

高パワー，高持久力を備える骨格筋の 特徴とその形成

聖マリアンナ医科大学 吉岡利忠
(共同研究者) 鹿屋体育大学 竹倉宏明

The Characteristics and Formation of Skeletal Muscle with a High-Power and High-Endurance Profile

by

Toshitada Yoshioka

*Department of Physiology, St. Marianna
University School of Medicine*

Hiroaki Takekura

*Department of Physiology and Biomechanics,
National Institute of Fitness and Sports in Kanoya*

ABSTRACT

Fifteen male Wistar strain rats were used to study the effect of endurance and sprint exercises on the volume and number of skeletal muscle mitochondria. In soleus muscle (SOL), the fraction of the mitochondrial volume, revealed by a point counting method, was significantly increased in SO and FOG fibers from the endurance-trained rats ($p < 0.05$) and in FOG fiber from the sprint-trained rats ($p < 0.01$). A significant increase ($p < 0.05$) in the mitochondrial volume was observed in FOG, but not in SO and FG, of extensor digitorum longus muscle (EDL) from sprint-trained rat. Oxidative adaptation has been found in SO as well as FOG after the training program of endurance exercise. There was no change in concentration of elemental composition, except for decrease of potassium concentration, determined with rapid freezing, electron microscopy, and electron probe analysis, in the whole muscle cells of SOL and EDL after the training program. The mechanism of the swelling of mitochondria was also discussed.

要 旨

1) Endurance および sprint の運動負荷刺激によるひらめ筋 (SOL) および長趾伸筋 (EDL) にそれぞれ含まれる 2 種類 (SO, FOG) および 3 種類 (SO, FOG, FG) の筋線維の応答に対し同一筋細胞を用いて光学および電子顕微鏡学的検索を行った。

2) SOL において endurance 群では SO および FOG 線維に, sprint 群で FOG 線維に有意なミトコンドリア容量の増加がステレオロジー分析法によって認められた。FOG 線維ではミトコンドリアの数も同時に増加した。

3) EDL では sprint 群においてミトコンドリア容量の増加が認められた。

4) EDL における SO および FG では両運動負荷によりミトコンドリア量, 数ともに変動を示さなかった。

5) 本研究で用いた運動負荷のプロトコールにより FOG および SO 線維の酸化系酵素活性能力が向上したものと推察した。

6) 電子線マイクロプローブ分析法による細胞内各種元素濃度は運動により SOL の K の濃度の低下を除いて変動を示さず, 細胞内イオン環境はほぼ一定に保持されていた。

7) ミトコンドリアの膨化およびその機能亢進を誘発させる機構について考察した。

緒 言

スポーツ選手に高い競技成績を期待するためには, 技術的, 体力的に望ましい適正を有していることが必要不可欠である。体力的側面からは, 骨格筋に関する研究が盛んに行われており, 特定のスポーツ種目に高い成績をあげている競技者は, 収縮・代謝両特性から考えて最も効率の良い筋線維の骨格筋に占める比率が高いことが報告されている^{6,16)}。トレーニングの質的・量的変化に伴な

いこれらの構成比率が後天的に変化するか否かは明らかではないが, パワーと同時に持久力を高めるようなインターバルトレーニングを行わせた骨格筋では, いわゆる中間筋線維 (FOG) の比率が高いことが報告されている¹²⁾。これは, トレーニングの継続に伴い FG 線維の疲労耐性, すなわち, 酸化系酵素活性値が上昇した結果であると考えられている¹³⁾。

骨格筋における酸化系酵素活性値の上昇は, ミトコンドリアの数や大きさの増大に依存していると考えられている¹⁵⁾。しかし, トレーニングが骨格筋単一筋線維にいかなる影響を及ぼすかを検討した研究^{30,32)}によれば, 酸化系酵素活性値はすべてのタイプの筋線維において等しく上昇する訳ではないという。このことから, トレーニングに伴う骨格筋のミトコンドリアの形態的变化は各筋線維タイプ別に異なる可能性が考えられる。

本研究では, 強度の異なるランニングトレーニングが骨格筋線維のミトコンドリアの形態にいかなる影響を及ぼすかを, あらかじめ組織化学染色法により決定された各筋線維タイプ別の同一筋細胞を用いた光学および電子顕微鏡学的検索により, 骨格筋線維タイプの移行に関する基礎的資料を得ると同時に, 細胞内イオン環境がこれらトレーニングによって変動するかどうかを検討し, スポーツの成績向上につながる骨格筋の形成に望ましいトレーニング方法を見いだすことを目的とする。

方 法

実験動物には生後 3 週齢より飼育を開始した Wistar 系雄性 ラット 15 匹を用いた。1 週間の予備トレーニング後, 各群の平均体重がほぼ等しくなるように, sedentary control (C) 群, sprint training (S) 群, endurance training (E) 群の 3 群 (各群 5 匹) に分類した。トレーニング群は前報記載の方法²⁹⁾により, 12 週間のランニングトレ

ーニングを行わせた。トレーニング終了時点では、S群は毎分85mの速度で45秒間のランニングを2分15秒間隔で15回繰り返すことが、E群は毎分35mの速度で90分間の連続走行が可能となった。トレーニングは1日1回、週5日の頻度で行い、水および飼料は24時間自由摂取とした。なお、有効なランニングトレーニングをラットに行わせるために飼育室は夜と昼とを逆転した。

骨格筋の酵素活性値は、運動とともに上昇し、運動終了時から漸次低下し、安静値への回復にはおよそ48時間を要することが報告されている³¹⁾。さらに、GollnickとKing⁸⁾は一過性の運動直後にもミトコンドリアが膨張する可能性があることを報告している。

これらのことを考慮して、最終トレーニング終了48時間後に sodium-pentobarbital 麻酔下 (40~42mg/kg body weight, i.p.) にて soleus (SOL), extensor digitorum longus (EDL) 筋を摘出した。得られた試料を固定し、両側の腱付近を残し筋腹部を3等分した。さらにそれらを2等分して、一方を筋線維タイプ決定のための組織化学的染色用に、もう一方を超微細構造の計測のための電子顕微鏡用に包埋した。その際、切断面はそれぞれ対応するように方向を定めて固定した。

組織化学的染色は、従来行われている方法と同様に、厚さ10 μ mの連続切片を作製し、actomyosin ATPase 染色¹¹⁾およびSDH (succinate dehydrogenase) 染色²⁰⁾を施し、得られた試料から各筋線維をPeterら²⁵⁾の分類に基づきSO (slow-twitch oxidative), FOG (fast-twitch oxidative glycolytic), FG (fast-twitch glycolytic) の各筋線維タイプに分類した。

電子顕微鏡用に包埋した骨格筋からは、1 μ mの切片を得てトルイジンブルー染色を施し、得られた試料と組織化学的染色により得られた試料を対比させ、電子顕微鏡用試料の筋線維タイプを決定した。その後、目的とする筋線維束部位をトリ

ミングし横断方向の超薄切片を得た。なお、樹脂包埋された電子顕微鏡用ブロックは大きく3等分し3種類の筋線維が集合する面(0.09~0.25mm²)をトリミングした。この面にはせいぜい10~15本の筋線維しか含まれていないために、組織化学的所見を基にして各筋線維タイプを比較的容易に決定することができた。

最終的に撮影した電子顕微鏡写真は各群で150~250枚に達し、これは二次的形態から立体的計測を行うためには十分な量である²³⁾。立体的(ステレオロジー)計測にはポイントカウンティング(点分析)による細胞内小器官の容積測定が用いられ、これはWeibel(1969, 1970)によって確立されている。

1本の筋線維から直接倍率5,000倍の写真を3~10枚撮影し、約3倍に引き伸ばした像の上に1辺が1cmの格子を持つ測定紙を置いた。交差する分析点の総数は494個となる。このような同一細胞を用いた光学および電子顕微鏡的研究³⁶⁾から細胞1個1個の形態と機能を含めた特徴を得ることが可能となる。さらに、片側のSOL, EDLは細胞内のイオン環境の動態をみるために、液体窒素で冷却されたフレオン(-165 \pm 5 $^{\circ}$ C)で急速凍結し、凍結超薄切片を得てフリーズドライされた標本から電子プローブ元素微量分析法(EPMA)により細胞1個および小器官の元素(Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca)を定量分析した^{37,38)}。

結 果

骨格筋摘出時の各群の平均体重は、C群(512.8 \pm 35.7g)とE群(384.4 \pm 37.7g)の間に、E群とS群(468.0 \pm 36.4g)の間にそれぞれ有意な差(p<0.01, p<0.05)が認められた。C群とS群との間には有意な差は認められなかった。

骨格筋重量の絶対値は、SOLにおいてS群(297.8 \pm 33.6mg)とC群(227.7 \pm 22.2mg)およびE群(210.5 \pm 40.0mg)との間に有意な差

($p < 0.01$) が認められた. 一方, EDL においてはいずれの群間にも有意な差は認められなかった. 骨格筋重量の対体重比は SOL, EDL ともに C 群と S, E 群間にそれぞれ有意な差 (SOL: C vs E; $p < 0.05$, C vs S; $p < 0.01$, EDL: C vs E; $p < 0.01$, C vs S; $p < 0.05$) が認められ, トレーニングに伴う活動性肥大の傾向を示した.

図 1 には endurance 群の EDL から得られた

組織化学染色像 (A, B), 樹脂包埋ブロックからの $1\mu\text{m}$ 薄切切片のトルイジンブルー染色像 (C), および電子顕微鏡像 (D) の 1 例が示されており, いずれも 3 種類の同一筋線維のものである. $1\mu\text{m}$ 切片でもミトコンドリアの増加が SO および FOG で明瞭に観察され, この傾向はとくに血管近くの筋鞘直下に認められた.

運動負荷群では多くの場合ミトコンドリアの膨

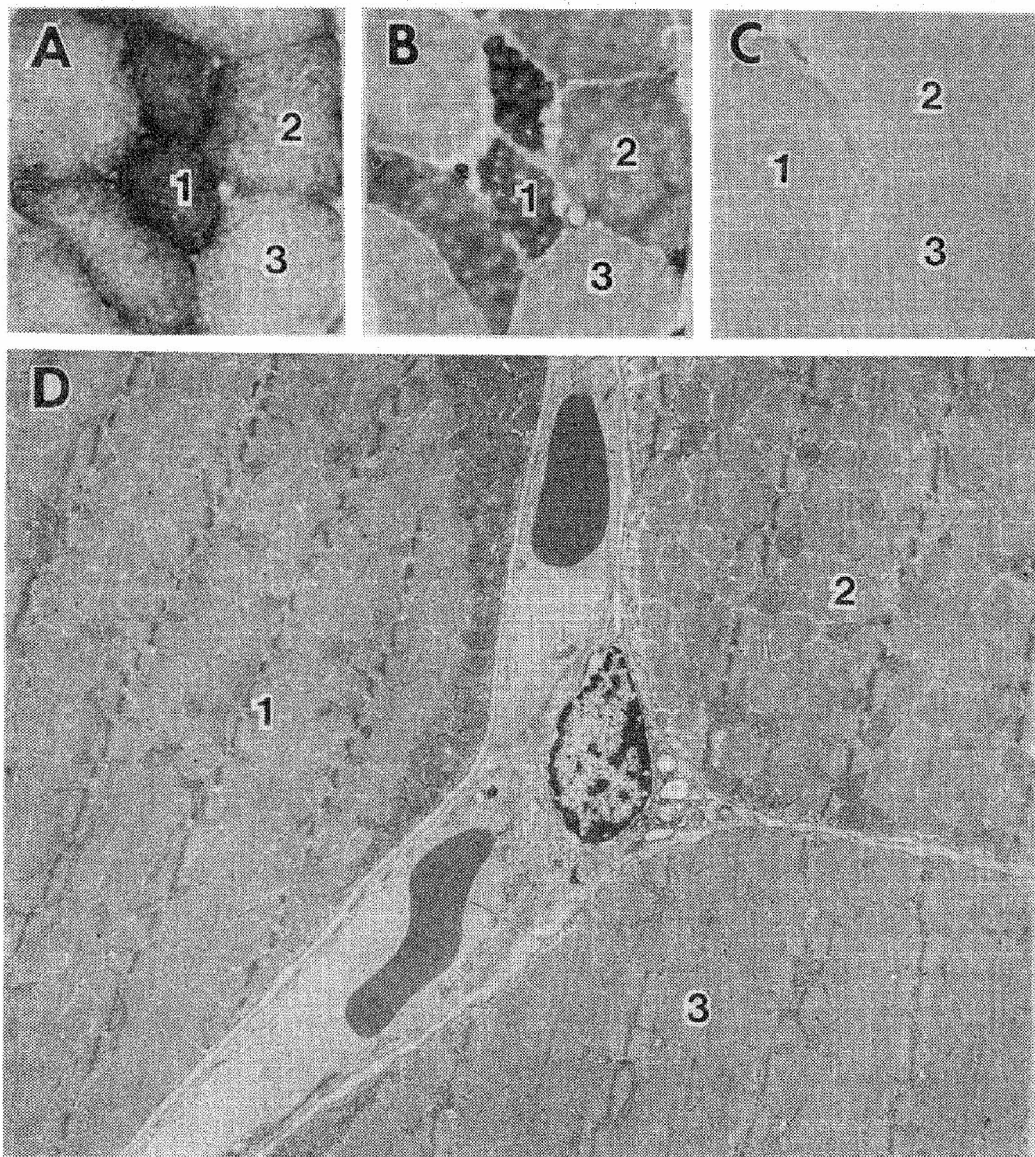


図 1 Light (A, B, C) and electron (D) micrographs from the EDL muscle of endurance-trained rat. The micrographs were taken from the same portion of the muscle. A: stained for SDH, B: stained for actomyosin ATPase after preincubation at pH 4.35, C: stained for toluidine blue from $1\mu\text{m}$ thick section of plastic-embedded preparation. 1: SO fiber, 2: FOG fiber, 3: FG fiber. Magnifications are $250\times$ in A, B, and C, and $4,700\times$ in D.

化と増量が筋細胞膜付近にみられ、このことから像のステレオロジー的解析には筋細胞の内部が選ばれた。SO および FOG の周囲にはコントロールと比較して多くの血管新生が認められ³³⁾たが、FG ではその傾向が少なかった。

筋原線維、核、筋小胞体などの細胞内小器官の微細構造に対しては、運動群およびコントロール群で大きな変化は認められなかった。光学顕微鏡像および電子顕微鏡像を同一筋線維から得る目的

から、SOL および EDL の筋束周辺がトリミングされたため筋束内部にある筋細胞からの微細構造の情報は少ない。また、筋線維タイプ決定のための組織化学的染色の結果、SOL においては FG 線維の存在を認めなかった。

ステレオロジー分析法によって得られたミトコンドリア量（1本の筋線維に含まれるミトコンドリアの容積比）では、持久的運動を負荷した SOL における SO および FOG で高値を示し（ $p <$

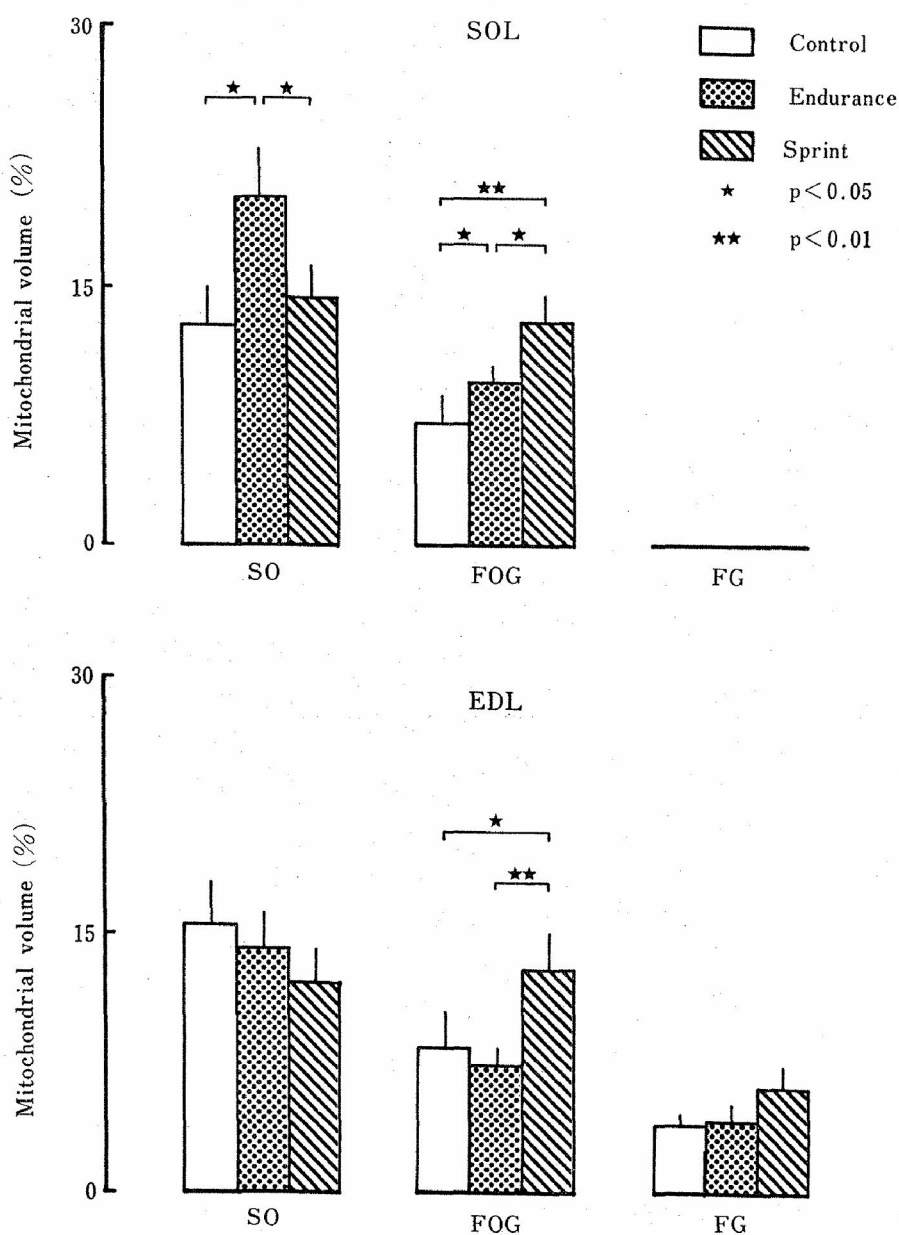


図2 Histograms of mitochondrial volume of the three types of muscle fibers in SOL and EDL from the sedentary, endurance-, and sprint- trained rats.

0.05), sprint 群における FOG でさらに著しく増加した ($p < 0.01$) (図 2, 表 1). すなわち今回用いた運動負荷刺激が SOL の FOG 線維に対して顕著な影響を及ぼしたことになる. EDL においては同様に, sprint 群で FOG のミトコンドリア量が有意に ($p < 0.05$) 増加しているが, FG

に関しては, ミトコンドリア量の増加あるいは減少は認められず, それと同様の傾向が SO にもみられた. なお測定された各タイプの筋線維数は平均 8.5 本であり, 総数では 127 本であった.

表 2 には約 15,000 倍に引き伸ばした電子顕微鏡像から得られた各タイプの筋線維に含まれるミト

表 1 The percentage of mitochondrial volume of the three types of muscle fibers in SOL and EDL from the sedentary, endurance-, and sprint- trained rats.

group		SOL		EDL		
		SO	FOG	SO	FOG	FG
sedentary control	N	7	9	5	6	7
	M	12.80	6.87	15.47	8.63	3.99
	S.D.	4.10	2.89	4.94	3.84	1.57
endurance trained	N	13	10	14	9	10
	M	19.94	9.56	14.15	7.32	4.06
	S.D.	6.63	2.36	4.08	2.25	1.96
sprint trained	N	7	9	6	9	6
	M	14.33	12.88	12.25	12.90	5.98
	S.D.	3.87	2.79	3.75	4.68	2.88

SOL: soleus muscle, EDL: extensor digitorum longus muscle.
 SO: slow-twitch oxidative, FOG: fast-twitch oxidative glycolytic,
 FG: fast-twitch glycolytic; ★ $p < 0.05$, ★★ $p < 0.01$
 N: number of muscle fiber measured, M, S.D.: mean \pm S.D.

表 2 The mitochondrial number of the three types of muscle fibers in SOL and EDL from sedentary, endurance-, and sprint- trained rats.

group		SOL		EDL		
		SO	FOG	SO	FOG	FG
sedentary control	N	7	9	5	6	7
	M	51.30	31.78	62.22	35.14	19.17
	S.D.	16.60	11.22	16.26	15.32	7.65
endurance trained	N	13	10	14	9	10
	M	67.94	48.45	56.42	25.28	18.03
	S.D.	20.10	15.50	17.93	11.24	6.58
sprint trained	N	7	9	6	9	6
	M	66.22	56.19	47.96	38.27	23.44
	S.D.	3.87	14.61	11.26	11.92	11.92

SOL: soleus muscle, EDL: extensor digitorum longus muscle
 SO: slow-twitch oxidative, FOG: fast-twitch oxidative glycolytic,
 FG: fast-twitch glycolytic; ★ $p < 0.05$
 N: number of muscle fiber measured, M, S.D.: mean \pm S.D.

コンドリアの数が示されている。筋線維1本に含まれるミトコンドリアの総数を表現していないが、ミトコンドリアの容積比と比較した場合に1個のミトコンドリアの形態的特徴を得ることができる。すなわち、SOLにおけるFOGでenduranceおよびsprint両群ともその数の増加($p < 0.05$)を認めたことより、ミトコンドリアの容積(表1, 図2)ともに上昇するという結果が得られた。

その他の筋線維ではミトコンドリア数に変化はなかった。ミトコンドリア容量の各群, 各筋および各筋線維タイプにおける推移は図2に示されているが、SOLのFOGの運動に対する影響が特

徴的であった。

瞬間凍結されたSOLおよびEDLの超薄切片の電子線マイクロプローブ分析(EPMA)から得られるNa, Mg, P, S, Cl, K, およびCaのX線スペクトルでは、骨格筋細胞の特徴が示されており^{37,38}, P, S, およびKでは高いカウント数を、Na, Mg およびCaでは低いカウント数が示された(図3)。これらの元素は分析器に組み込まれたコンピュータにより定量化され、その結果を表3に総括した。プローブの直径は5~10 μm であり、核や細胞膜の近くの部位をさけて分析することで1個の細胞全体に含まれるイオン環境を得ることができる^{26,27}。

各筋からは3~5個の水晶形成の少ない細胞が分析された。緩筋(SOL)および速筋(EDL), 運動負荷の種類にかかわらずすべての測定値間に有意な差は認められなかった。しかし、Kの濃度はSOLの運動負荷群において減少する傾向にあった。分析された細胞はSO, FOG, FGのどのタイプの筋線維であるかは判定できないが、今回用いたenduranceおよびsprintのトレーニングプロトコルでは元素分析結果からみた細胞内イオン環境にまで変化を及ぼすことはなかった。

考 察

組織染色で得られた像および樹脂包埋から得られた1 μm 薄切像を対比しながら同一筋線維を発見するためには、大きな血管, 筋紡錘を目標とすると同時に筋の周辺の部分を選ぶことで可能になる^{7,36}。今回の研究においてもあらかじめ分類された2あるいは3種類の筋線維を超微細形態学的に検索することにより、これまでの報告より^{7,36}さらに詳細な結果を得ることができた。すなわちSOLおよびEDLの各筋の2種および3種類の筋線維の運動に対するそれぞれの影響をみることができる。

Endurance群のSOLにおけるSOおよび

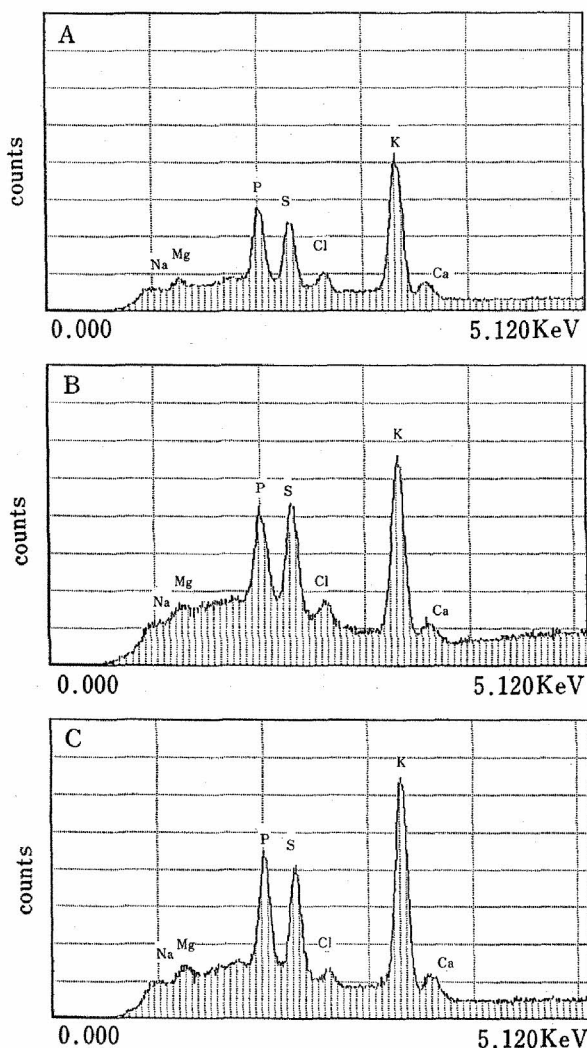


図3 X-ray spectra of EDL muscles. A: sedentary control, B: endurance-trained, C: sprint-trained, KeV: kilo electron volts

表3 The elemental composition of the whole fibers of SOL and EDL from the sedentary, endurance-, and sprint- trained rats.

element	sedentary control		endurance-trained		sprint-trained	
	SOL	EDL	SOL	EDL	SOL	EDL
	(n=3)		(n=3)		(n=3)	
Na	76± 23	80± 19	60± 33	75± 23	63± 35	88± 16
Mg	23± 11	24± 9	18± 15	25± 9	33± 11	27± 12
P	550±105	520± 98	487± 90	510±109	520±115	495±120
S	423± 80	450± 95	401± 85	475± 83	469± 79	446± 96
Cl	65± 12	55± 23	75± 25	69± 27	65± 19	72± 21
K	880±115	750±130	690±130	863±159	714±196	764±133
Ca	3± 2	4± 3	3± 4	5± 2	3± 3	4± 2

mmole/kg dry weight (mean±S.D.)

FOG のミトコンドリア容量の増加は、その数の増加 (FOG 線維において) とともに酸化能力の上昇を示唆するものである^{14,18)}。EDL では sprint 群でミトコンドリア容量が増加し、いずれも FOG 線維の運動負荷による影響が明瞭に出現している。これらの特徴は、3 種類の筋線維を決定した後の単一筋線維を用いて固定した電子顕微鏡による検索の結果とも一致するものであった²⁸⁾。

Endurance あるいは sprint の運動負荷によって筋線維タイプ間の transition が生ずる可能性^{9,10)} を否定できないが、たとえミトコンドリア量がコントロール群の7%から10%あるいは13%増えたとしても、すなわち transition にするための必要条件の一つになったとしても、その増加分はコントロール群に含まれるミトコンドリア量 (13%) よりも低値を示す (表1)。

Takekura と Yoshioka³⁰⁾ によれば、SO, FOG および FG の酸化系酵素活性値 および 解糖系酵素活性値の特徴をそれぞれの筋細胞で添えているものの、それらの間には、大きなバラツキが存在し、酵素活性値はある範囲内でオーバーラップしているという。

今回の実験では3種類の全筋線維数を SOL お

よび EDL において計測していないことから、筋線維の相互間における transition の可能性については言及できないが、しかし酵素染色による染色性の強度より、いわゆる FOG の亜型⁷⁾とも考えられる筋細胞の発現は上述のことを示唆するものである。すなわち運動負荷刺激により FOGは、より FOG としての機能を有するものに変遷すると考えられる。また EDL の SO ではその筋線維総数は5~8%と極めて少なく¹⁾、運動その他の負荷による反応は少ないと考えられる。

FG の両群によるミトコンドリアへの反応は少なかったということから、FG は解糖系酵素活性優位の筋線維であり、主に相動的筋力発揮の効率を収縮系蛋白の増量などで行っているものであろう⁵⁾。SO あるいは FOG の細胞内ミトコンドリアは筋鞘付近や細胞核近くに集合している場合が多いが、図1にも示されるように運動負荷後の筋細胞ではより顕著となった。

ミトコンドリアの増量が酸化系酵素活性値の亢進の結果であるとすれば、その存在が筋鞘付近にそして血管と位置的に近い方が物質を運搬する際、物理的に都合がよいと考えられる。実際、SO および FOG の周囲には血管数が多い³¹⁾。われわれの測定は細胞内部のミトコンドリアを対象

としたが、筋鞘付近のものまで分析するとすれば、さらに高い値の結果が得られるものと考えられる。

筋細胞 1 本あたりのミトコンドリア容量は Weibel^{34,35)}, Eisenberg⁷⁾らにより報告されているが、われわれの結果とほぼ一致する。しかし彼らは、SOL および EDL としての測定結果であり筋線維タイプレベルではない。ちなみに EDL では約 9.4% であり、彼らの 7.1% より高いが、これは EDL 中に含まれた数少ない SO の高いミトコンドリア容量を単純に平均したためであり、EDL 全体としては、6~7% を占めるものと考えられる。一方 SOL では 9.8% であり彼らの結果の上限を示している。

EPMA によって得られた筋細胞の元素分析結果では各群間に有意な差はなかった。2 種類 (SOL) あるいは 3 種類 (EDL) の筋細胞のどれを分析しているのか方法上判定は困難であるが、細胞内のイオン環境としてはいかなる条件下でも動的に平衡が作られており、元素濃度が顕著に変動することはないと考えられる²⁶⁾。

しかし、細胞内小器官であるミトコンドリア、筋小胞体あるいは核に局在するそれらの濃度は、収縮、弛緩、拘縮などの条件で変動するが細胞全体ではほぼ一定である²⁷⁾。有意差はないものの K^+ の濃度が運動負荷群の SOL において低値を示したことは、細胞膜内外の $Na-K$ 交換によるものか、あるいはその 1 部がミトコンドリアに取り込まれたために生じたものか不明であるが、もし後者であれば K^+ とともに H_2O の移動が生じミトコンドリアを膨化をさせる 1 つの要因となり得る¹⁸⁾。またミトコンドリアは膜構造リン脂質が多いため P の濃度が高く、K は低い²²⁾。

今回の分析ではミトコンドリアの結果は得られていないが、ミトコンドリア内 K 濃度の上昇があるとすれば今後の研究課題として極めて興味深い。Lynn と Brown¹⁹⁾ は大きな分子量の陰イオン

(リン酸、硫酸、硫酸塩など) の影響でミトコンドリアの swelling を生じ、かつ機能的にも酸素取り込み能力が上昇していると報告し、このプロセスには膜表面 Ca^{2+} , Mg^{2+} , ATP が modulate としているという。

その他細胞内ミトコンドリア容量の増大³⁾ は hypoxia²⁴⁾, anoxia²¹⁾, pH の低下⁴⁾ などによっても引き起こされ、運動負荷条件では筋の血流増加とともにこれらの状態が生じているものと考えられる。また、持久的運動により慣性的な ATP の減少とその結果生じた ADP や AMP の核酸および無機リンが刺激となりミトコンドリアを swelling させるという報告もある¹⁷⁾。

さらに持久的トレーニングにおいては elastic の特性に変化を来し stiffness が上昇することや⁹⁾、解糖系酵素、たとえば LDH などの活性の低下、あるいは酸化系酵素の SDH の上昇、cytochrome C 活性の上昇²⁾ が細胞内環境を変化させ、それが刺激となってミトコンドリアの増大、増加という現象につながるのかもしれない。いずれにしても、細胞内の環境の変化は、いち早くミトコンドリアの機能や形態に反映されるものと考えられる。

以上の結果から、今回用いた運動負荷刺激により SOL では FOG および SO 線維、EDL では FOG 線維のミトコンドリア容量が増加し、酸化系能力の上昇が認められ、高持久力を備えた骨格筋の形成に対し、十分なるトレーニングプロトコールであったと結論づけられる。

文 献

- 1) Armstrong, R.B. and Phelps, R.O.; Muscle fiber type composition of the rat hindlimb. *Am. J. Anat.*, **171**: 259-272 (1984)
- 2) Benzi, G., Panceri, P., Pernardi, M.D., Villa, R., Arcelli, E., D'Angelo, L., Arrigoni, E. and Berte, F.; Mitochondria enzymatic adaptation of skeletal muscle to endurance training. *J.*

- Appl. Physiol.*, **38** : 565—569 (1975)
- 3) Bulter, W.H. and Judah, J.D.; Ultrastructural studies on mitochondrial swelling. *Biochem. J.*, **118** : 883—886 (1970)
 - 4) Cerijo-Santalo, R.; Mitochondrial swelling at acid pH. *Can. J. Biochem.*, **44** : 695—706 (1966)
 - 5) Close, R.I.; Dynamic properties of mammalian skeletal muscles. *Physiol. Rev.*, **52** : 129—197 (1972)
 - 6) Costill, D.L., Daniels, J., Evans, W., Fink, W., Krahenbuhl, G. and Saltin, B.; Skeletal muscle enzymes and fiber composition in male and female track athletes. *J. Appl. Physiol.*, **40** : 149—154 (1976)
 - 7) Eisenberg, R.B.; Quantitative ultrastructure of mammalian skeletal muscle, in Handbook of Physiology, American Physiological Society, Bethesda, M.D., pp. 73—112 (1983)
 - 8) Gollnick, P.D. and King, D.W.; Effect of exercise training of rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, **216** : 1502—1509 (1969)
 - 9) Goubel, F. and Marini, J.F.; Fibre type transition and stiffness modification of soleus muscle of trained rats. *Pflügers Arch.*, **410** : 321—325 (1987)
 - 10) Green, H.J., Reichmann, H. and Pette, D.; Fibre type specific transformations in the enzyme activity pattern of rat vastus lateralis muscle by prolonged endurance training. *Pflügers Arch.*, **399** : 216—222 (1983)
 - 11) Guth, L. and Samaha, F.J.; Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. *Exp. Neurol.*, **28** : 365—367 (1970)
 - 12) Henriksson, J. and Reitman, J.S.; Quantitative measures of enzyme activities in type I and type II muscle fibres of man after training. *Acta Physiol. Scand.*, **97** : 392—397 (1976)
 - 13) Hickson, R.C., Heusner, W.W. and Van Huss, W.D.; Skeletal muscle enzyme alterations after sprint and endurance training. *J. Appl. Physiol.*, **40** : 868—872 (1976)
 - 14) Holloszy, J.O.; Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory activity in skeletal muscle. *J. Biol. Chem.*, **242** : 2278—2282 (1967)
 - 15) Holloszy, J.O. and Booth, F.W.; Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. *Ann. Rev. Physiol.*, **38** : 273—291 (1976)
 - 16) Komi, P.V., Viitasalo, J.H.T., Vos, J. and Vihko, M.; Anaerobic performance capacity in athletes. *Acta Physiol. Scand.*, **100** : 107—114 (1977)
 - 17) Laugens, R.P. and Gonez-Dumm, C.L.; Deoxyribonucleic acid synthesis in the rat heart mitochondria after acute and exhaustive exercise. *Experientia*, **24** : 163—164 (1968)
 - 18) Lehninger, A.T.; H₂O uptake and extrusion by mitochondria in relation to oxidative phosphorylation. *Physiol. Rev.*, **42** : 467—517 (1962)
 - 19) Lynn, W.S. and Brown, R.H.; Role of anions in mitochondrial swelling and contraction. *Biochim. Biophys. Acta*, **110** : 445—458 (1965)
 - 20) Nachlas, M.M., Tsou, K.C., Sauza, E.D., Cheng, C.S. and Seligman, A.M.; Cytochemical demonstration of succinate dehydrogenase by the use of a new-nitrophenyl substitute diterazole; *J. Histochem. Cytochem.*, **5** : 420—436 (1957)
 - 21) Oudea, P.R.; Anoxic changes of liver cells. Electron microscope study after injection of colloidal mercury. *Lab. Invest.*, **12** : 386—394 (1963)
 - 22) Packer, L., Wrigglesworth, J.M., Fortes, P.A.G. and Pressman, B.C.; Expansion of the inner membrane compartment and its relation to mitochondrial volume and ion transport. *J. Cell Biol.*, **39** : 382—391 (1968)
 - 23) Peachey, L.D.; A simple digital morphometry system for electron microscopy. *Ultramicroscopy*, **8** : 253—262 (1982)
 - 24) Pelosi, G. and Agliati, C.; The heart muscle in functional overloaded and hypoxia. *Lab. Invest.*, **18** : 86—93 (1968)
 - 25) Peter, J.B., Barnard, R.J., Edgerton, V.R., Gillespie, C.A. and Stempel, K.E.; Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pig and rabbits. *Biochem.*, **11** : 2627—2633 (1972)
 - 26) Somlyo, A.P., Somlyo, A.V. and Shuman, H.; Electron probe analysis of vascular smooth muscle: composition of mitochondria, nucleus

- and cytoplasm. *J. Cell Biol.*, **81** : 316—335 (1979)
- 27) Somlyo, A.V., Gonzalez-Serratos, H., Shuman, H., McClellan, G. and Somlyo, A.P.; Calcium release and ionic changes in the sarcoplasmic reticulum of tetanized muscle: an electron probe study. *J. Cell Biol.*, **90** : 577—594 (1981)
- 28) 竹倉宏明, 玉木哲朗, 吉岡利忠, 中野昭一; 走運動が異なるタイプの単一筋線維超微細構造に及ぼす影響について, 第42回日本体力医学会大会予稿集, p. 262 (1987)
- 29) 竹倉宏明, 田中弘之, 小野三嗣, 春日規克; ラット骨格筋線維のトレーニング効果に関する研究—組織化学的, 生化学的手法を用いての検討—, 体力科学, **34** : 276—283 (1985)
- 30) Takekura, H. and Yoshioka, T.; Determination of metabolic profiles on single muscle fibres of different types. *J. Muscle Res. Cell Motility*, **8** : 342—348 (1987)
- 31) Takekura, H. and Yoshioka, T.; Effects of acute endurance exercise on the metabolic profiles of rat skeletal muscle. in preparation
- 32) Takekura, H. and Yoshioka, T.; Exercise training increases glycolytic and oxidative enzymes activities in single skeletal muscle fibre of different types. *J. Physiol. (Lond.)*, submitted (1987)
- 33) Tamaki, N.; Effect of endurance training of muscle fiber type composition and capillary supply in rat diaphragm. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **56** : 127—131 (1987)
- 34) Weibel, E.R.; Stereological methods. I. in Practical methods for biological morphometry. New York, Academic Press (1979)
- 35) Weibel, E.R.; Stereological methods. II. in Theoretical foundations, New York, Academic Press (1980)
- 36) Yoshioka, T. and Narusawa, M.; Population of muscle fibers during postnatal development in the rat hindlimb. *Tokai J. Exp. Clin. Med.* **7** : 173—180 (1982)
- 37) Yoshioka, T. and Somlyo, A.P.; Calcium and magnesium contents and volume of the terminal cisternae in caffeine-treated skeletal muscle. *J. Cell Biol.*, **99** : 558—568 (1984)
- 38) Yoshioka, T. and Somlyo, A.P.; The effects of quinine on the calcium and magnesium content of the sarcoplasmic reticulum and the temperature dependence of quinine contracture. *J. Muscle Res. Cell Motility*, **8** : 322—328 (1987)