

霜降り肉の形成機構解明に向けた細胞組織学的アプローチ

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学 食肉科学 レイシヨクイン 雷暁澄

1. 目的

筋肉内脂肪（脂肪交雑）は食肉の品質を決定する重要な要素である。しかし、その筋肉内脂肪組織はどのようなメカニズムで形成されるかは未解明である。筋肉内脂肪組織が発達する際には筋組織を支持している筋肉内結合組織（IMCT）を脂肪細胞がリモデリングして自ら適した環境にしているものと考えられるが、脂肪細胞による骨格筋細胞外マトリックス（ECM）のリモデリング機構は不明である。これを究明するためには、細胞組織学的にアプローチできる *in vitro/vivo* のモデル実験系が必要である。そこで、本研究では、IMCT を培養基質とする *in vitro* 脂肪細胞培養系の確立、ならびに筋肉内脂肪組織形成を誘発する *in vivo* モデル系の応用を検討した。

2. 方法

in vitro 脂肪細胞培養系では、IMCT を培養基質とするために、ラットの前脛骨筋を採取し、無固定細胞消化法（切り出した）骨格筋を 2.5% グルタルアルデヒドで固定せずに、0.1 N NaOH に 6 日間浸漬した後に 0.3 N NaOH に 1 日間浸漬) を用いて、IMCT 標品を調製した。この IMCT 標品を厚さ 300 μ m の切片を作製し、エタノールで殺菌後、培養基質（IMCT 基質）として脂肪細胞や筋細胞を培養した。脂肪細胞では播種後増殖培地で培養し、脂肪分化誘導培地で 2 日間培養した後、脂肪分化維持培地に切り替えて培養を継続した。筋細胞では播種後増殖培地で培養し、筋分化培地に切り替えて培養を継続した。*in vivo* モデル系では、50% (v/v) グリセロールをマウスの前脛骨筋に注入し、筋再生ならびに脂肪蓄積に伴う結合組織構造の変化を HE 染色や細胞消化・電子顕微鏡（SEM）観察法で調べた。

3. 結果と考察

IMCT 基質に脂肪前駆細胞あるいは筋芽細胞を播種して培養したところ、両細胞ともに 6 時間以内に IMCT 基質に接着していることが確認でき、また、分化誘導した結果、IMCT 基質上で脂肪前駆細胞は成熟脂肪細胞に、筋芽細胞は筋管に分化し長期間培養することが可能であった。以上の結果、IMCT 基質は脂肪細胞および筋細胞の培養に適していることが示された。脂肪細胞を IMCT 上で長期間培養すると IMCT の微細構造に変化が見られ、IMCT 基質を用いた本培養系は脂肪細胞による IMCT のリモデリングを検討するのに有用であることが示された。また、マウス骨格筋にグリセロールを注入した骨格筋では筋再生よりも脂肪組織新生が優位に生じることが既に報告 (Uezumi et al., 2010) されていることから、このモデルを IMCT リモデリングの研究に応用できないかと考えた。グリセロールを注入したマウス骨格筋では骨格筋内に脂肪組織が多く形成され、これを細胞消化・SEM で観察すると、その結合組織構造の変化を詳しく把握することが可能であり、本 *in vivo* モデルは骨格筋内の脂肪組織形成時の結合組織構造を検討するのに有用であることが示された。本研究で開発した *in vitro* および *in vivo* モデルは骨格筋内での脂肪組織形成時の結合組織リモデリング機構を追求するのに適したモデル実験系であり、今後、これらを用いた細胞組織学的アプローチによって筋肉内脂肪組織の形成メカニズムの解明が期待される。