

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 30 日現在

機関番号：47124

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26850083

研究課題名(和文) 放し飼いの食肉はなぜ美味しい? - メタボロミクスから分かる運動と呈味性との相関

研究課題名(英文) Relationships between exercise for livestock and their meat palatability

研究代表者

澤野 祥子 (Sawano, Shoko)

福岡女子短期大学・その他部局等・講師

研究者番号：60403979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：牛・豚・鶏などの食肉は、舎飼いのものと比較して、放し飼いで育てられたものの方が「美味しい」と評価されることが多い。食用に供する食肉は主に骨格筋である。近年、運動などの環境要因によって筋線維タイプが後天的にも変化しうることが明らかになっている。運動により骨格筋の筋線維タイプはどの程度変化するのか、また、この変化は食肉の特性にどの程度影響を与えるのか。この問いに答えるため、筋線維タイプを詳細に分類する手法の確立し、筋タイプ別のメタボローム解析を行い、呈味性成分をはじめとする代謝物質と筋タイプとの相関を得た。

研究成果の概要(英文)：Recent studies found that the types of skeletal muscles should be altered by exercise or their feed. Meat can be more delicious if the livestock gets adequate exercise. Thus, there must be some relationships between exercise and meat palatability. For the first step to confirm the hypothesis, I developed one-step multiple immunofluorescence imaging for mammal muscle sections to detect which muscle types is distributed in certain muscle region. Moreover, I obtained 116 targeted metabolites data from fast- and slow-type muscles, which showed that each muscle type contains different types of metabolites including taste substances.

研究分野：栄養生理学

キーワード：骨格筋 運動 食肉 呈味性 メタボローム

1. 研究開始当初の背景

牛・豚・鶏などの食肉は、舎飼いのものと比較して、放し飼いで育てられたものの方が「美味しい」と評価されることが多い。産地によるブランド（品種の違い）も美味しさの一因となるが、それと同時に、飼育環境も食肉の味を左右する重要なファクターである。食用に供する食肉は主に骨格筋である。骨格筋は4種類のタイプに分かれ、MyHC1（遅筋）型はMyHC2B（速筋）型に比べ、タウリン・カルニチン・鉄分を多く含むことが報告されている。また、食感においても、遅筋型はキメが細かく軟らかく、ジューシーであるといわれている。

近年、運動や食餌など環境要因によって筋線維タイプが後天的にも変化しうることが明らかになっている。例えば、マウスに持久運動を負荷することで遅筋タイプ線維が増加するとの報告がある。従って、家畜・家禽に対し、適度な運動を負荷することで、筋線維タイプを遅筋タイプに変化させ、より好ましい食肉の創成を実現することが可能だと期待される。

運動により骨格筋の筋線維タイプはどの程度変化するのか、また、この変化は食肉の特性にどの程度影響を与えるのか。この問いに答えるためには、筋タイプを詳細に分類する手法の確立、および、筋線維タイプ別の呈味性分析が不可欠である。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、4種類の筋線維タイプを迅速かつ簡便に分類する手法の開発及び筋線維タイプの呈味性の差異の有無を検討する事を目的とした。

3. 研究の方法

4種類の筋線維タイプの分類法の開発

筋の横断切片に対する筋線維タイプの古典的な識別法としては、ミオシン ATPase の pH 耐性を利用した ATPase 染色が使用されてきたが、染色テクニックに習得を要すること、色の濃さの判断が微妙であるなどの問題があった。免疫染色も広く試みられているが、MyHC アイソフォーム（MyHC1、2A、2X、2B）のうち、抗 MyHC2X、2B 抗体については不安定な IgM 抗体しか市販されておらず、さらに免疫動物種は4種類全てマウスであるため、1切片上でアイソフォームの分布を識別するのが困難であった。

この問題に対し、各々の MyHC アイソフォームを特異的に識別する rat monoclonal 抗体（IgG）を独自に作出することを試みた。MyHC1、2A、2X、2B 各抗体に異なる波長域を有する蛍光物質をそれぞれ標識させた。すなわち、Alexa Fluor 647 conjugated -MyHC1、Alexa Fluor 350 conjugated -MyHC2A、Fluorescein conjugated -MyHC2X、HiLyte Fluor 594 conjugated -MyHC2B を作製した。これらの蛍光標識1次抗体を用いて、2次抗

体の交差反応を考慮することなく、MyHC アイソフォームを同時に多重染色し、同一切片上で視覚的に各筋線維タイプを識別した。

各筋線維タイプの呈味性分析

4種類の筋線維タイプと呈味性の相関を得る前段階として、遅筋モデルとして soleus、速筋モデルとして EDL (extensor digitorum longus) を用い、遅筋と速筋との代謝物分布の差異を検討した。代謝物の解析には、ヒューマンメタボロームテクノロジー社の C-SCOPE (特定の116代謝物の定量分析) を利用した。

4. 研究成果

4種類の筋線維タイプの分類法の開発

4種類それぞれの MyHC アイソフォームを特異的に識別する rat monoclonal 抗体 (IgG) の作出及び、異なる波長域を持つ蛍光物質の標識に成功した。これらの蛍光標識1次抗体を用いてマウス、ラット、ブタ、サルの筋横断切片において免疫染色を行い各筋線維タイプの視覚的識別が可能となった (図1: MyHC1 (白)、MyHC2A (青)、MyHC2X (緑)、MyHC2B (赤))。横断切片の結果より、gastrocnemius ではほとんど MyHC2B が、soleus では MyHC1、MyHC2A が分布していることが確認でき、組織ごとの筋線維タイプ分布も容易に解析可能となった。

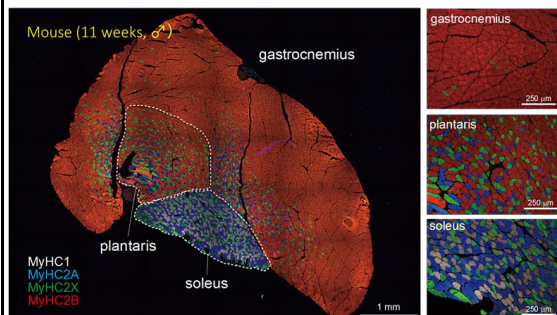


図1 マウス筋横断切片の4重染色

各筋線維タイプの呈味性分析

116種類の代謝物質を解析した結果、18種類の代謝物が EDL (速筋タイプ) で有意に多く存在していた (乳酸やピルビン酸など解糖系に関わる代謝物が速筋に多く存在していた)。一方で、37種類の代謝物が soleus (遅筋タイプ) で有意に多く存在していた (クエン酸やアセチル CoA など TCA 回路に関連する代謝物が遅筋に多く存在していた)。これらの事より、効率的に生体の働きに貢献するため、異なるタイプの代謝物が、適切な組織に多く分布していることが示唆された。

呈味性代謝物に関しては、旨味成分であるグルタミン酸が遅筋タイプに有意に多く認められ、「遅筋タイプで旨味が強く感じられる」という一般的な見解と一致する結果が得られた。しかしながら、IMP など核酸については顕著な差異が認められず、条件を再検討

するなどして、呈味成分と遅筋・速筋との相関を精査する必要がある。さらに、その結果を遅筋・速筋ではなく、4種類の筋線維タイプと呈味成分との相関に繋げていくことで、より詳細に運動と呈味性の関係の解明に貢献できると期待される。本研究で得られた結果は、その一助となるものであると考えられる。

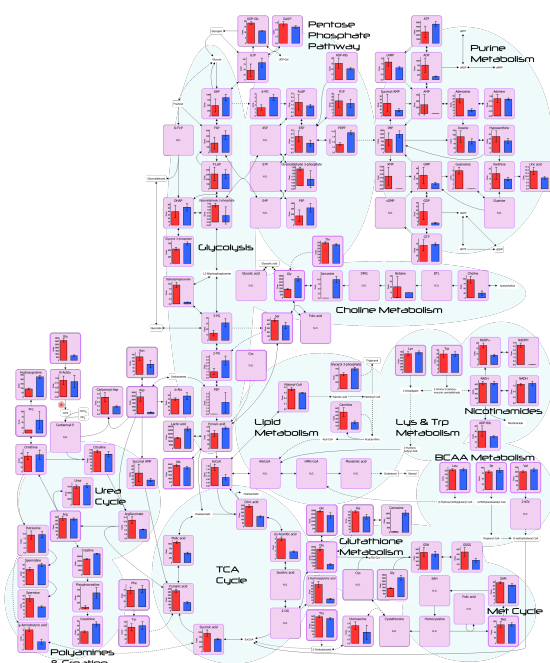


図2 遅筋と速筋の代謝物分布の差異
(soleus (遅筋): 赤色, EDL (速筋): 青色)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Mai-Khoi Q. Do, Naomi Shimizu, Takahiro Suzuki, Hideaki Ohtsubo, Wataru Mizunoya, Mako Nakamura, Shoko Sawano, Mitsuhiro Furuse, Yoshihide Ikeuchi, Judy E. Anderson, Ryuichi Tatsumi, Transmembrane proteoglycans syndecan-2, 4, receptor candidates for the impact of HGF and FGF2 on semaphorin 3A expression in early-differentiated myoblasts, *Physiological Reports*, Vol.3, No.9, e12553, 査読有, 2015.09.
DOI: 10.14814/phy2.12553

Shoko Sawano, Takahiro Suzuki, Mai-Khoi Q. Do, Hideaki Ohtsubo, Wataru Mizunoya, Yoshihide Ikeuchi, Ryuichi Tatsumi, Supplementary immunocytochemistry of hepatocyte

growth factor production in activated macrophages early in muscle regeneration, *Animal Science Journal*, Vol.85, No.12, pp.994-1000, 査読有, 2014.12.

DOI: 10.1111/asj.12264

Shohei Sakaguchi, Jun-ichi Shono, Takahiro Suzuki, Shoko Sawano, Judy E. Anderson, Mai-Khoi Q. Do, Hideaki Ohtsubo, Wataru Mizunoya, Mako Nakamura, Mitsuhiro Furuse, Yoshihide Ikeuchi, Ryuichi Tatsumi, Anti-inflammatory macrophages implicate in regenerative moto-neuritogenesis, by promoting myoblast migration and Sema3A expression, *Animal Science Congress 2014 of the Asian-Australian Association of Animal Production Societies (AAAP) Grha Sabha Pramana, Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta, Indonesia (November 10-14, 2014)*, 査読有, 2014.11.

〔学会発表〕(計 7 件)

Shoko Sawano, Mako Nakamura, Ryuichi Tatsumi, Yoshihide Ikeuchi, Wataru Mizunoya, Metabolite profiles of slow- and fast-twitch muscles in mice, BMB2015(第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会合同大会), 2015/12/1 4, 神戸ポートアイランド(兵庫県・神戸市)

Shoko Sawano, Yuri Tajima, Johan Rung, Mako Nakamura, Ryuichi Tatsumi, Yoshihide Ikeuchi, Wataru Mizunoya, Transcriptomic and metabolomic analyses depicted distinct characteristics between slow-twitch and fast-twitch muscles in mice, ACN2015(12th Asian Congress of Nutrition), 2015.05.17, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

澤野祥子、小宮佑介、中村真子、辰巳隆一、池内義秀、水野谷航
1 切片上で筋線維タイプを同時に識別する“ステンドグラス染色法”の開発、第 37 回日本分子生物学会年会、2014/11/25 27, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

鈴木貴弘、大屋雄暉、澤野祥子、大坪秀明、水野谷航、中村真子、池内義秀、辰巳隆一
筋幹細胞由来の分泌性因子 Sema3A による筋線維型自律制御機構」第 37 回日本分子生物学会年会 2014/11/25 27, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

Shohei Sakaguchi, Junichi Shono*, Takahiro Suzuki*, Shoko Sawano*, Judy E. Anderson, Mai-Khoi Q. Do, Hideaki Ohtsubo, Wataru Mizunoya, Mako Nakamura, Mitsuhiro Furuse, Yoshihide Ikeuchi, Ryuichi Tatsumi, (*equal contributors)
Anti-inflammatory macrophages implicate in regenerative moto-neuritogenesis, by promoting myoblast migration and Sema3A expression., Animal Science Congress 2014 of the Asian-Australian Association of Animal Production Societies (AAP), 2014.11.10-14.Universitas Gadjah Mada (UGM), Indonesia

Ryuichi Tatsumi, Shohei Sakaguchi*, Junichi Shono*, Takahiro Suzuki*, Shoko Sawano*, Judy E. Anderson, Mai-Khoi Q. Do, Hideaki Ohtsubo, Wataru Mizunoya, Mako Nakamura, Mitsuhiro Furuse, Yoshihide Ikeuchi,
(*equal contributors)

M2 macrophages may implicate in regenerative moto-neuritogenesis, by promoting myoblast migration and Sema3A expression., 2014 FASEB Science Research Conference on “ Skeletal Muscle Satellite and Stem Cells ”, 2014.7.20-25, Steamboat Springs, CO, USA

Takahiro Suzuki, Yuki Ohya, Koichi Ojima, Wataru Mizunoya, Shoko Sawano, Hideaki Ohtsubo, Shinichiro Nishimatsu, Judy E. Anderson, Mai-Khoi Q. Do, Mako Nakamura, Mitsuhiro Furuse, Yoshihide Ikeuchi, Tsutomu Nohno, Ryuichi Tatsumi, Sema3A secreted from satellite cells promotes slow-twitch fiber generation., 2014 FASEB Science Research Conference on “ Skeletal Muscle Satellite and Stem Cells ”, 2014.7.20-25, Steamboat Springs, CO, USA

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.fukuoka-wjc.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

澤野祥子 (SAWANO, Shoko)

福岡女子短期大学・食物栄養科・講師

研究者番号：60403979