肉格付協会, 1988)。最も重視されるのは肉質等級の脂肪交雑程度の判定であり, 12 段階の BMS (Beef Marbling Standard) ナンバーで示される。脂肪交雑は骨格筋の筋束間結合組織に形成される脂

肪組織の発達の程度を示すものであるが, ウシの骨格筋の場合には筋束内脂肪組織が形成され, 細かな脂肪交雑となる (星野ら, 1987; Hoshino ら, 1990; 星野, 1990)。ウシの骨格筋における筋線維は, 遅筋型のみオシンを持つ I 型筋線維と, 速筋型のみオシンを持つ II 型筋線維に大別される (渡邊, 2016)。黒毛和種牛は褐毛和種牛やホルスタイン種牛のような他品種と比較して I 型筋線維が多いことが知られ (鈴木ら, 1978; 岩元ら, 1995; Iwamoto ら, 1999), このことが高度な脂肪交雑をもたらす要因とも考えられている。しかし, 黒毛和種牛枝肉の格付けと筋線維型構成との関連性を示した報告では諸説あり (岩元ら, 1991; 後藤ら, 1994; Iwamoto ら, 1999; Ozawa ら, 2000), いまだ明確ではない。そこで, 本研究では黒毛和種牛肉の肉質等級と筋線維型構成の関連を検証した。

* 連絡者: 渡邊 康一 (わたなべ こういち)
(東北大学大学院農学研究科・機能形態学分野)
〒980-8572 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 468-1
Tel: 022-757-4313
柴田 昌宏 (しばた まさひろ)
(日本獣医生命科学大学・動物栄養学教室)
〒180-8602 東京都武蔵野市境南町 1-7-1
Tel: 0422-31-4151
E-mail: shibatam@nvlu.ac.jp

材料および方法

農研機構・西日本農業研究センターにおいて生産され、食肉市場に出荷された約28ヶ月齢の黒毛和種去勢牛枝肉12頭分（2等級5頭，3等級4頭，4等級3頭）のリブローズ部分肉を用いた。冷蔵5日目から10日目の間に部分肉より胸最長筋を分離し，筋サンプルを採取した。

筋サンプルはホルマリン・カルシウム液（10%ホルマリン+1%塩化カルシウム）で固定した。固定したサンプルは，常法によってパラフィン包埋し，4 μ m厚のパラフィン切片を作製した。

連続パラフィン切片を用いて，筋線維を免疫組織化学染色によりI型筋線維とII型筋線維に分類した（Watanabeら，2016；渡邊，2016）。I型筋線維の同定には遅筋型筋小胞体カルシウムイオンポンプ（SERCA2）に対するマウス抗体（F-1: sc-376235, Santa Cruz Biotechnology）を用いた（Jorgensenら，1988）。II型筋線維の同定にはマウス抗速筋型ミオシン重鎖（MY-32, Sigma-Aldrich）を用いた。二次抗体にはペルオキシダーゼ標識ポリマー抗体（シンプルステインMAX-PRO（M），ニチレイバイオサイエンス）を用い，DAB発色系で可視化した。

組織標本をデジタルカメラ付き光学顕微鏡（BX63-DP72システム，オリンパス）によって撮像し，各筋線維型の本数から筋線維型割合を算出し，画像解析ソフトウェア（ImageJ, NIH）を用いて筋線維断面積を計測した。

表1．枝肉格付成績

肉質等級	2等級	3等級	4等級
頭数（頭）	5	4	3
月齢（か月）	28.4 $\pm$ 0.1	27.8 $\pm$ 0.6	28.0 $\pm$ 0.9
枝重（kg）	454.2 $\pm$ 48.0	476.6 $\pm$ 41.0	482.1 $\pm$ 26.6
胸最長筋面積(cm ²)	44.6 $\pm$ 4.7 b	49.8 $\pm$ 5.7 ab	62.7 $\pm$ 10.1 a
バラ厚（cm）	7.1 $\pm$ 0.6	7.8 $\pm$ 0.7	7.1 $\pm$ 0.6
皮下脂肪厚(cm)	3.9 $\pm$ 0.6	3.6 $\pm$ 0.7	3.7 $\pm$ 1.4
歩留基準値	70.8 $\pm$ 0.4	71.9 $\pm$ 0.6	73.0 $\pm$ 2.5
BMS No.	2.6 $\pm$ 0.5 b	3.5 $\pm$ 0.6 b	6.7 $\pm$ 0.6 a
脂肪交雑等級	2.6 $\pm$ 0.5 b	3.0 $\pm$ 0.0 b	4.0 $\pm$ 0.0 a
BCS No.	4.2 $\pm$ 0.4 a	3.5 $\pm$ 0.6 ab	3.0 $\pm$ 0.0 b
光沢	2.4 $\pm$ 0.5 b	3.3 $\pm$ 0.5 ab	4.3 $\pm$ 0.6 a
肉色等級	2.4 $\pm$ 0.5 b	3.3 $\pm$ 0.5 ab	4.3 $\pm$ 0.6 a
締り	2.0 $\pm$ 0.0 c	3.3 $\pm$ 0.5 b	4.3 $\pm$ 0.6 a
きめ	2.6 $\pm$ 0.5 b	3.3 $\pm$ 0.5 ab	4.3 $\pm$ 0.6 a
きめしまり等級	2.4 $\pm$ 0.9 b	3.3 $\pm$ 0.5 ab	4.3 $\pm$ 0.6 a
BFS No.	3.2 $\pm$ 0.4	4.0 $\pm$ 0.8	3.7 $\pm$ 1.2
光沢と質	4.6 $\pm$ 0.5	4.5 $\pm$ 0.6	5.0 $\pm$ 1.0
脂肪等級	4.6 $\pm$ 0.5	4.5 $\pm$ 0.6	5.0 $\pm$ 1.0

平均 $\pm$ SD, a-c: 同行異符号間に有意差 ($p < 0.05$).

統計解析はt-検定と一元配置分散分析およびTukeyの多重比較法を用いた。有意水準は5%とした。

結 果

使用した枝肉の格付成績を表1に示した。牛枝肉格付基準に相応して，肉質等級4等級の黒毛和種牛枝肉は2等級の枝肉よりも，胸最長筋面積，BMSナンバー，脂肪交雑等級，光沢，肉色等級，しまり，きめ，きめ・しまり等級が有意に高く，BCSナンバーは逆に肉質等級2等級の方が4等級よりも有意に大きな値を示した。肉質等級に大きく影響するBMSスコアと胸最長筋面積は高い相関があり ($r = 0.79$, $p < 0.05$)，肉質等級が高いほど胸最長筋面積が大きかった（図1）。

免疫組織化学染色の染色像を図2に示した。通常，I型筋線維型の分類は抗遅筋型ミオシン重鎖抗体が使われるが，ホルマリン固定・パラフィン標本では遅筋型

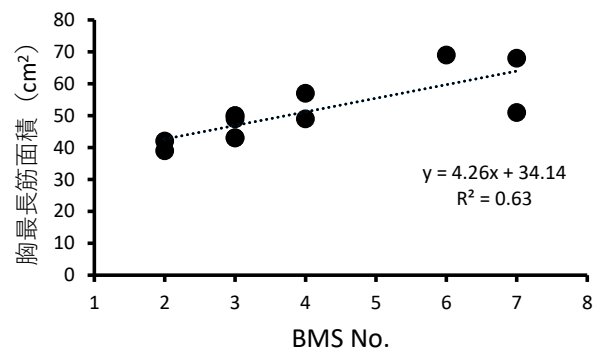


図1．枝肉のBMSスコアと胸最長筋面積の相関
BMSナンバーと胸最長筋面積には有意な相関がある
($r = 0.79$, $p < 0.05$).

ミオシン重鎖の抗原性が低下したことが予備試験で判明したため、Jorgensenら（1988）の報告に基づき、抗遅筋型ミオシン抗体と同等の反応性を示しI型筋線維のマーカーとなる抗SERCA2抗体を使用し、SERCA2陽性筋線維をI型筋線維に分類した。免疫染色による筋線維型分類の後、筋線維型の割合を算出した結果、I型筋線維は肉質2等級で24.7%、3等級で22.9%、4等級で28.9%、同様にII型筋線維では順に75.3%、77.1%、

71.1%であり、肉質等級間で有意差は見られなかった（図3）。

また、筋線維の断面積はI型筋線維よりもII型筋線維の方が有意に大きく、肉質2等級ではI型筋線維 $1,228\ \mu\text{m}^2$ とII型筋線維 $1,977\ \mu\text{m}^2$ であり、同様に3等級では $1,284\ \mu\text{m}^2$ と $2,049\ \mu\text{m}^2$ 、4等級では $1,141\ \mu\text{m}^2$ と $1,897\ \mu\text{m}^2$ となっていたが、筋線維断面積の大きさに肉質等級間での差はなかった（図4）。

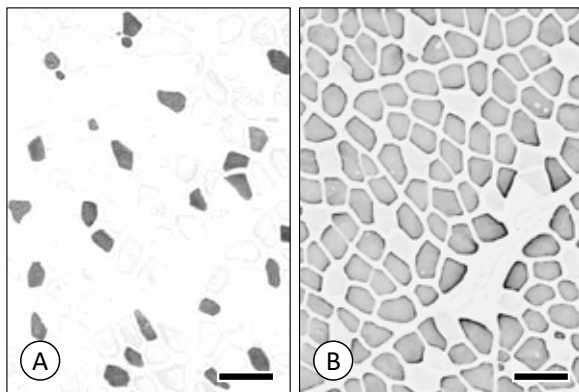


図2. 黒毛和種牛胸最長筋における筋線維型分布
A：I型筋線維が陽性．B：II型筋線維が陽性．
AとBは連続切片．Bars = 100 μm ．

考 察

黒毛和種の肉質等級の高さは脂肪交雑による効果が大いことは明らかであるが、肉質等級が高まるにつれて胸最長筋の断面積が大きくなる一方で筋線維断面積は変わらなかった。骨格筋を構成する筋線維は幼少期を過ぎるとその本数はほとんど変わらないという報告（岩永ら，2015；菊地，1967；成澤，1981；水野谷，2016）と併せて考えると、胸最長筋断面積が増大したのは筋線維が発育してその断面積を増大させたのではなく、骨格筋内における脂肪組織の発達、すなわち脂肪交雑の増大によってもたらされたことが本研究で明確となった。

食肉となる骨格筋にミトコンドリアの多い赤色筋線維であるI型筋線維が多いと、その食肉の肉質や食味嗜好性が向上することは豚肉で示されているが（Lefaucheur, 2010；渡邊，2016），黒毛和種牛肉の格付においては筋線維型構成が脂肪交雑に基づく肉質等級に及ぼす影響は見いだされなかった。黒毛和種牛は他品種の肉用牛に比べ骨格筋にI型筋線維が多いことが高い脂肪交雑に関連すると考えられていたが（鈴木ら，1978；岩元ら v 1991），黒毛和種牛の肉質等級間では脂肪交雑の多寡とI型筋線維の割合に関連性は認められなかった。後藤ら（1994）とOzawaら（2000）も黒毛和種牛の胸最長筋の筋線維型割合と肉質等級の間には明確な関係を見出してはならず、黒毛和種牛肉の格付を左右する脂肪交雑の多寡に筋線維型構成が及ぼす影響は小さいと考えるべきである。

Hoshinoら（1990）は、黒毛和種牛の骨格筋では筋内に分布する血管が太く、筋内脂肪組織を発達させるのに必要な小動脈が他品種よりも発達していることを報告している。脂肪組織は結合組織内で動脈周囲に形成されることから、肉質等級の向上につながる情報は、筋線維型の代謝様式よりも脂肪交雑を作る結合組織での脂肪組織の発達状況を解析することが有効であると考えられる。Watanabeら（2015）は、黒毛和種肥育牛の血漿成分の違いが脂肪細胞分化因子の遺伝子発現に影響し、格付成績にも反映されると報告し、肥育前期の血漿を培養ウシ

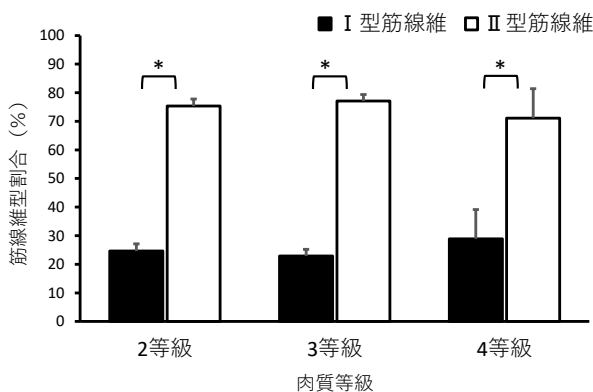


図3. 肉質等級別の筋線維型割合の比較
平均値 ± 標準偏差．*：同一等級間に有意差（ $p < 0.05$ ）。

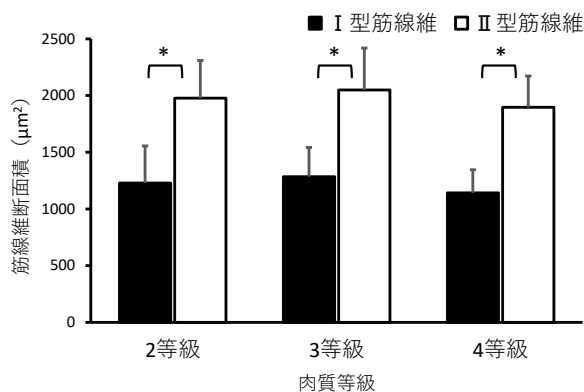


図4. 肉質等級別の筋線維断面積の比較
平均値 ± 標準偏差．*：同一等級間に有意差（ $p < 0.05$ ）。

脂肪前駆細胞に添加した時の脂肪細胞分化・脂肪蓄積能を評価することで枝肉の脂肪交雑の程度が予測可能であることを示した。本研究において肉質等級の違う黒毛和種牛肉の間で筋線維型割合と筋線維断面積に差がなかったことを併せて考えると、黒毛和種牛の脂肪交雑を向上させ肉質等級を高めるためには、肥育過程での栄養制御で骨格筋内の脂肪組織をいかに発達させるか、あるいは脂肪細胞の発達能力がどの程度であるかを解析することが重要であるといえる。

謝 辞

本研究は革新的技術開発・緊急展開事業（うち先導プロジェクト）「国際競争力強化に向けた黒毛和種短期肥育技術の開発」の支援によって実施された。また、研究の一部は株式会社 ADEKA の支援を受けた。

引用文献

- 1) 後藤 貴文, 岩元 久雄, 尾野 喜孝, 西村 正太郎, 松尾 健治, 高原 斉, 中西 良孝, 梅津 頼三郎. 黒毛和種去勢雄牛の脂肪交雑度の異なる胸最長筋における筋線維型構成の比較. 日畜会報, 65: 454-463. 1994.
- 2) Hoshino T, Suzuki A, Yamaguchi T, Ohwada S, Ota M. A comparative morphometrical analysis of the amount and distribution of fat within muscles of Japanese black cattle, Japanese shorthorn, and their crossbred (F1) steers. Tohoku J. Agric. Res., 40: 57-64. 1990.
- 3) 星野 忠彦, 新妻 澤夫, 玉手 英夫. 牛筋組織の構成単位としての筋束の構築. 日畜会報, 58: 817-826. 1987.
- 4) 星野 忠彦. 畜産のための形態学. 川島書店 pp.58-60. 1990.
- 5) Iwamoto H, Gotoh T, Nishimura S, Ono Y, Takahara H. Inter-and intra-breed variation in the fiber type composition of *M. longissimus lumborum* and *M. biceps femoris* in Japanese black, Japanese brown, Holstein and F1 (Japanese black × Holstein) steers. Anim. Sci. J. 70: 490-496. 1999.
- 6) 岩元 久雄, 後藤 貴文, 西村 正太郎, 高原 斉. 去勢雄黒毛和牛における生検筋肉材料の組織学的な特質と枝肉脂肪交雑度との相互関係. 日畜会報, 66: 807-809. 1995.
- 7) 岩元 久雄, 尾野 喜孝, 後藤 貴文, 西村 正太郎, 中西 良孝, 梅津 頼三郎, 高原 斉. 黒毛和種, 褐毛和種およびホルスタイン種の去勢雄牛間での筋線維型構成に関する比較検討. 日畜会報, 62: 674-682. 1991.
- 8) 岩永敏彦:改訂, 藤田尚男, 藤田恒夫. 標準組織学・総論・第5版. p.230. 2015.
- 9) Jorgensen AO, Arnold W, Pepper DR, Kahl SD, Mandel F, Campbell KP. A monoclonal antibody to the Ca^{2+} -ATPase of cardiac sarcoplasmic reticulum cross-reacts with slow type I but not with fast type II canine skeletal muscle fibers: an immunocytochemical and immunochemical study. Cell Motil Cytoskeleton., 9: 164-174. 1988.
- 10) 菊地邦雄. 骨格筋線維の発達に関する組織学的研究. 体力科学, 16: 38-44. 1967.
- 11) 公益社団法人日本食肉格付協会. 牛枝肉取引規格. 1988.
- 12) Lefaucheur L. A second look into fibre typing - relation to meat quality. Meat Sci., 84: 257-270. 2010.
- 13) 水野谷航. 骨格筋線維タイプの食品栄養学的制御に関する研究. 日本栄養・食糧学会誌, 69: 3-9. 2016.
- 14) 成澤三雄. 発育に伴うラット骨格筋線維数の変動. 体力科学, 30: 103-113. 1981.
- 15) Ozawa S, Mitsuhashi T, Mitsumoto M, Matsumoto S, Itoh N, Itagaki K, Kohno Y, Dohgo T. The characteristics of muscle fiber types of longissimus thoracis muscle and their influences on the quantity and quality of meat from Japanese Black steers. Meat Sci., 54: 65-70. 2000.
- 16) 鈴木 惇, 大和田 修一, 玉手 英夫. 黒毛和種とホルスタイン種の骨格筋における筋線維内脂肪滴の有無と各筋線維型の割合と太さ. 日畜会報 49: 262-269. 1978.
- 17) Watanabe H, Chen X, Shoji N, Saito R, Nakano T, Saito K, Sumiyoshi K, Rose MT, Okada N, Watanabe K, Aso H. Stimulatory effect of plasma samples from fattening cattle on adipogenesis-related gene expression in preadipocyte cells. Anim. Sci. J., 86: 698-706. 2015.
- 18) Watanabe H, Nakano T, Saito R, Akasaka D, Saito K, Ogasawara H, Minashima T, Miyazawa K, Kanaya T, Takakura I, Inoue N, Ikeda I, Chen X, Miyake M, Kitazawa H, Shirakawa H, Sato K, Tahara K, Nagasawa Y, Rose MT, Ohwada S, Watanabe K, Aso H. Serotonin improves high fat diet induced obesity in mice. PLoS One, 11: e0147143. 2016.
- 19) 渡邊 康一. 筋線維型と食肉のおいしさ ―反芻動物特異的I型筋線維の産肉論的機能形態学解析―. 東畜会報, 66: 1-6. 2016.

Percentage and cross-sectional area of myofiber types in Japanese black cattle beef with different carcass traits.

Ayano Yakura^{1#}, Sumika Ishikawa^{1#}, Tomonori Nochi¹, Hisashi Aso¹,
Masahiro Shibata^{2*}, Kouichi Watanabe^{1*}

[#]Equal contribution

¹ Laboratory of Functional Morphology, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University
468-1 Aramaki Aza Aoba, Aoba-ku, Sendai, 980-8572, Japan

² Laboratory of Animal Nutrition, Faculty of Applied Life Science, Nippon Veterinary and Life Science University
1-7-1 Kyounan-cho, Musashino, Tokyo, 180-8602, Japan

* Corresponding: Kouichi Watanabe

Laboratory of Functional Morphology, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University
468-1 Aramaki Aza Aoba, Aoba-ku, Sendai, 980-8572, Japan
+81-22-757-4313

Masahiro Shibata

Laboratory of Animal Nutrition, Faculty of Applied Life Science, Nippon Veterinary and Life Science University
1-7-1 Kyounan-cho, Musashino, Tokyo, 180-8602, Japan
+81-422-31-4151
E-mail: shibatam@nvl.ac.jp

Abstract

High marbling beef of Japanese black cattle seems to be under the influence of its myofiber type composition, especially type I myofiber. However, in Japanese black cattle, relationship between beef carcass traits with high marbling and composition of myofiber types in the longissimus thoracis muscle is still unclear. The aim of this study is to investigate percentages and cross-sectional area of myofiber types in different beef quality grades of Japanese black cattle. Twelve Japanese black cattle carcasses were used (Quality grade #2, #3, and #4). The longissimus thoracis muscles were removed from carcasses, and muscle samples were performed paraffin sectioning following formalin fixation. Myofiber types were classified into type I and type II myofiber immunohistochemically. No difference existed in percentage of myofiber types and cross-sectional area among beef quality grades of beef carcasses. On the other hand, muscular cross-sectional area of the longissimus thoracis muscle increased progressively according to increased beef quality grade. In fattening Japanese black cattle, our results suggest that higher marbling beef production seems to be closely related to development of intramuscular adipose tissue, instead of proportion of myofiber types or myofiber growth

Key words: Japanese black cattle beef, myofiber types, carcass traits