豚異常肉の形態学的所見と筋原線維の諸性状

前田博之^{*1)} 森 千恵子^{*1)} 山田英清^{*1)} 湯浅 亮^{*2)} 鮫島邦彦^{*2)}

(昭和 60 年 5 月 24 日受理)

Morphological Observations and Biochemical Properties of Abnormal Porcine Muscle in Usual or Experimental Slaughter
 HIROYUKI MAEDA (Asahikawa Meat Inspection Center, Prefecture of Hokkaido, Asahikawa, Hokkaido 071-13) et al.

SUMMARY

In pale soft exudative (PSE) musculature, muscle cells shrank and the endomysium was broken down 90 minutes after slaughter. In dark firm dry (DFD) musculature, no shrinking of muscle cells was observed even 24 hours after slaughter.

Sarcomeres of the myofibrils prepared from normal, PSE and DFD porcine muscles were in relaxation, in contraction, and in contracting tendency, respectively. On the plate of SDS-gel electrophoresis, two unexplained bands were found in PSE muscle and Experimental group I. The denaturation of myosin was considered to have occurred in these muscles by a rise in temperature of the carcass.

要 約

正常肉では屠殺後 90 分まで筋線維に著変がみられず、屠殺後 24 時間で筋線維は萎縮し筋線維間に空隙の形成と筋内膜の網目構造が認められた。

PSE 肉では、屠殺後 90 分ですでに著しい筋線維の萎縮と筋内膜の剝離・断裂像（網目構造の崩壊）が認められた。DFD 肉では、屠殺後 24 時間でも筋線維の配列にほとんど変化がみられなかった。筋原線維において、正常肉のサルコメアは弛緩状態であった。PSE 肉では収縮像が増大していたが、DFD 肉では収縮傾向であった。筋原線維の蛋白質組成を示す SDS ゲル電気泳動像において、正常肉ではみられない 2 本のバンドが、PSE 肉では屠殺後 10 分で現れ、90 分で明瞭に認められた。これらのバンドは DFD 肉となった硬直 A 亜群では認められなかったが、実験 I 群で観察された。アクチンとミオシンの結合能（収縮能力）を示す Mg-ATPase および肉製品の結着性を示す加熱ゲル強度は、PSE 肉でそれぞれ低下していた。いっぽう、DFD 肉となった硬直 A 亜群ではそれらの低下は認められなかったが、実験 I 群では低下していた。PSE 肉および実験 I 群におけるこれらのミオシンの変性現象は、長時間の筋肉運動による肉温の上昇のためと思われる。

前報^{10,11)}において、通常あるいは実験屠殺により正常肉と“生理的異常肉”^{19,20)}を得た。そして、死後硬直がきわめて早期に発現する屠豚の中に PSE（硬直 C 亜群と実験 II 群）と DFD（硬直 A 亜群と実験 I 群）が存在することを明らかにした。

異常肉の組織像に関して、PSE 肉については筋線維の萎縮と筋線維間の空隙形成あるいは水腫、さらに筋線維の変性・膨化および細胞反応を認めたものや筋内膜に

異常を認めたもの、脊髄または後脳神経に異常を認めた報告もある^{6,7,13,17,18)}。いっぽう、DFD 肉については外国に若干の記載⁷⁾があるが、わが国では未報告である。筋原線維については、PSE 肉でミオシンが変性しているといわれている^{1,3,8,15)}。

そこで本報では、通常ならびに各種実験的屠殺材料から得られた PSE 肉と DFD 肉について、組織像ではその横断面を、筋原線維では縦断面の経時変化を調べた。また、蛋白質組成（SDS ゲル電気泳動像）・生物機能（Mg-ATPase 活性）・肉質（加熱ゲル強度）について、その特徴的傾向を調べた。

*1) 北海道旭川保健所旭川食肉検査事務所（北海道旭川市東鷹栖6-12）

*2) 酪農学園大学酪農学部（北海道江別市西野幌582）

1. 供試材料および方法

1) 供試材料

前報^{10,11)}と同じものを用いた。すなわち、供試材料は通常屠殺材料と実験的屠殺材料とに大別され、前者の中には通常屠体の他に早期温体硬直屠体〔A (屠殺後 90 分で pH 6.0 以上)・B (pH 6.0~5.6)・C (pH 5.6 以下)] 各亜群が含まれ、後者の中には打額屠体群と実験屠体 I および II 群が含まれている。

2) 検査材料

内臓摘出直後 (屠殺後 10 分前後) ならびに屠殺後 90 分、さらに組織像の検索には屠殺後 24 時間の第 5~6 肋間部胸最長筋を採取した¹¹⁾。

3) 検査項目と方法

(1) 組織像の検索：筋肉を肉眼的に観察した後、10% 中性緩衝ホルマリンで固定し、常法により HE 染色および筋内膜は鍍銀染色²²⁾を施し鏡検した。

(2) 筋原線維の調整：筋肉ホモジネートにイミダゾール緩衝液 (pH 7.0) を加えて行った²¹⁾。

形態：位相差顕微鏡により観察した。サルコメアの長さは写真上においてノギスを用いて測定した。収縮・弛緩の程度は杉ら¹⁶⁾の記載を参考にし、サルコメアの A 帯の長さを 60% に定めたときの Z 線間の長さを百分比で表現した。

生化学的諸性状：SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動像，加熱ゲル強度，Mg-ATPase 活性について調べた²¹⁾。

2. 結 果

1) 筋肉の肉眼所見とその経時変化

供試材料各群の第 5~6 肋間部胸最長筋の肉眼所見の経時変化については、内臓摘出直後の筋肉では、実験屠体 II 群と早期温体硬直 C 亜群の一部に軽度の退色を認めたものの、供試材料全群の肉色は淡赤色 (畜試式豚標準肉色 2~4) で肉特有の弾力性と透徹感が認められた。屠殺後 90 分では、正常肉であった打額屠体と通常屠体ならびに DFD 肉であった硬直 A 亜群と実験 I 群の各群には変化が認められなかった。ところが、実験 II 群の全例と硬直 C 亜群 8 例中 5 例において淡赤白色 (標準肉色 1~2) で水っぽく、柔らかく弾力性と透徹感を失った PSE 肉が発現した。いっぽう、屠殺後 24 時間では硬直 A 亜群で肉色は暗赤色 (標準肉色 6 以上) に変色し、弾力性を増し硬い感じの DFD 肉が発現していた。

2) 筋肉の組織所見とその経時変化

(1) 正常肉 (打額屠体群と通常屠体群)：内臓摘出直後ならびに屠殺後 90 分では、筋線維は密に配列していた。ところが、屠殺後 24 時間では筋線維が萎縮し筋線維間に空隙の形成が認められ、筋内膜は蜂巢状の規則正しい

網目構造を保持していた (写真 1)。

(2) PSE 肉 (実験屠体 II 群と早期温体硬直 C 亜群)：内臓摘出直後では、筋束中央部の筋線維に萎縮が生じているものが数例みられた。屠殺後 90 分では、全例で筋線維が萎縮し筋線維間に空隙の形成が認められた。筋内膜は筋線維の萎縮に伴い筋線維に付着していたり、あるいは断裂している像が認められた (写真 2)。

(3) DFD 肉 (実験屠体 I 群と早期温体硬直 A 亜群)：屠殺後 90 分および 24 時間でも、筋線維に萎縮が認められなかった (写真 3)。

写真 1 正常肉 (屠殺後24時間) (鍍銀染色)

写真 2 PSE 肉 (屠殺後90分) (鍍銀染色)

写真 3 DFD 肉 (屠殺後24時間) (HE 染色)

(4) 筋線維の変性・壊死と細胞反応：供試材料全群に筋線維の変性と細胞反応が観察された。まれに変性と細胞反応が多発している例もみられたが、その属する群は特定していなかった。

3) 筋原線維

(1) サルコメアの形態：正常肉では A・I・H 帯ならびに Z 線が明瞭に観察され弛緩していた(写真4)。いっぽう、PSE肉ではサルコメアの中央に濃いバンドが生じた収縮像が観察された(写真5)。DFD肉では収縮傾向を示す像が多く観察された。屠殺後 90 分の試料における収縮・弛緩の程度を表1に示した。正常肉であった打額屠体群の値(101.1%)を基準とすると、PSE肉であった実験Ⅱ群および硬直C亜群はそれぞれ 77.8% および 66.9% と収縮していた。DFD肉であった硬直A亜群と実験Ⅰ群は、それぞれ 80.1% と 79.7% で収縮していた。通常屠体群は 105.1% で弛緩していた。

(2) SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動像：供試材料各群の SDS-ゲル電気泳動像において、PSE肉では正常肉にみられない2本の異常なバンドが出現した。この異常成分は、屠殺後 10 分ですでに現れ、屠殺後 90 分では明瞭に認められた。いっぽう、DFD肉の硬直A亜群ではこのバンドは認められなかったが、実験Ⅰ群では不明瞭ながら出現していた(写真6)。

(3) ATPase 活性値：屠殺後 90 分の ATPase 活性値は表1に示したごとく、打額群 ($0.164 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg protein}$) を基準とすると、PSE肉であった実験Ⅱ群および硬直C亜群はそれぞれ 0.139 および 0.052 とかなり低下していた。DFD肉であった硬直A亜群 (0.253) は活性値に低下はみられなかった。しかし、実験Ⅰ群は 0.043 と著しく低下していた。

(4) 加熱ゲル強度：屠殺後 90 分の加熱ゲル強度の測定結果を表1に示した。打額群 ($885 \text{ dyne}/\text{cm}^2$) を基準と

写真4 正常肉のサルコメアの形態

写真5 PSE肉のサルコメアの形態

すると、PSE肉であった実験Ⅱ群および硬直C亜群はそれぞれ 613 および 359 と非常に低下していた。DFD肉であった硬直A亜群は 1,040 で低下はみられなかった。しかし、実験Ⅰ群 (610) は低下していた。

表1 通常ならびに各種実験屠殺豚における筋原線維の諸性状

供試豚各群	肉質	サルコメアの収縮・弛緩の程度 (%)		Mg-ATPase (μmol/min/mg protein)		加熱ゲル強度 (dyne/cm ²)	
		内臓摘出直後	屠殺後 90 分	内臓摘出直後	屠殺後 90 分	内臓摘出直後	屠殺後90分
＜通常屠殺材料＞							
通常屠体群	正常肉	101.3±15.2	105.1±7.4	0.220±0.053*	0.193±0.022	835±49	945±64
早期温体硬直屠体							
A亜群	DFD肉	89.4±3.6*	80.1±0.4**	0.206±0.058*	0.235±0.037*	834±26	1,040±299
B亜群		83.0±12.5	76.6±1.8**	0.289±0.089**	0.254±0.065*	886±325	804±371
C亜群	PSE肉	73.8±6.3*	66.9±2.7**	0.211±0.088	0.052±0.029**	430±183*	359±201*
＜実験的屠殺材料＞							
打額屠体群	正常肉	102.9±10.9	101.1±5.3	0.116±0.011	0.164±0.027	877±157	885±21
実験屠体Ⅰ群	DFD-傾向肉	79.8±5.2*	79.7±3.5**	0.047±0.012**	0.043±0.006**	585±21	610±14**
実験屠体Ⅱ群	PSE肉	74.4±11.3*	77.8±6.7**	0.172±0.045**	0.139±0.025	400±200*	613±477

注) 平均値±標準偏差 打額屠体群を基準とした場合の有意差 (*: $p<0.05$ **: $p<0.01$)

写真6 通常ならびに各種実験屠殺豚における筋原線維のSDSゲル電気泳動像

3. 考 察

正常肉とPSE肉・DFD肉の死後変化に関する組織所見の特徴を図1に示した。一般に、屠殺後の枝肉のpH値は解糖作用により最終pH値である5.5付近まで下降する^{2,9,23)}。このpH値の低下は、筋肉蛋白質の等電点への接近をもたらし水和性を低下させて、筋肉蛋白質を

凝集させる^{4,14)}。正常肉においてはpH値は緩やかに下降し¹⁰⁾、筋線維は徐々に萎縮して浸出し、肉漿は肉温の低下によりゲル化しつつ健全な筋内膜(写真1)と筋細胞膜との間に貯留保持されと考えられる(図1)。PSE肉は、急激なpH値の低下と高い肉温のため、筋肉蛋白質の変性と急激な筋線維の萎縮が起り、筋内膜は損傷し肉漿が分離流失してPSE性状を呈するものと思われ

肉質 \ 屠殺後時間	屠殺後10分以内	屠殺後90分	屠殺後24時間
PSE肉			
色調	淡赤色	淡灰白色	淡灰白色
pH値	6.0 ~ 5.5	5.6以下	5.6以下
正常肉			
色調	淡赤色	淡赤色	淡赤色
pH値	6.0以上	6.0~5.6	6.0以下
DFD肉			
色調	淡赤色	淡赤色	暗赤色
pH値	6.0以上	6.0以上	6.0以上

図1 正常肉・PSE肉およびDFD肉における筋肉組織の死後変化の特徴

る(図1). いっぽう, DFD 肉は高い pH 値により筋線維の萎縮が起こらず, 肉漿が筋線維内に保持されるために DFD 性状を呈するものと思われる(図1).

筋原線維の形態所見において, 正常肉のサルコメアは弛緩していた(写真4と表1). いっぽう, PSE 肉では屠殺後10分および90分ですでに収縮していた(写真5と表1). このことは, PSE 肉の筋線維横断面の萎縮像に加えて, 縦の変化である筋原線維の収縮が認められたことになり, PSE 肉ではあたかも手ぬぐいをしぼって, かつ縮めたような変化が屠殺後すぐに生じることを示している. このような PSE 肉の筋原線維の変化には, pH 値の急激な低下^{1,9,10}や ATP の枯渇¹¹が関連しているものと思われる. DFD 肉のサルコメアは, 屠殺後90分で収縮傾向のものが多かった(表1). DFD 肉に認められた早い死後硬直は, サルコメアの収縮の程度(約80%)がちょうど筋肉の最大張力を発生させること^{5,9,12}も関係していると思われる. このように, われわれがみている早期温体硬直現象は, ATP 量の減少¹¹に加えて, さらに筋原線維の収縮の面からも理解された.

PSE 肉で認められた ATP ase 活性や加熱ゲル強度の低下(表1)は, アクチンとミオシンの結合能(収縮能力)や食肉加工上重要な結着性が非常に低下していることを示唆し, 明らかにミオシン変性が生じているものと考えられる. また, 筋肉蛋白質の組成を示す SDS ゲル電気泳動像で異常な2本のバンドも確認した(写真6).

DFD 肉であった硬直 A 亜群における筋原線維の諸性状は, 正常肉と同様であった. いっぽう, これまでの硬直 A 亜群との間に類似性が認められてきた実験 I 群は, 筋原線維の生化学的諸性状において PSE 肉となった群と一致していた. 実験 I 群のこれまでのデータをくわしく検討した結果, 実験 I 群の枝肉の温度は PSE 肉と同様に上昇していた¹⁰. このことから, ミオシンの変性の大きな要因は肉温の上昇にあるものと思われる.

今回の一連の研究の総括として, PSE 肉・DFD 肉発生のメカニズムを推察し図2に示した. 現今の屠殺システムにおいて, ストレスに対する感受性の強い屠豚は, 輸送・けい留・強制追込みにより高度の興奮と狂騒状態に陥る. 筋肉は収縮して ATP は分解され, 屠殺後の筋肉細胞は非常に早く ATP を使い果たして, 早期温体硬直が発現する. また, ストレスによってアドレナリン分泌が亢進し, cAMP-ホスホリラーゼ系が促進して, 筋肉の解糖作用が亢進する. このような状況の下で生前グリコーゲンをある程度貯蔵していた筋肉では, 乳酸が急激かつ多量に生成して肉の pH を低下させ, このためミオグロビンの変性(Pale)や筋線維の急激な萎縮と筋内膜の断裂による肉漿の分離(Soft-Exudative), さらにミオシンの変性(Soft)が起こり, 白っぽく・やわらかく・水っぽい PSE 肉が生じるものと考えられる. いっぽう, 屠殺前の長時間の絶食や筋運動によって消耗疲労状態に陥った筋肉では, グリコーゲンの枯渇により乳酸生成が

図2 PSE肉・DFD肉発生のメカニズム（推定）

ほとんどなく、枝肉における自然な pH の低下（最終 pH 値 5.5 前後まで下降）が生じない。このため、細胞内諸酵素活性が保持されて、オキシミオグロビンの酸素はチトクローム系酵素によって消費されてしまい、紫紅色 (Dark) となる。また、pH が高いため筋繊維の萎縮が起こらず (Firm)、保水性のよい (Dry)、黒っぽく・硬く・乾いた感じの DFD 肉が生じるものと考えられる。

本研究にあたり、供試豚提供者の大阪 武氏、実験屠殺協力者の上川畜産公社の各位、ご指導を賜った酪農学園大学家畜解剖学教室の阿部光雄教授に感謝する。

文 献

- 1) BENDALL, J. R. and WISMER-PEDERSEN, J.: *J. Food Sci.*, 27, 144~159 (1962).
- 2) BRISKEY, E. J.: *Adv. in Food Res.*, 13, 89~170 (1964).
- 3) 藤巻正生, 荒川信彦, 鈴木敦士: 日畜会報, 36, 474~477 (1965).
- 4) 藤野安彦: 家畜生化学, 星 冬四郎校閲, 改訂版, 70~94, 産業図書, 東京 (1981).
- 5) GORDON, A. M., HUXLEY, A. F. and JULIAN, F. J.: *J. Physiol.*, 184, 170~192 (1966).
- 6) 星野忠彦, 新妻沢夫, 勝倉義璋, ほか: 酪農科学の研究, 22, A235~A241 (1973).
- 7) KLOSOWSKA, D., KLOSOWSKI, B., KORTZ, J., et al.: *Kongress-Dokumentation I, Wissenschaftliche Berlage Proceedings 27-Europäischer Fleischforscher-Kongress in Wien, Austria*, 54~57, Wien (1980).
- 8) IZUMI, K., ITO, T. and FUKAZAWA, T.: *J. Food Sci.*, 42, 113~116 (1977).

- 9) LAWRIE, R. A.: *Meat Science*, 3rd ed., 75~131, Pergamon Press, London (1979).
- 10) 前田博之, 森 千恵子, 湯浅 亮, ほか: 日獣会誌, 38, 581~586 (1985).
- 11) 前田博之, 森 千恵子, 山田英清, ほか: 日獣会誌, 38, 649~655 (1985).
- 12) 丸山工作: 筋肉のなぞ, 13~37, 岩波書店, 東京 (1980).
- 13) 西尾重光: 畜産の研究, 31, 1409~1414 (1977).
- 14) 西尾重光, 渡辺昭三: 豚病学, 熊谷哲夫, 波岡茂郎, 丹羽太左衛門ら編, 第2版, 1080~1100, 近代出版, 東京 (1982).
- 15) SEOPES, R. K.: *Biochem. J.*, 91, 201~207 (1964).
- 16) 杉 晴夫: 筋肉の構造と機能, 酒井敏夫, 遠藤実, 杉田秀夫編, 第1版, 249~275, 医学書院, 東京 (1977).
- 17) 高橋俊之, 大藤 進, 黒川美千子, ほか: 北獣会誌, 23, 237~243 (1979).
- 18) 谷山弘之, 古岡秀文, 政金弘子, ほか: 第95回日本獣医学会講演要旨集, 61 (1983).
- 19) 安井 勉, 石下真人, 鮫島邦彦: 化学と生物, 19, 337~344 (1981).
- 20) 湯浅 亮: 肉質に関する最近の諸問題—ムレ肉問題への生化学的アプローチ, 1~16, 北海道獣医師会, 札幌 (1980).
- 21) 湯浅 亮, 田村 孝, 前田博之, ほか: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 43, 741~748 (1981).
- 22) 渡辺恒彦: 月刊 *Medical Technology*, 31~33, 医歯薬出版, 東京 (1980).
- 23) WISMER-PEDERSEN, J.: *J. Food Sci.*, 24, 711~727 (1959).

《海外文献要録》

犬パルボウイルス性腸炎の病理発生: ウイルス血症の重要性

Pathogenesis of Canine Parvovirus enteritis: The Importance of Viremia

P. C. MUNIER, B. J. COOPER, M. J. G. APPEL, et al.: *Vet. Pathol.*, 22, 60~71 (1985).

経口および静脈内に犬パルボウイルスを投与した9週齢の血清陰性のビーグル犬22頭における臨床症状、血液学的変化、血清と糞便中のウイルス力価、特異的抗体の産生および組織病理学的変化を検索した。投与方法とは無関係に約30%の犬が、発熱、沈うつ、嘔吐、下痢等の臨床症状を示した。諸症状は、静脈内投与群の方が経口投与群よりおよそ2日早く先行した。死亡例は1頭のみであった。最もはっきりした血液学的変化は、リンパ球減少症であった。ウイルス血症は、ウイルスの糞便

中への排泄に先行した。血清および糞便中のウイルス力価は、非発症犬と比して発症犬の方がはるかに高かった。ウイルス血症の消失時期は、体液性免疫反応の発現開始時と一致していた。しかし、ウイルス血症は発症犬において1日長く持続していた。リンパ組織と腸管への感染の強さは、蛍光抗体法と組織学的に検索され、やはり発症犬の方が激しかった。腸管病変の激しさは、ウイルス血症の強さと持続期間に高い相関関係を示していた。(日本獣医師会雑誌編集委員会)