

最大無酸素性作業能力の向上に関連する
分子メカニズムの解明
—骨格筋発現タンパクの網羅的解析—

立命館大学 宮本 恵里
(共同研究者) 同 家光 素行
同 佐藤 幸治
同 浜岡 隆文
同 早野 俊哉

**Analysis of the Global Gene Expression Profile Associated with Training-
Induced Improvements in Anaerobic Capacity**

by

Eri Miyamoto, Motoyuki Iemitsu,
Koji Sato, Takafumi Hamaoka, Toshiya Hayano
Ritsumeikan University

ABSTRACT

Purpose: The purpose of the present study was to clarify gene expression profile associated with high-intensity intermittent training-induced improvements in anaerobic capacity. **Methods:** Eleven healthy young subjects (age 23 ± 3 years) completed 6-week of high-intensity intermittent training [6-7 sets of 20-s exercise at an intensity of about 170% of maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2max}$) with 10-s rest between each bout]. Before and after the intervention, we evaluated $\dot{V}O_{2max}$ and maximal accumulated oxygen deficit (MAOD) as an index of anaerobic capacity, gene expression profile in the vastus lateralis by using microarray analysis. **Results:** After the training, $\dot{V}O_{2max}$ and MAOD increased significantly ($P < 0.05$). Of the 53,617 genes analyzed in the microarray analyses, 168 genes were significantly upregulated (fold change >

1.2, $P < 0.05$), while 116 genes were significantly downregulated (fold change < 0.8 , $P < 0.05$) following the training. Pathway analysis revealed that 30 pathways were significantly upregulated, and that 21 pathways were significantly downregulated (Z -score > 0 , $P < 0.01$). Conclusion: This study provides a gene expression profile related to molecular mechanisms underlying training-induced improvements in anaerobic capacity.

要 旨

【目的】本研究の目的は、高強度・短時間・間欠的運動トレーニングを実施した前後で骨格筋中の遺伝子発現を網羅的に比較解析することにより、最大無酸素性エネルギー供給能の向上に関与する分子メカニズムを明らかにすることである。

【方法】健常な若年男性 11 名 (23 ± 3 歳) を対象とし、6 週間の高強度・短時間・間欠的運動 (最大酸素摂取量の 170% 程度の強度で 20 秒間の自転車エルゴメータ運動を 10 秒の休息を挟んで 6 ~ 7 回繰り返す運動) トレーニングを実施した。介入前後に最大酸素摂取量、最大酸素借の測定および安静時の筋生検を実施し、マイクロアレイ法を用いて骨格筋中の遺伝子発現を網羅的に解析した。【結果】トレーニング介入後に最大酸素摂取量は 9.2%、最大酸素借は 20.9% 有意に増加した ($P < 0.05$)。トレーニング介入の前後の遺伝子発現レベルを比較すると、168 個の遺伝子の発現が 1.2 倍以上有意に増加し、116 個の遺伝子の発現が 0.8 倍以下に有意に減少した ($P < 0.05$)。Pathway 解析の結果、有意に発現が増加しているシグナル伝達経路は 30 種 (Z -score > 0 , $P < 0.01$)、有意に発現が低下しているシグナル伝達経路は 21 種 (Z -score > 0 , $P < 0.01$) であった。【結論】本研究は、高強度・短時間・間欠的運動トレーニングにより発現が変化し、最大無酸素性エネルギー供給能の向上に関与している可能性がある遺伝子を網羅的に明らかにした。これらの遺伝子が最大酸素借の

向上に貢献するのかを明らかにするため、今後の検討が必要である。

緒 言

運動トレーニングの実施により骨格筋は、様々な機能や形態の適応が生じる。骨格筋の適応は、実施するトレーニングの強度、量、頻度、運動様式によって異なることが知られている^{1,2)}。近年、レジスタンストレーニングや持久性トレーニングに対する骨格筋適応のメカニズムを明らかにするため、適応に関わる分子：遺伝子 (mRNA)³⁻⁵⁾ やタンパク質^{6,7)} の同定が網羅的解析により検討されている。その結果、種々のトレーニングによる骨格筋の機能・形態適応の分子メカニズムが明らかになりつつある²⁾。それぞれのトレーニング効果の分子メカニズムが明らかになれば、科学的根拠に基づくより効果的なトレーニング方法の開発に貢献できることから、レジスタンストレーニングや持久性トレーニングだけでなく、それ以外のトレーニングに関しても検討が必要であると考えられる。

現在まで、筋肥大をもたらすレジスタンストレーニングや最大酸素摂取量を向上させる持久性トレーニングにおける骨格筋適応の分子メカニズムを明らかにするため、マイクロアレイ法による網羅的な遺伝子発現の検討や 2 次元電気泳動法や液体クロマトグラフィー質量分析法 (LCMS) 法による網羅的なタンパク発現解析が報告されてきた。一方、陸上競技の 400M や 800M 走など 30

秒から3分程度で疲労困憊に至るような運動では、最大無酸素性エネルギー供給能がパフォーマンスに影響する⁸⁾が、最大無酸素性エネルギー供給能の骨格筋適応に関わる分子メカニズムはほとんど解明されていない。また、サッカーやバスケットボール等のスポーツで必要とされるスプリント走を反復する能力にも最大無酸素性エネルギー供給能に関わることから、筋力や持久性能力と同様に重要な能力であると考えられる⁹⁾。最大無酸素性エネルギー供給能とは、ATP-CP系と解糖系によるATP再合成の最大値のことであり、筋中の貯蔵ATP量やクレアチンリン酸量、解糖系の酵素活性、筋の緩衝能などにより規定されると考えられている。この最大無酸素性エネルギー供給能を向上させるトレーニングとして高強度・短時間・間欠的運動（最大酸素摂取量の170%程度の強度で20秒間の自転車エルゴメータ運動を10秒の休息を挟んで6~7回繰り返す運動）トレーニングが報告されている¹⁰⁾。高強度・短時間・間欠的運動トレーニングは、3~4分と短時間で終了する運動にもかかわらず、有酸素性エネルギー供給機構と無酸素性エネルギー供給機構の両方に最大の負荷をかけることができる運動であることが示唆されており¹¹⁾、効率的な運動トレーニングとして近年注目されている。これまでに、高強度・短時間・間欠的運動トレーニングに対する骨格筋適応の分子メカニズムとして、動物研究にて、ミトコンドリアの増加に関わる転写活性化補助因子である peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator-1 α (PPARGC1A) のタンパク発現が増加すること¹²⁾やミトコンドリア量の指標となるクエン酸合成酵素 (CS) の活性が増加すること¹³⁾、また糖代謝に関与する GLUT4 のタンパクが増加すること¹³⁾などが報告されている。しかしながら、ヒトの骨格筋において、このトレーニングがどのような分子メカニズムにより種々の適応を生じさせているのかは明らかと

なっていない。

そこで本研究は、最大無酸素性エネルギー供給能が向上することが明らかになっている高強度・短時間・間欠的運動トレーニングを実施した前後でヒトの骨格筋中の遺伝子発現を網羅的に比較解析することによって、最大無酸素性エネルギー供給能の向上に関与する分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

1. 研究方法

1.1 被験者

健康な若年男性11名を対象とした。被験者の身体的特性を表1に示した。被験者の中にスポーツ競技者、および慢性疾患を有する者は含まれていなかった。本研究は、立命館大学の倫理審査委員会の承諾を受け、ヘルシンキ宣言の精神に則り行われた。全ての被験者に、研究の目的および測定方法の説明をした後、実験参加の承諾を得て測定を実施した。

表1 被験者の特性

	介入前	介入後
年齢 (歳)	23 ± 3	-
身長 (cm)	173.7 ± 7.2	-
体重 (kg)	67.1 ± 7.1	67.7 ± 6.8
体脂肪率 (%)	15.0 ± 1.7	15.6 ± 2.5
全身骨格筋量 (kg)	32.4 ± 3.3	32.3 ± 3.2
右脚骨格筋量 (kg)	9.0 ± 1.0	9.0 ± 1.0
左脚骨格筋量 (kg)	9.0 ± 1.1	9.0 ± 1.0
最大酸素摂取量 (ml/kg/min)	48.2 ± 6.1	52.4 ± 4.6*

平均値 ± 標準偏差, *: P < 0.01 vs. 介入前

1.2 実験手順

被験者は、トレーニングの介入に先立ち、筋生検、身体組成の測定、および各種体力指標の測定を実施した。また、6週間のトレーニング介入終了後に、同様の項目の測定を実施した。

1.3 体組成の測定

全身の体脂肪率、全身の骨格筋量、および左脚、右脚の骨格筋量は InBody770 (バイオスペース社製) を用いて測定した。

1. 4 筋生検

筋生検は、トレーニング開始前および終了 48 時間以降の早朝安静空腹時に外側広筋に対して実施した。キシロカインを用いて外側広筋に局所麻酔を施し、皮膚に小切開を加えたのち、ニードル（バードモノプティ・マックスコア [14G×100mm]）を挿入して筋を摘出した。摘出した筋はすぐに液体窒素で凍結し、分析まで -80℃で凍結保存した。

1. 5 最大酸素摂取量の測定

最大酸素摂取量は間欠的多段階漸増負荷法により測定した。まずは、各被験者において最大下の自転車エルゴメータ運動における運動強度 (watt) と酸素摂取量 ($L \cdot \text{min}^{-1}$) の関係を明らかにするため、一定強度の運動を 10 分間、強度を変えて 5～7 回実施した。各運動強度の運動終了前 2 分間、もしくは 1 分間の呼気ガスを採取し、ダグラスバッグ法により酸素摂取量を測定し、運動強度と酸素摂取量の一次回帰直線を求めた。

次に、最大酸素摂取量を測定するため、ウォーミングアップとして最大酸素摂取量の 70～80% に相当すると考えられる強度で 2 分間の運動を行ったのち、そのまま続けて約 2～4 分間続けられる強度の運動（最大酸素摂取量の 120～130% の強度）を疲労困憊に至るまで行い、運動終了前 1～2 分間の酸素摂取量を 30 秒毎に測定した。この運動を、強度を変えて 2～3 回行い、最大下の運動強度と酸素摂取量の一次回帰直線から、最大酸素摂取量の測定に用いた運動で得られた酸素摂取量がレベリングオフする点を確認し、それを最大酸素摂取量 ($L \cdot \text{min}^{-1}$ あるいは体重あたり $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) とした^{8,14)}。以上の測定は数日間に分けて行われた。本研究において酸素摂取量は全てダグラスバッグ法により測定し、採取した呼気ガスは O_2 および CO_2 濃度を生体ガス分析用質量分析装置 (ARCO-2000 シリーズ, アルコシステ

デサントスポーツ科学 Vol. 36

ム社製)で分析し、呼気ガス量は乾式ガスメーター (DC-2, 株式会社品川製作所社製) で定量した。

1. 6 最大酸素借の測定

最大無酸素性エネルギー供給能の指標として最大酸素借を測定した。最大酸素摂取量の 50% の強度で 10 分間のウォーミングアップを行い、10 分間休憩したのち、2～3 分で疲労困憊にいたるような強度（最大酸素摂取量の 120～140% 程度）で運動を行った。疲労困憊の目安は、被験者がペダルの回転数を 90 回転/分に維持できなくなり、85 回転/分以下に低下した時とした。この運動中、運動開始から疲労困憊に至るまでの全呼気をダグラスバッグ法により 30 秒毎に採取し、総酸素摂取量を測定した。また、最大下強度における運動強度と酸素摂取量の一次回帰直線から、外挿法により運動時の酸素需要量を推定し、その酸素需要量に実際の運動時間をかけて、疲労困憊に至る運動の総酸素需要量を算出した。この総酸素需要量から実際の総酸素摂取量を引いて総酸素借を求め、これを最大酸素借とした^{8,15)}。

1. 7 トレーニング介入

高強度・短時間・間欠的運動トレーニングには、自転車エルゴメータ (828E:Monark 社製) を使用した。自転車エルゴメータのペダルの回転数を 90 回転/分に設定し、最大酸素摂取量の 170% 程度の強度で 20 秒間の自転車運動を 10 秒間の休息を挟んで 6～7 セットを 1 回とし¹⁰⁾、1 日 1 回、週 4 回、6 週間実施した。ペダルの回転数を 90 回転/分に保てなくなり、85 回転/分を下回った時点で運動を終了させ、8 セット目まで運動を実施できた場合に、次回から 11 watt ずつ負荷を増加させた。

1. 8 マイクロアレイ解析

マイクロアレイ解析には、Affymetrix 社製の

GeneChip[®] Human Gene 2.0 ST Array を用いた。解析に用いるトータル RNA は、凍結保存した骨格筋サンプルから RNeasy Micro Kit (QIAGEN 社製) を用いて精製した。トータル RNA の品質チェックには Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent 社製) を用いた。その後のサンプル調整、ハイブリダイゼーション、アレイの染色および洗浄、スキャニングは全て Affymetrix 社のプロトコルに従って実施した。

1. 9 統計解析

データは平均値 ± 標準偏差で示した。統計解析は Student's t-test を用いて行い、 $P < 0.05$ を有意とした。マイクロアレイデータの解析には、Filgen 社製の Microarray Data Analysis Tool Ver3.2 を用いた。

2. 研究結果

2. 1 トレーニング介入前後における体組成および体力指標の変化

6週間のトレーニング介入前後における被験者の特性を表 1 に示した。体重、全身の体脂肪率、全身の骨格筋量、左右の脚の骨格筋量はトレーニング介入前後において有意な変化は認められなかった ($P > 0.05$, 表 1)。一方、最大酸素摂取量はトレーニング介入前と比較して、介入後に $9.2 \pm 7.1\%$ 有意に増加していた (48.2 ± 6.1 vs. 52.4 ± 4.6 ml/kg/min, $P < 0.01$, 表 1)。さらに、最大酸素借はトレーニング介入前と比較して、介入後に $20.9 \pm 15.8\%$ 有意に増加していた (53.8 ± 10.0 vs. 64.2 ± 11.0 ml/kg, $P < 0.01$, 図 1)。

2. 2 マイクロアレイ解析

Affymetrix 社製の GeneChip[®] Human Gene 2.0 ST Array により、骨格筋サンプルにおいて合計 53,617 個の転写産物の発現が確認された。本研究のマイクロアレイによる遺伝子発現解析の信頼性

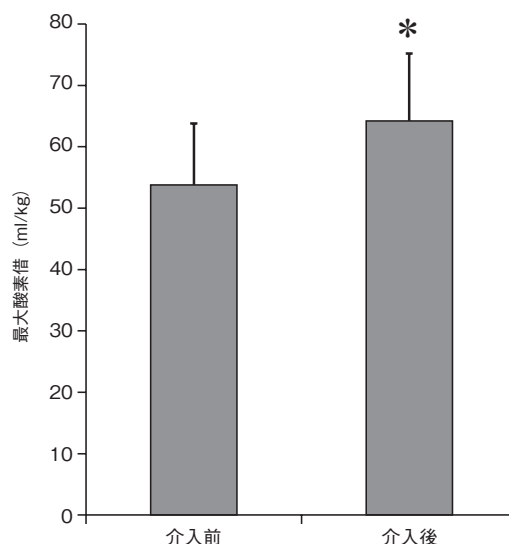


図 1 トレーニング介入前後における最大酸素借の変化
平均値 ± 標準偏差, *: $P < 0.01$ vs. 介入前

を確認するため、先行研究で高強度・短時間・間欠的運動トレーニングにより発現増加が報告されている遺伝子の発現変化を確認した結果、トレーニング介入前後で CS の発現は 9% ($P < 0.05$), GLUT4 の発現は 7% ($P = 0.37$), PPARGC1A の発現は 22% ($P < 0.01$) 増加していた。

トレーニング介入の前後の遺伝子発現レベルを比較すると、1.2 倍以上有意に発現が増加したのは 168 個であった ($P < 0.05$)。そのうち、タンパク質として翻訳される遺伝子は 108 個であった。一方、介入の前後で 0.8 倍以下に発現が減少した遺伝子は 116 個であり ($P < 0.05$)、そのうち、タンパク質として翻訳される遺伝子は 77 個であった。これらの有意に発現変動した遺伝子について、どのようなシグナル伝達経路と関連がある遺伝子が多いのかを明らかにするために Pathway 解析を実施した結果、有意に発現が増加しているシグナル伝達経路は 30 種 ($Z\text{-score} > 0$, $P < 0.01$, 表 2)、有意に発現が低下しているシグナル伝達経路は 21 種 ($Z\text{-score} > 0$, $P < 0.01$, 表 3) であった。

表2 有意に発現が増加した Pathway

Pathway Name	Changed Genes	Total Genes	Z score	P value
ECM-receptor interaction	8	84	9.772	1.77E-07
Extracellular matrix organization	8	92	9.267	3.38E-07
Collagen biosynthesis and modifying enzymes	7	64	9.894	4.65E-07
Collagen formation	7	64	9.894	4.65E-07
NCAM1 interactions	6	43	10.498	8.89E-07
Focal adhesion	10	197	7.429	1.16E-06
PI3K-Akt signaling pathway	12	325	6.53	2.23E-06
Protein digestion and absorption	7	84	8.455	2.54E-06
Gluconeogenesis	5	30	10.562	3.53E-06
Glucose metabolism	6	59	8.788	4.83E-06
NCAM signaling for neurite out-growth	6	69	8.026	1.12E-05
Amoebiasis	7	107	7.305	1.15E-05
Signaling by PDGF	8	178	6.125	3.52E-05
Glycolysis, core module involving three-carbon compounds	3	10	11.188	8.35E-05
Gluconeogenesis, oxaloacetate → fructose-6P	3	16	8.72	0.000275
Developmental Biology	10	413	4.244	0.000528
Glycolysis (Embden-Meyerhof pathway), glucose → pyruvate	3	21	7.52	0.00056
Glycolysis	3	24	6.983	0.000798
Neurophilin interactions with VEGF and VEGFR	2	5	10.61	0.000951
aspartate degradation II	2	5	10.61	0.000951
Glycolysis / Gluconeogenesis	4	61	5.53	0.000989
Axon guidance	8	320	3.906	0.001656
Signaling by VEGF	2	9	7.797	0.002446
VEGF ligand-receptor interactions	2	9	7.797	0.002446
Small cell lung cancer	4	83	4.54	0.002908
Integrin cell surface interactions	4	84	4.503	0.003031
Metabolism of carbohydrates	6	229	3.523	0.005233
Pyruvate metabolism	3	51	4.475	0.005935
Arginine and proline metabolism	3	54	4.315	0.0069
Signaling events mediated by VEGFR1 and VEGFR2	3	61	3.985	0.0095

表3 有意に発現が低下した Pathway

Pathway Name	Changed Genes	Total Genes	Z score	P value
Ethanol oxidation	3	10	13.102	3.34E-05
ethanol degradation II	2	5	12.406	0.000518
Arf6 signaling events	3	33	6.926	0.000769
EGFR interacts with phospholipase C-gamma	3	33	6.926	0.000769
PLCG1 events in ERBB2 signaling	3	34	6.811	0.000834
EGFR-dependent Endothelin signaling events	2	8	9.732	0.001099
serotonin degradation	2	8	9.732	0.001099
Fatty acid metabolism	3	42	6.04	0.00148
Valine, leucine and isoleucine degradation	3	43	5.958	0.001578
noradrenaline and adrenaline degradation	2	10	8.659	0.001602
ErbB receptor signaling network	2	13	7.535	0.002524
GRB2 events in EGFR signaling	2	14	7.242	0.002875
SHC1 events in EGFR signaling	2	15	6.978	0.003248
Glycolysis / Gluconeogenesis	3	61	4.838	0.004065
Phase 1 - Functionalization of compounds	3	65	4.651	0.004822
Signaling by constitutively active EGFR	2	19	6.134	0.004951
GRB2 events in ERBB2 signaling	2	23	5.516	0.006983
Nicotinate and nicotinamide metabolism	2	23	5.516	0.006983
EGF receptor (ErbB1) signaling pathway	2	25	5.262	0.008118
SHC1 events in ERBB2 signaling	2	25	5.262	0.008118
EGFR downregulation	2	26	5.146	0.008714

3. 考 察

本研究において、健常な若年男性において、週4回6週間の高強度・短時間・間欠的運動トレーニングを実施した結果、トレーニング介入後に最大無酸素性エネルギー供給能の指標である最大酸素借および最大酸素摂取量が有意に増加した。その増加率は、それぞれ20.9%と9.2%であり、同様のトレーニングを6週間実施した先行研究と同程度の増加率であった^{10, 16)}。また、トレーニング介入前後において外側広筋中の遺伝子発現を網羅的に解析した結果、トレーニング後に108個の遺伝子発現が1.2倍以上に有意に増加し、77個の遺伝子発現が0.8倍以下に有意に低下していた。したがって、これらの遺伝子発現の変化によってもたらされるタンパク発現の変化が、最大酸素借および最大酸素摂取量の増加に貢献している可能性が考えられる。

動物を対象とした先行研究において、高強度・短時間・間欠的運動は、骨格筋中のPPARGC1Aタンパクの発現を増加させ¹²⁾、CS活性を増大させる¹³⁾ことが報告されている。本研究のマイクロアレイ解析においても、これらの遺伝子発現レベルがトレーニング介入後に有意に増加していたことから、トレーニングにより骨格筋中のミトコンドリア量が増大し、そのことが最大酸素摂取量の向上に貢献していたと考えられる。

最大酸素借を増加させる主な要因として、乳酸産生速度の増加とそれを可能にする筋の緩衝能の向上があげられる。本研究において、トレーニング介入により1.2倍以上発現が有意に増加した転写産物のPathway解析の結果、解糖系経路の遺伝子発現が有意に増加していることが明らかとなった(表2)。遺伝子レベルでは、解糖系におけるホスホグリセリン酸キナーゼ(PKG1)、ホスホグリセリン酸ムターゼ(PGAM2)、ピルビン酸キナーゼ(PKM)のmRNAの発現が1.2倍以上有

意に増加していた。解糖系の律速酵素であるホスホフルクトキナーゼ(PFK)の発現も19.6%有意に増加しており、これらの解糖系酵素の発現増加が乳酸産生速度の増加に関与している可能性がある。また、発現が有意に増加した遺伝子の中にカルノシン合成酵素(CARNS1)が含まれていた。骨格筋中のカルノシン濃度は筋緩衝能と関連することから^{17, 18)}、カルノシン合成酵素の発現増加が筋緩衝能の向上に貢献している可能性が考えられる。

また、トレーニング介入により有意に発現が低下した遺伝子の中にはミオスタチン(MSTN)が存在した。ミオスタチンは筋肥大を抑制する作用を有することから、ミオスタチンの発現低下は筋肥大に関与する¹⁹⁾。先行研究において、骨格筋量の増加は最大酸素借の増大に貢献することが報告されている¹⁶⁾。今回InBodyの測定において脚全体の筋量変化は認められなかったが、自転車運動は主働筋が大腿四頭筋であることから²⁰⁾、今後大腿四頭筋の筋量について詳細に検討する必要がある。本研究において、高強度・短時間・間欠的運動トレーニングにより有意に発現が上昇した遺伝子108個について、先行研究における持久性トレーニング^{3, 21)}やレジスタンストレーニング⁵⁾によっても発現が上昇する遺伝子は108個中17個でありPI3K-Aktシグナル経路と関連がある遺伝子や血管新生に関わる遺伝子が含まれていた。一方、高強度・間欠的運動トレーニングにおいてのみ発現が上昇する遺伝子は108個中76個であった。これらの先行研究は、本研究とトレーニング介入の期間や対象者の年齢、遺伝子抽出の基準が異なるため更なる検討が必要であるが、本研究トレーニングにより発現が上昇した遺伝子の多くは高強度・短時間・間欠的運動トレーニングに特異的に反応し発現が変化する遺伝子である可能性が考えられる。

4. 結 論

本研究は、健常な若年男性において、6週間の高強度・短時間・間欠的運動トレーニング介入により骨格筋で発現が変化する遺伝子を網羅的に明らかにした。これらの遺伝子は最大無酸素性エネルギー供給能の向上に関与している可能性がある候補遺伝子である。これらの遺伝子が最大酸素借の向上に貢献するのかを明らかにするため、今後の検討が必要である。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究助成を賜りました公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に厚く御礼申し上げます。また、本研究の実施にあたり多大なご協力を頂いた立命館大学：街勝憲氏、徐宇中氏、長谷川夏輝氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Coffey V.G., Hawley J.A., The molecular bases of training adaptation., *Sports Med.*, **37**: 737-763(2007)
- 2) Egan B., Zierath J.R., Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation., *Cell. metabolism*, **17**: 162-184(2013)
- 3) Keller P., Vollaard N.B., Gustafsson T., Gallagher I.J., Sundberg C.J., Rankinen T., Britton S.L., Bouchard C., Koch L.G., Timmons JA (2011) A transcriptional map of the impact of endurance exercise training on skeletal muscle phenotype., *J. Appl. Physiol.*, **110**: 46-59(1985)
- 4) Phillips B.E., Williams J.P., Gustafsson T., Bouchard C., Rankinen T., Knudsen S., Smith K., Timmons J.A., Atherton P.J., Molecular networks of human muscle adaptation to exercise and age., *PLoS Genet.*, **9**: e1003389(2013)
- 5) Raue U., Trappe T.A., Estrem S.T., Qian H.R., Helvering L.M., Smith R.C., Trappe S.,(2012) Transcriptome signature of resistance exercise adaptations: mixed muscle and fiber type specific profiles in young and old adults., *J. Appl. Physiol.*, **112**: 1625-1636(1985)
- 6) Burniston J.G., Changes in the rat skeletal muscle proteome induced by moderate-intensity endurance exercise., *Biochim. Biophys. Acta.*, **1784**: 1077-1086 (2008)
- 7) Egan B., Dowling P., O'Connor P.L., Henry M., Meleady P., Zierath J.R., O'Gorman D.J., 2-D DIGE analysis of the mitochondrial proteome from human skeletal muscle reveals time course-dependent remodelling in response to 14 consecutive days of endurance exercise training., *Proteomics.*, **11**: 1413-1428(2011)
- 8) Medbo J.I., Tabata I., (1989) Relative importance of aerobic and anaerobic energy release during short-lasting exhausting bicycle exercise., *J. Appl. Physiol.*, **67**: 1881-1886(1985)
- 9) Meckel Y., Machnai O., Eliakim A., Relationship among repeated sprint tests, aerobic fitness, and anaerobic fitness in elite adolescent soccer players. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association.*, **23**: 163-169(2009)
- 10) Tabata I., Nishimura K., Kouzaki M., Hirai Y., Ogita F., Miyachi M., Yamamoto K., Effects of moderate-intensity endurance and high-intensity intermittent training on anaerobic capacity and $\dot{V}O_{2max}$., *Med. Sci. Sports Exerc.*, **28**: 1327-1330(1996)
- 11) Tabata I., Irisawa K., Kouzaki M., Nishimura K., Ogita F., Miyachi M., Metabolic profile of high intensity intermittent exercises., *Med. Sci. Sports Exerc.*, **29**: 390-395(1997)
- 12) Terada S., Kawanaka K., Goto M., Shimokawa T., Tabata I., Effects of high-intensity intermittent swimming on PGC-1 α protein expression in rat skeletal muscle., *Acta physiologica Scandinavica*, **184**: 59-65(2005)
- 13) Terada S., Yokozeki T., Kawanaka K., Ogawa K., Higuchi M., Ezaki O., Tabata I.,(2001) Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle., *J. Appl. Physiol.*, **90**: 2019-2024(1985)
- 14) Taylor H.L., Buskirk E., Henschel A., Maximal oxygen intake as an objective measure of cardio-respiratory performance., *J. Appl. Physiol.* **8**: 73-80 (1955)
- 15) Medbo J.I., Mohn A.C., Tabata I., Bahr R., Vaage O. Sejersted O.M.,(1988) Anaerobic capacity determined by maximal accumulated O₂ deficit., *J.*

- Appl. Physiol.*, **64**: 50-60(1985)
- 16) 平井 雄介, 田畑 泉., 高強度の間欠的トレーニングとウエイトトレーニングが最大酸素借と最大酸素摂取量に与える影響. *体力科学* **45**: 495-502 (1996)
 - 17) Baguet A., Everaert I., De Naeyer H., Reyngoudt H., Stegen S., Beeckman S., Achten E., Vanhee L., Volckaert A., Petrovic M., Taes Y., Derave W., Effects of sprint training combined with vegetarian or mixed diet on muscle carnosine content and buffering capacity., *Eur. J. Appl. Physiol.* **111**: 2571-2580 (2011)
 - 18) Parkhouse W.S., McKenzie D.C., Possible contribution of skeletal muscle buffers to enhanced anaerobic performance: a brief review., *Med. Sci. Sports Exerc.*, **16**: 328-338(1984)
 - 19) McPherron A.C., Lawler A.M., Lee S.J., Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member., *Nature.*, **387**: 83-90(1997)
 - 20) Akima H., Kinugasa R., Kuno S., Recruitment of the thigh muscles during sprint cycling by muscle functional magnetic resonance imaging., *Int. J. Sports Med.*, **26**: 245-252(2005)
 - 21) Timmons J.A., knudsen S., Rankinen T., Koch L.G., Sarzynski M., Jensen T., Keller P., Scheele C., Vollaard N.B., Niesen S., Åkerström T., Macdougald O.A., Jansson E., Greenhaff P.L., Tarnopolsky M.A., van Loon L.J., Pedersen B.K., Sundberg C.J., Wahlestedt C., Britton S.L., Bouchard C., Using molecular classification to predict gains in maximal aerobic capacity following endurance training in humans., *J. Appl. Physiol.* **108**:1487-1496 (2010)