廃用性筋萎縮に及ぼす高蛋白食摂取ならびにアナボリックステロイド投与の影響

東京慈恵会医科大学　山内秀樹
（共同研究者）同　米本恭三

Effects of High Protein Diet and Anabolic Steroid Administration on Skeletal Muscle Atrophy Induced by Hindlimb Suspension in Rats

by

Hideki Yamauchi, Kyozo Yonemoto

Sports Medicine Laboratory, The Jikei University School of Medicine

ABSTRACT

The effects of dietary protein levels and anabolic steroid administration (stanozolol, 10 mg/kg body weight per day) on alterations in some properties of rat soleus and plantaris muscle by hindlimb suspension (3 weeks) were studied. Female rats were assigned to six groups : control (CONT), suspension (SUS), suspension with ababolic steroid treatment (SUS+AS) for 20%-casein and 30%-casein diet respectively. Wet weight and maximum tetanic tension (P_{max}) in both muscles decreased considerably by SUS. In only soleus, specific tension (P_{max}/muscle cross sectional area) decreased. This result indicates lower myofibrillar protein cocentration and higher interstitial fluid volume in SUS than in CONT.

The decrease in twitch duration and fatigability in soleus were induced by SUS, but not in plantaris. Inhibitory effects of AS on the loss of weight and Pmax were found, particularly in fast—twitch plantaris. This observation supports the evidence that AS may have fiber—type specific effects. In suspended soleus fibers, however, cen-

tral corelike lesion and disruption of intermyofibrillar networks were observed. The percent change of these aberrant fibers was significantly higher in 20%-casein SUS than in 20%-casein SUS+AS, 30%-casein SUS and SUS+AS. These results suggest that the higher protein diet and AS diminished the pathological changes. No effects of AS were observed on twitch duration and fatigability.

We provided some evidence to suggest that anabolic steroids during unweighting ameliorate the loss of weight and force—generating capacity in skeletal muscle, regardless of the amount of dietary protein which is required for growth and maintenance of muscle in the present study.

要　旨

後肢懸垂による骨格筋の重量ならびに収縮機能の変化に及ぼす摂取蛋白量の違い，ならびにアナボリックステロイド投与の影響を検討した．3週間の後肢懸垂によりヒラメ筋，足底筋重量は著しく減少し，それに伴う最大筋力の低下が観察された．ヒラメ筋においてのみ筋断面積あたりの最大筋力の低下が観察され，これは筋線維の崩壊を含む筋原線維蛋白量の低下や細胞間液量の相対的な増加に起因するものと考えられた．

アナボリックステロイドは後肢懸垂による筋重量，ならびに最大筋力の減少を抑制する効果を示し，とくに速筋の足底筋において大きな効果が見られた．単縮の時間経過の短縮がアナボリックステロイド投与と同様，懸垂ヒラメ筋において認められたが，足底筋では変化が見られなかった．

疲労耐性は，後肢懸垂により増加する傾向を示し，アナボリックステロイドの影響は見られなかった．今回用いた飼料の摂取蛋白量の影響は収縮機能には差は見られなかったが，高蛋白摂取はヒラメ筋内の異常な筋線維比率の増加や染色性の低下を抑制する結果が得られた．

以上の結果から，筋萎縮進行過程における筋蛋白合成促進刺激は骨格筋の萎縮や崩壊を軽減し，筋力の低下を抑制することが示唆された．しかし，後肢懸垂による骨格筋の変化およびそれに及ぼすアナボリックステロイドの効果に対して，必要量以上の摂取蛋白量の違いによる影響は少ないと思われた．

緒　言

後肢懸垂，すなわち体重支持活動をなくすことにより，とくに抗重力筋の顕著な萎縮が生じ，筋力の低下など収縮機能の低下も引きおこされる．筋萎縮は疾病などによる長期臥床や老化に伴う活動量の減少によっても引きおこされ，日常散見される現象である．このような筋萎縮進行過程において筋萎縮を軽減することは，筋萎縮刺激解除後の生理的な筋の重量ならびに収縮機能の回復を早めると考えられる．したがって，筋萎縮に対する防止法を検討することは重要であると思われる．

筋萎縮は相対的に筋蛋白質の合成に比べ，分解が亢進した状態でおこる[25]と考えられ，筋蛋白の分解が増加する条件下で，合成を高める刺激を与えることにより筋萎縮は抑制されることが予想される．このような観点から，後肢懸垂期間中の運動負荷[7,11]や強制的な筋収縮[2]，さらにはアナボ

リックステロイド（anabolic steroid；以下AS）投与[24]の筋萎縮に対する効果が検討されており，程度は様々であるが，筋萎縮を軽減することが報告されている．しかし，筋の構成成分である蛋白質の摂取量の違いが筋萎縮の程度やASの筋萎縮軽減効果に及ぼす影響については明らかではない．

そこで本研究では，後肢懸垂による筋萎縮や収縮機能の変化ならびにASの筋萎縮軽減効果に対して摂取蛋白量の違いがいかなる影響を及ぼすかについて検討を試みた．

1. 研究方法

1．1　実験動物および飼育

F 344系雌ラットを16週齢において，蛋白質含量の異なる2つの飼料（20% casein および30% casein）摂取群に分け，さらに対照群，後肢懸垂群，後肢懸垂＋AS投与群に分け，計6群とし，1群につき5～7匹の動物を割り当てた．飼育に用いた固形飼料の組成を**表1**に示した．小動物を用いた実験で30%以上の蛋白質含量の飼料は高蛋白食と考えられる[12]．後肢懸垂期間は3週間とした．各群の懸垂期間中の摂取量を同一にするため，摂取量を毎日測定し，対照群および後肢懸垂＋AS群は摂取量の最も低い懸垂群と同じ摂取量で飼育された．なお各群の給水は自由とした．

表1　Composition of diet (g/100g)

Ingredient	20%casein	30%casein
Casein	20	30
Cornstarch	58	48
Cellullose	8	8
Corn oil	6	6
Mineral mixture	6	6
Vitamin mixture	2	2
Total energy (kcal/100g)	366	366

1．2　AS投与

ASには男性化作用の少ないstanozolol（17β-hydroxy-17α-methylandrostano〔3，2-c〕pyrazole, 山之内製薬）を用い，市販のコーン油に溶解し，体重1kgあたり10mgの割合で1日1回，腰部皮下注射にて投与した．

1．3　張力測定

懸垂期間終了後，pentobarbital sodium麻酔下，血流供給を保った状態で右足底筋およびヒラメ筋の等尺性収縮特性を間接極大電気刺激（持続時間0.1 msの矩形波）により測定した．刺激電極は双極銀塩化銀電極を用いた．測定中，被検筋はリンゲル液中に浸漬された．リンゲル液は37±1℃に維持され，95% O_2，5% CO_2の混合ガスにて飽和された状態を保った．また毎分20 mlの割合でペリスタットポンプにより新しいリンゲル液と交換された．

筋長は最大単縮張力が得られる長さ（L_0）に固定した．測定項目は単縮の収縮・弛緩時間，最大強縮張力，疲労耐性とした．疲労耐性は刺激間隔25 msで13パルスの刺激を毎秒1回の頻度で反復刺激し，最高張力に対する2分後の相対張力を指標とした．一連の張力測定終了後，L_0を計測した後，両後肢の足底筋とヒラメ筋を摘出，秤量し，イソペンタン中で瞬間凍結させた．

筋断面積は以下の式から算出された．

筋断面積（cm^2）＝

$$\frac{\text{筋湿重量(g)}}{L_0(\text{cm})\times\text{筋長・筋線維長比}^*}$$

＊ヒラメ筋では0.5[18]，足底筋では0.37[19]

1．4　筋線維タイプの分類

張力測定を行っていない左側の足底筋とヒラメ筋について，－20℃のクリオスタット内で筋腹部の連続切片を作成し，pre—incubation pH 4.3，4.6，10.4のmyosin ATPase染色を施した．pre—incubation pH 10.4ではpre—incubationに先立ち，4℃の5%パラホルムアルデヒド

(pH 7.6) 溶液中で5分間固定した[15]．得られた標本から筋線維をtype Ⅰ，ⅡA，ⅡX，ⅡBに分類した．pH 4.3と10.4で完全なリバース反応が得られない筋線維についてはtypeⅡCとした．このタイプ分類に基づき各タイプ別に本数比を算出した．

1．5　統計処理

各群の値は平均と標準偏差であらわし，平均値の差の検定にはStudent—Newman—Keuls検定を用い，5％の危険率をもって有意とした．

2. 結　　果

2．1　体重および筋重量の変化

後肢懸垂群の体重は対照群に比べ約20％低値を示したが，後肢懸垂＋AS投与群の体重は5％の低下にすぎなかった（**図1**）．ヒラメ筋，足底筋重量は後肢懸垂による体重の減少を上回り，ヒラメ筋では約40％，足底筋では約35％の低下が見られた（**図2**）．したがって体重あたりの相対値で筋重量を比較した場合，対照群に比べ後肢懸垂群では有意に低値を示した．

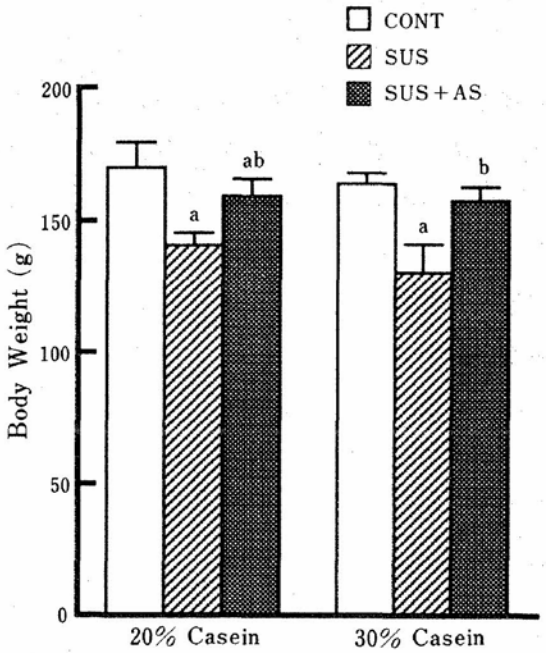

図1　Body weight of each group. CONT ; control SUS ; Suspension SUS＋AS ; Suspension with stanozolol (10 mg/kg body weight/day)
a ; P< 0.05 (CONT vs. SUS, SUS＋AS)
b ; P< 0.05 (SUS vs. SUS＋AS)

一方，後肢懸垂＋AS投与群のヒラメ筋および足底筋重量は後肢懸垂群に比べ高く，とくに足底筋重量は対照群の値に対し，わずか7％低いだけであった．これらの変化は20% casein食および30% casein食ともに同じ傾向を示した．

2．2　収縮機能の変化

後肢懸垂群および後肢懸垂＋AS投与群において，ヒラメ筋の単縮の収縮・弛緩時間は対照群に比べ低値を示した（**図3**）．また，後肢懸垂群を異なる蛋白摂取間で比較した場合，20% casein食に比べ，30% casein食で弛緩時間の絶対値（20% casein食，39.02 ± 6.51 ; 30% casein食，25.10 ± 2.83），対照群に対する相対値（20% casein食，0.80 ; 30% casein食，0.51）ともに低い値を示し，有意差が認められた．これに対し，後肢懸垂群および後肢懸垂＋AS投与群の足底筋においては対照群と差は見られなかった．

後肢懸垂群の最大強縮張力は，両筋において著しい低下が見られ，とくにヒラメ筋では筋重量の低下率を上回るものであった（**図4**）．筋断面積あたりで除した値も後肢懸垂群のヒラメ筋では約50％の減少が観察された．後肢懸垂＋AS投与群のヒラメ筋の最大強縮張力は後肢懸垂群に比べ有意に高値を示したが，筋断面積あたりでは30% casein食においてのみ有意に高値を示した．足底筋では後肢懸垂＋AS投与群において対照群とほぼ同じ最大強縮張力が認められ，重量および筋断面積の変化と同じ傾向を示した．したがって，各群の筋断面積あたりの最大強縮張力に差は見られなかった．

ヒラメ筋において，後肢懸垂群および後肢懸垂＋AS群の疲労耐性は対照群に比べ有意に高い結果が得られた（**図5**）．後肢懸垂＋AS投与群の値は後肢懸垂群に比べ低い傾向であったが，有意差は認められなかった．足底筋に関しては各群間で

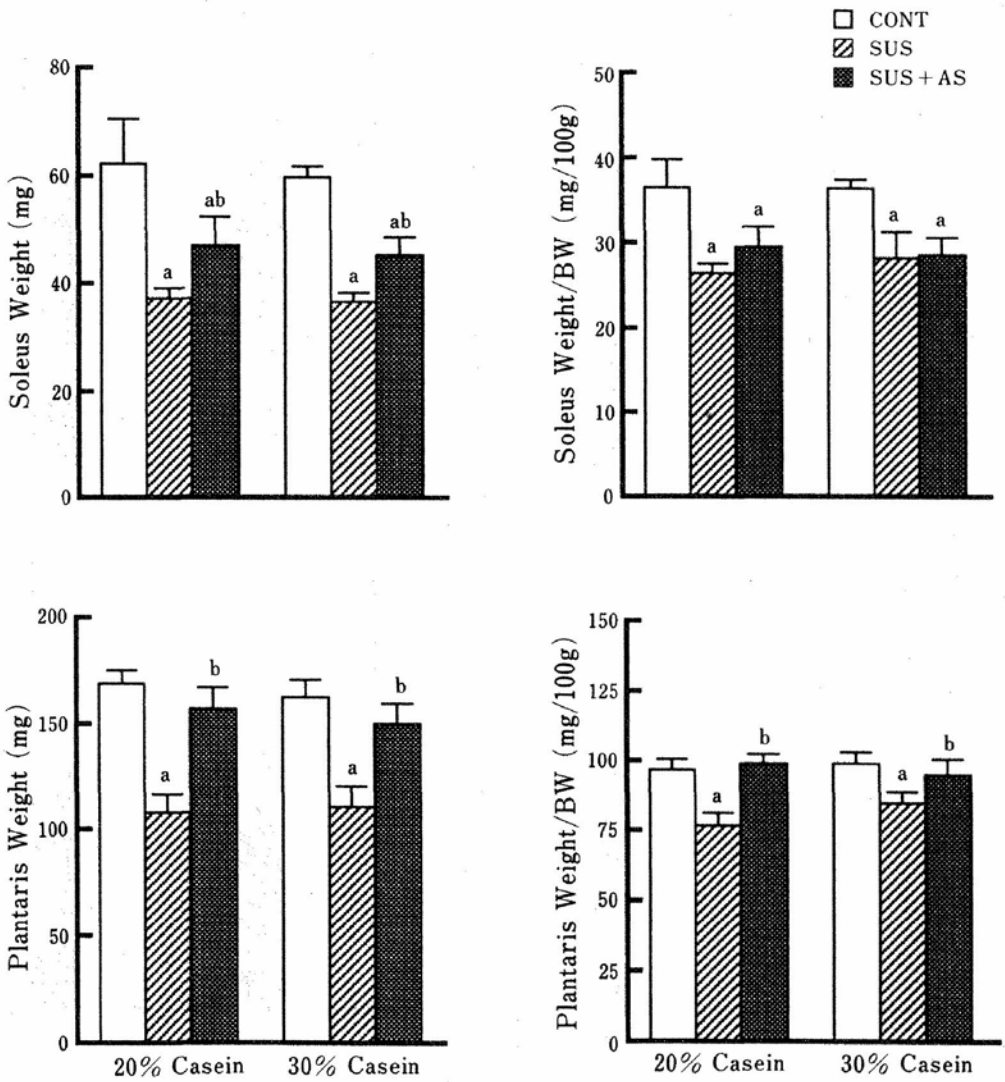

図2 Soleus and plantaris muscle weight and ratio to body weight. Abbreviations and significant symbols are the same as those in Fig. 1

有意な関係は見られなかった.

2.3 筋線維組成の変化

ヒラメ筋において，後肢懸垂群のI線維比率の低下が見られた(**図6**). 後肢懸垂群のヒラメ筋では，アルカリ前処理でまったく染色されないながらも，酸性前処理で中間的に染色される筋線維が非常に多く観察された. これらの筋線維は，通常のI線維の染色パターンとは異なるため本報ではIC線維として分類した.

ヒラメ筋において，後肢懸垂+AS投与群では後肢懸垂群に比べ，I線維比率が高く，IC線維比率が低い結果であった. 後肢懸垂+AS投与群のI線維比率は20% casein食に比べ，30% casein食で有意に高い結果であった. また，対照群および後肢懸垂群に比べ，IIC線維比率の増加も観察された.

足底筋においては全体的に筋線維組成の変化はわずかであったが，後肢懸垂群，後肢懸垂+AS群のI線維比率は対照群に比べ低値を示した. 一方，II線維のサブタイプの比率に差は見られなかった.

3. 考　察

後肢懸垂による骨格筋重量の減少はとくに抗重

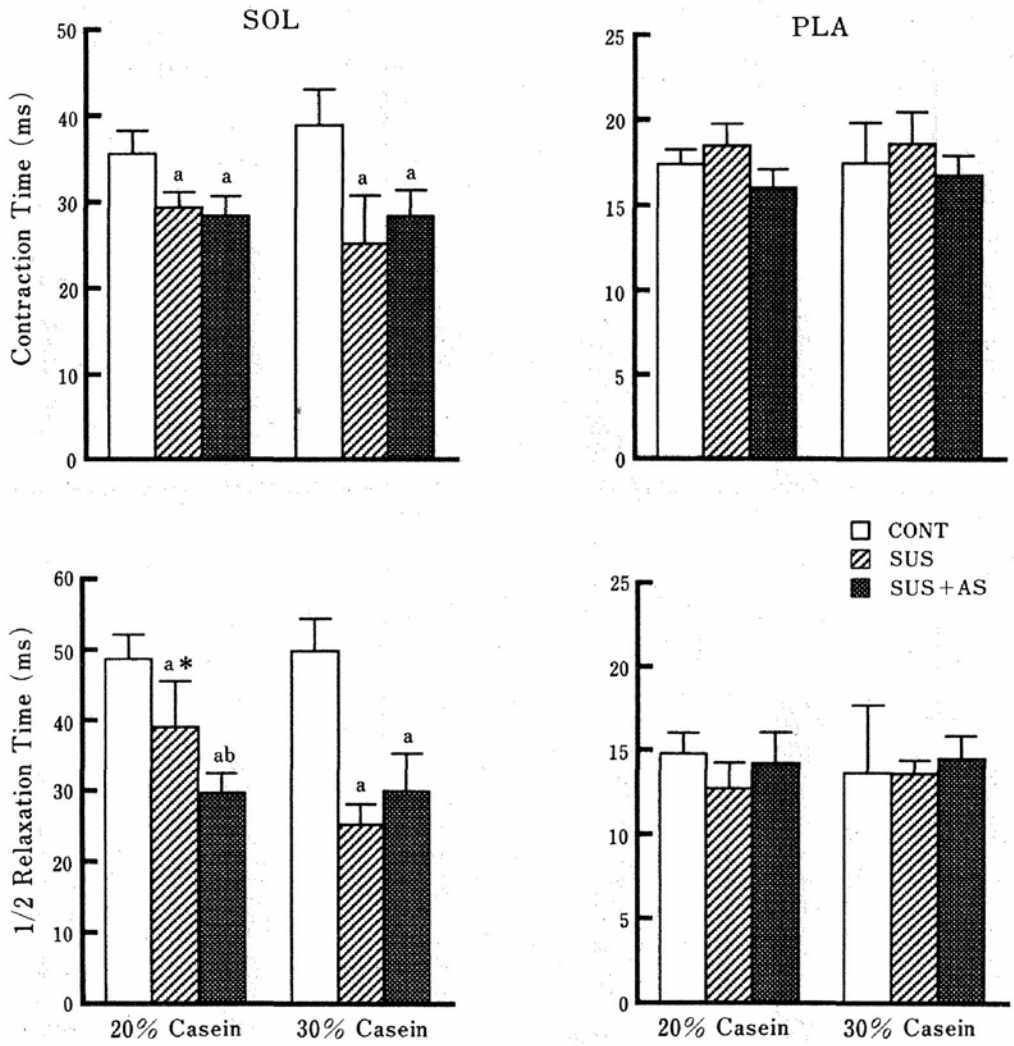

図3 Twitch contraction and relaxation time of soleus and plantaris muscle. Abbreviations are the same as those in Fig. 1
a ; P< 0.05 (CONT vs. SUS, SUS+AS) b ; P< 0.05 (SUS vs. SUS+AS)
＊; P< 0.05 (20% casein SUS vs. 30% casein SUS, SUS+AS)

力筋において顕著におこることが過去の多くの報告により示されており，本研究でもヒラメ筋，足底筋重量の著しい低下が認められた．しかし，両筋の重量の減少率はほぼ同じであったが，収縮機能や筋線維組成の変化に対する後肢懸垂の影響は，足底筋に比べヒラメ筋で顕著であった．

ほとんどがtype Ⅰ線維で構成されるヒラメ筋において，約50%のspecific tension（筋断面積あたりの最大強縮張力）の低下が観察されたが，足底筋では変化は見られなかった．後肢懸垂の足底筋には観察されなかったが，ヒラメ筋ではRiley[17]らが指摘するcentral corelike lesionや筋原線維間網（intermyofibrillar network）の乱れが観察された（**図7**）．**図8**にこれらの異常な筋線維を観察した筋線維に対する本数比で示した．対照ヒラメ筋にもまれに壊死線維が観察されたが，1%に満たないものであった．しかし，後肢懸垂ヒラメ筋にはとくに20% casein食では約半数の筋線維に異常が認められ，筋原線維の崩壊を含む筋原線維蛋白量の減少が引きおこされたものと考えられる．

また，kandarianら[14]は後肢懸垂により，筋重

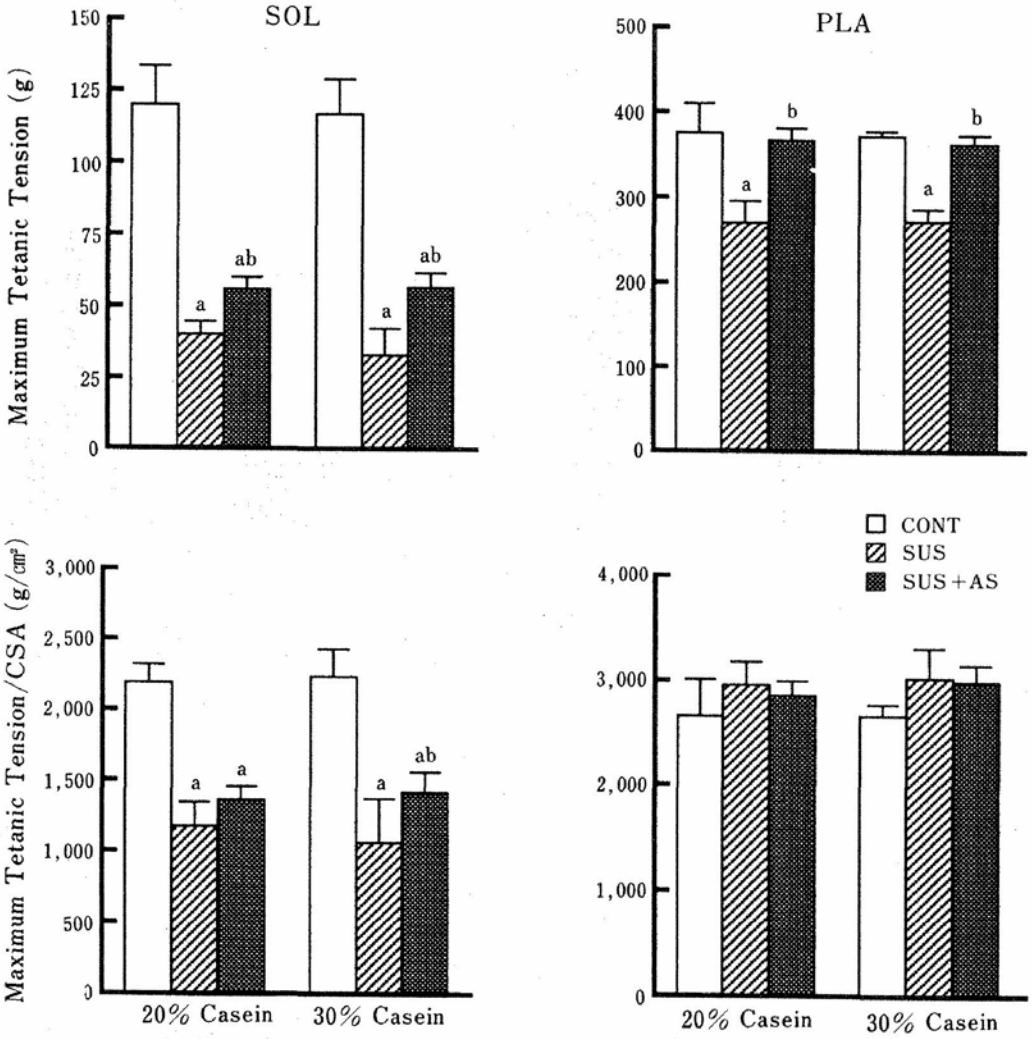

図4 Maximum tetanic tension and specific tension of soleus and plantaris muscle. Abbreviations and significant symbols are the same as those in Fig. 1

量あたりの細胞間液量の増加がおこることを報告しており，その増加は遅筋のヒラメ筋においてのみ観察され，速筋（長趾伸筋，足底筋，腓腹筋）では観察されないことが示されている[10,22]．このような筋内構成成分の変化，すなわち相対的な筋原線維蛋白量の減少と細胞間液量の増加がヒラメ筋に顕著に生じ，specific tension の減少が引きおこされたと考えられる．

一方，AS投与の筋重量および筋力発揮能力に対する影響は足底筋において顕著であり，著明な萎縮軽減効果が示された．Tsika ら[24]は雌ラットを用い，6週間の後肢懸垂期間中の AS（デカン酸ナンドロロン）投与がヒラメ筋と足底筋の重量，ならびに筋蛋白含量に及ぼす影響を検討している．彼らは，AS の萎縮軽減効果は足底筋においてのみ観察され，後肢懸垂による重量，総蛋白量，筋原線維蛋白量の低下を抑制する結果を得ている．本研究結果は，AS の蛋白合成促進効果は筋線維タイプ依存的である彼らの報告を支持する．

しかし，本研究では足底筋に対する効果には及ばないものの，ヒラメ筋に対しても AS の筋重量および最大強縮張力の低下に対する軽減効果が認められた．また，異常筋線維の割合が AS 投与や摂取蛋白量を高めた場合において減少したことは興味深い．後肢懸垂ヒラメ筋において，central

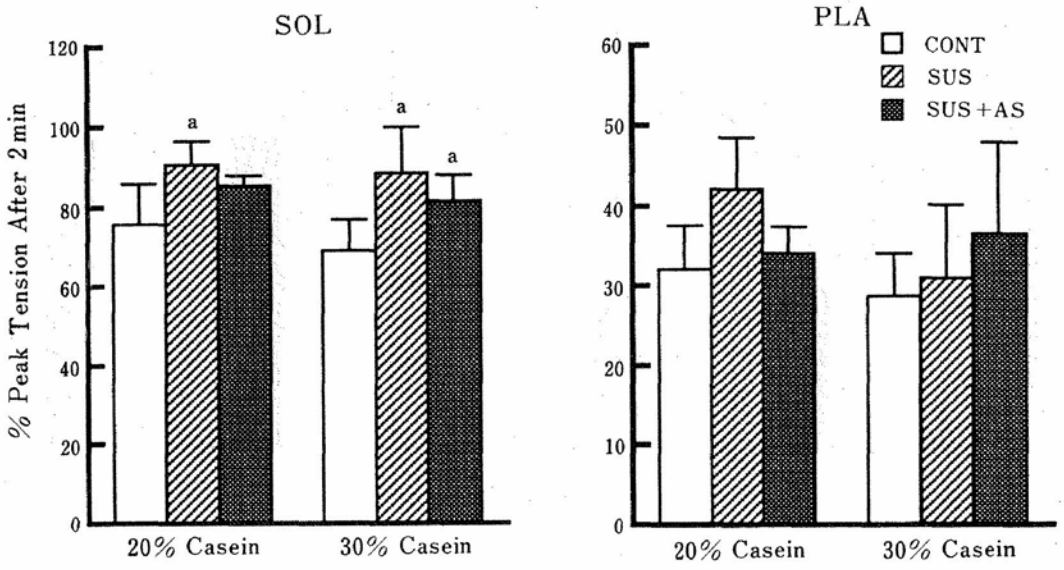

図5 Fatigue resistance of soleus and plantaris muscle. Abbreviations and significant symbols are the same as those in Fig. 1

corelike lesion や染色性の低下は萎縮率の高い筋線維に観察された．また，AS 投与によりヒラメ筋線維の萎縮は抑制されていた．したがって，AS 投与により筋原線維蛋白量の減少が抑制されたと推察される．

一方，前述した後肢懸垂による細胞間液量の変化に対する AS の影響は明らかでない．しかし，後肢懸垂によるヒラメ筋の細胞間液量の増加が，無負荷の状態での筋収縮では筋肉ポンプ作用が低下することに起因している[14]のであれば，AS 投与は細胞間液量の変化に影響を及ぼさないと推測される．後肢懸垂により筋線維の萎縮，崩壊さらには消失という過程が予想されるが[13]，蛋白合成を亢進させること，あるいは筋の構成成分である蛋白質摂取量を高めることで，その進行がある程度抑制される可能性が示された．

後肢懸垂によりヒラメ筋の単縮の時間短縮が見られたが，足底筋では変化が見られなかった（図3）．この結果はヒラメ筋の筋線維組成の変化（type Ⅰ線維比率の著しい減少）と一致する．後肢懸垂ヒラメ筋では type Ⅰミオシン重鎖の減少，ならびにⅡミオシン重鎖の増加が見られ，さらに通常含まれないⅡD（X）ミオシン重鎖アイソフォームの発現がおこることが知られている[1,23]．このミオシン重鎖タイプの変化に裏付けされた myosin ATPase 活性の上昇[16]，さらには筋小胞体のカルシウム取り込み能や遊離能の増加[21]が単縮の時間経過の短縮に起因していると考えられる．

20% casein 食の後肢懸垂ヒラメ筋において，他の懸垂ヒラメ筋に比べ，単縮の弛緩時間が長い結果は 30% casein 食の懸垂ヒラメ筋と AS 投与懸垂ヒラメ筋で単縮の時間経過に差が見られなかった結果と同様，筋線維組成の変化から説明できないものであった．20% casein 食の懸垂ヒラメ筋には，多くの異常筋線維が観察されたことが単縮の弛緩時間の延長に関与しているのかもしれない．

AS 投与は後肢懸垂ヒラメ筋の type Ⅰ線維の減少，および IC 線維の増加を抑制し，一見速筋化を抑制したかのように見える．しかし，今回 IC 線維として分類した筋線維は，アルカリ前処理ではまったく染色されない線維ではあるが，酸性前処理でも中間的にしか染色されない線維であ

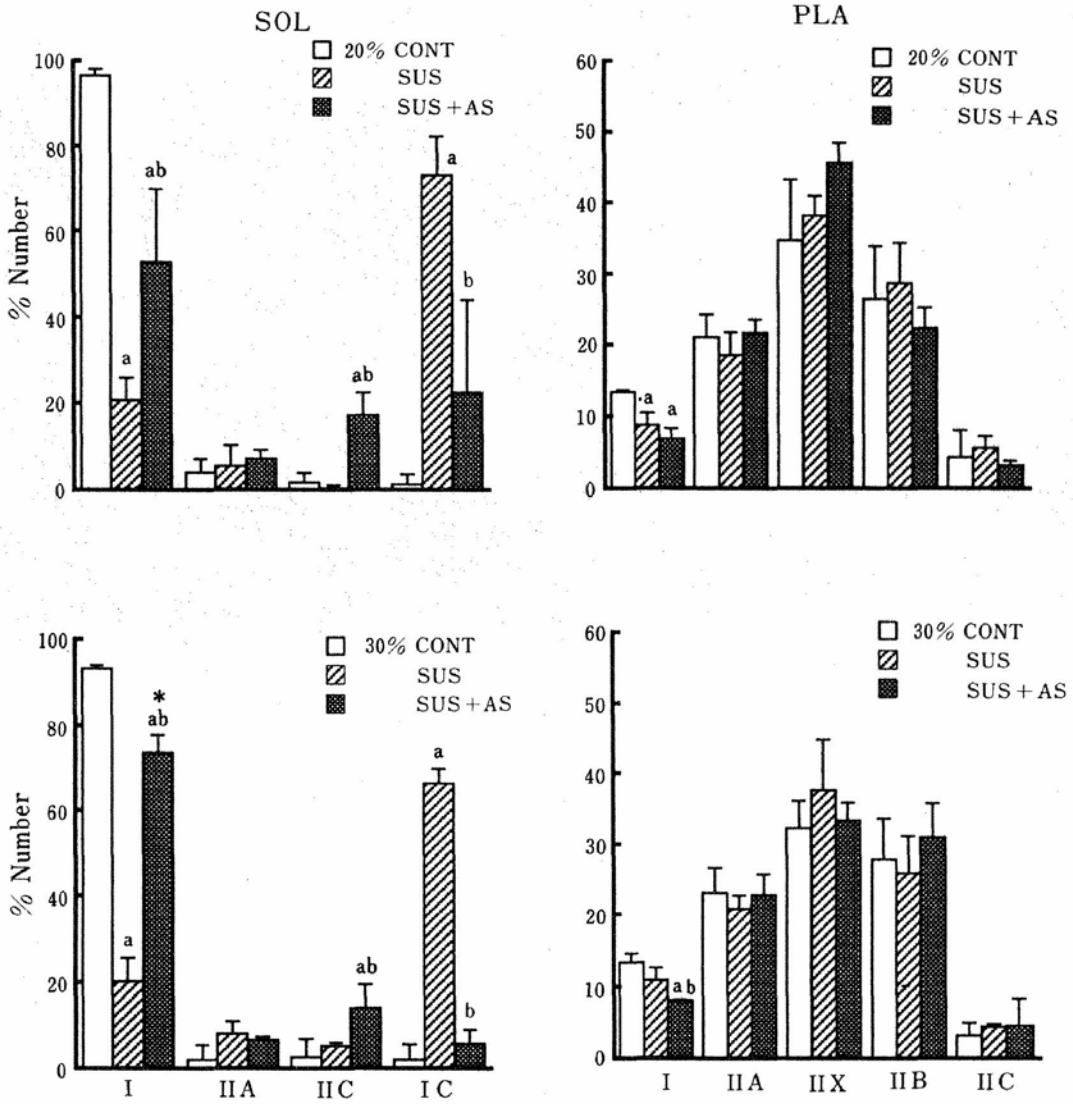

図6 Fiber type distributions of soleus and plantaris muscle.
Abbreviations are the same as those in Fig. 1
a ; P< 0.05 (CONT vs. SUS, SUS+AS) b ; P< 0.05 (SUS vs. SUS+AS)
*; P< 0.05 (20% casein SUS+AS vs. 30% casein SUS+AS)

り，これらの筋線維が生理・生化学的にどのような特性を有しているのか明らかではない．

また，アルカリ前処理で濃染されるtype IIC線維の増加を引きおこし，さらに著明な筋蛋白合成促進の見られた足底筋においては後肢懸垂によるI線維比率の低下を助長する傾向さえ見られた．ASはヒラメ筋，足底筋ともに後肢懸垂による単縮の時間経過の変化に大きな影響を示さなかった結果を考えると，ASは筋線維（ミオシン）タイプの大きな変化を引きおこさない[24]ものと思われる．

後肢懸垂ヒラメ筋において，単縮の時間経過の短縮から見ると速筋化が観察されたにも関わらず，疲労耐性の増加が認められた．この結果は，単縮の時間経過と疲労耐性は必ずしも一致した変化傾向を示すわけではないことを意味する．後肢懸垂によるヒラメ筋の酸化系酵素活性の変化は，全筋レベルで筋重量あたりで示された結果では低

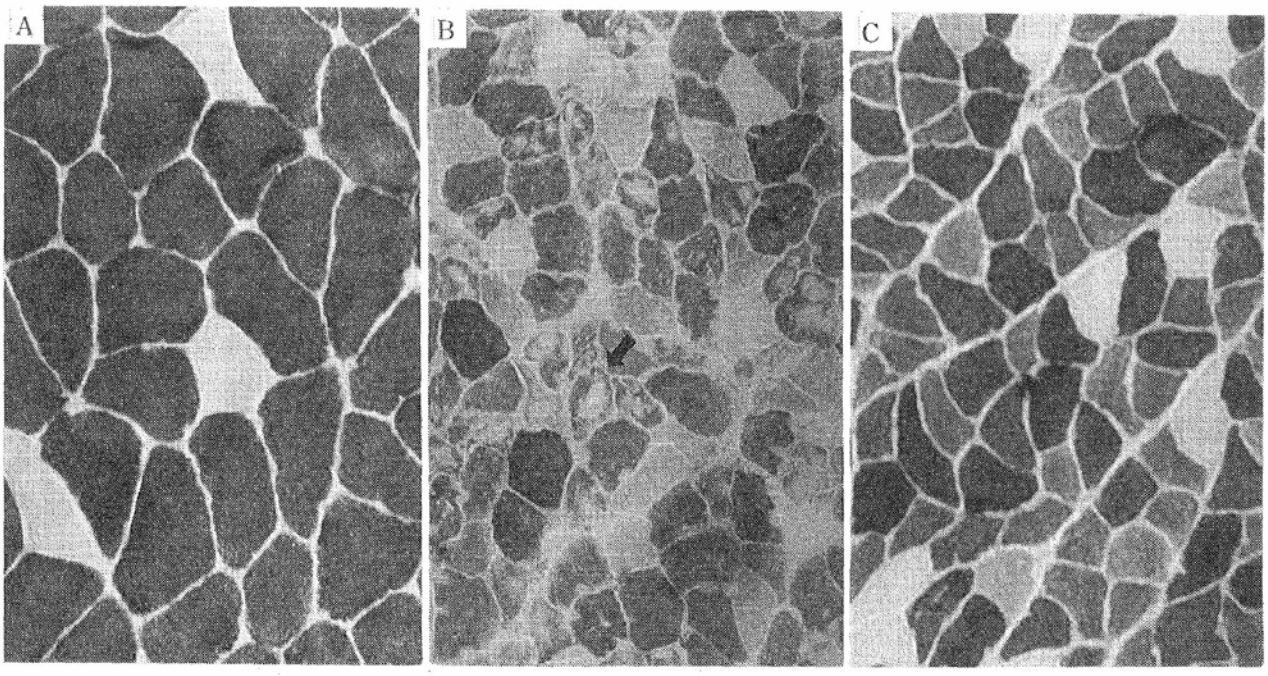

図7　Cross sections of soleus muscle fibers stained for acid myosin ATPase (pH 4.3).
A ; 20% casein control　B ; 20% casein SUS　C ; 20% casein SUS+AS. many fibers in suspended soleus show loss of staining, possess central corelike lesions (arrow head)

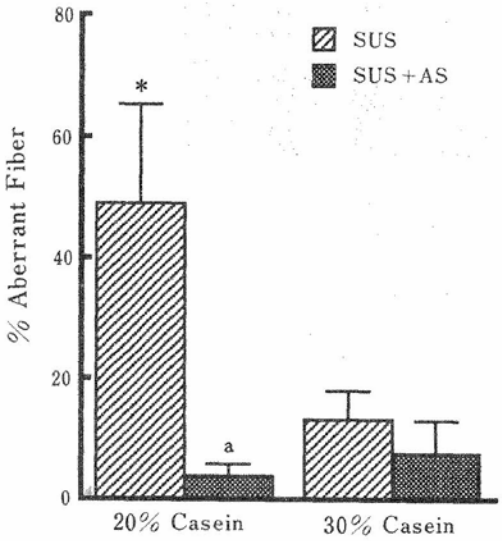

図8　Percentage of the number of aberrant fibers in soleus muscle
a ; P< 0.05 (SUS vs. SUS+AS)
*; P< 0.05 (20% casein SUS vs. 30% casein SUS, SUS+AS)

下すること[4,5,20]が報告されているが，前述した細胞間液量の増加による希釈効果が考えられ，正確に筋の有酸素的代謝能力を反映しているとは考え難い．

逆に，単一筋線維レベルの研究では酸化系酵素活性の増加が報告されており[6~9]，さらに intermyofibrillar mitochondria volume の増加，毛細血管濃度の増加も指摘されている[3]．筋力発揮を決定する筋線維断面積の減少に対し，筋力を維持するこれらの機構が増加するのであれば，疲労耐性（% peak tension）の増加がおこりうるものと推測される．

図7のヒラメ筋横断像から見ると，後肢懸垂によりヒラメ筋線維の断面積の著しい減少が見られたが，AS投与により，わずかながら抑制された．もし酸化系能力が懸垂ヒラメ筋とAS投与ヒラメ筋で差が見られなかったとしても，前者の疲労耐性の増加が予想される．実際，有意ではないが，懸垂ヒラメ筋に比べ，AS投与ヒラメ筋の疲労耐性はわずかに低い値を示している．

今後，単一筋線維の筋力を維持する能力（酸化系酵素活性や毛細血管など）と筋力発揮能力（筋

表2　Effect of hindlimb suspension on soleus and plantaris muscle

parameter	muscle	
	SOL	PLA
M.W.	↓↓	↓↓
P_{max}	↓↓↓	↓↓
P_{max}/CSA	↓↓	NE
Twitch duration	↓↓*	NE
Fatigue resistance	↑	NE
% aberrant fiber	↑*	NE

↓；decrease　↑；increase　NE；no effect
＊；differences between dietary protein levels
M.W.；muscle weight　P_{max}；maximum tetanic tension CSA；muscle cross sectional area

表3　Effect of anabolic steroid on some characteristics in soleus and plantaris muscle during hindlimb suspension

parameter	muscle	
	SOL	PLA
M.W.	−	−−
P_{max}	−	−−
P_{max}/CSA	−	NE
Twitch duration	NE	NE
Fatigue resistance	−	NE
% aberrant fiber	−	NE

−；inhibit　＋；accelerate　NE；no effect
Abbreviation is the same as those in Table 2

線維断面積，筋蛋白など）との関係から，疲労耐性の変化を検討していく必要があると思われた．最後に，後肢懸垂およびAS投与がヒラメ筋と足底筋に及ぼす影響についてその概要を**表2**および**表3**に示した．

4．まとめ

本研究では，後肢懸垂による骨格筋の萎縮に対する摂取蛋白量とアナボリックステロイド投与の影響を検討した．アナボリックステロイドは，後肢懸垂による骨格筋重量ならびに最大筋力の低下に対して抑制効果を示したが，その効果に必要以上の摂取蛋白量の違いによる影響は見られなかった．アナボリックステロイドの効果は，とくに速筋の足底筋において顕著であった．遅筋のヒラメ筋に対しても萎縮，異常筋線維の出現，さらには染色性の低下を抑制する効果が認められた．後肢懸垂により著しい機能低下が見られるヒラメ筋に対し，より効果的な防止法の開発が今後の研究課題として残された．

謝　辞

稿を終えるにあたり，本研究に対して研究助成を賜った財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に深謝いたします．

文　献

1）Campione, M., Ausoni, S., Guezennec, C. Y. Schiaffino, S.; Myosin and troponin changes in rat soleus muscle after hindlimb suspension, *J. Appl. Physiol.*, **74**, 1156－1160 (1993)
2）Kirby, C. R., Ryan, M. J., Booth, F. W.; Eccentric exercise training as a countermeasure to non−weight−bearing soleus muscle atrophy, *J. Appl. Physiol.*, **73**, 1894－1899 (1992)
3）Desplanches, D., Kayar, S. R., Sempore, B., Flandrois, R., Hoppeler, H.; Rat soleus muscle ultrastructure after hindlimb suspension, *J. Appl. Physiol.*, **69**, 504－508 (1990)
4）Desplanches, D., Mayet, M. H., Sempore, B., Flandrois, R.; Structual and functional responses to prolonged hindlimb suspension in rat muscle, *J. Appl. Physiol.*, **63**, 558－563 (1987)
5）Fell, R. D., Steffen, J. M., Musacchia, X. J.; Effect of hypokinesia−hypodynamia on rat muscle oxidative capacity and glucose uptake, *Am. J. Physiol.*, **249**, R 308－R 312 (1985)
6）Fitts, R. H., Brimmer, C. J., Herwood−Cooksey, A., Timmerman, R. J.; Single muscle fiber enzyme shifts with hindlimb suspension and immobilization, *Am. J. Physiol.*, **256**, C 1082－C 1091 (1989)
7）Graham, S. C., Roy, R. R., West, S. P., Tho-

mason, D., Baldwin, K. M.; Exercise effects on the size and metabolic properties of soleus fibers in hindlimb—suspended rats, *Aviat. Space Environ. Med.*, **60**, 226 - 234 (1989)

8) Hauschika, E. O., Roy, R. R., Edgerton, V. R.; Size and metabolic properties of single muscle fibers in rat soleus after hindlimb suspension, *J. Appl. Physiol.*, **62**, 2338 - 2347 (1987)

9) Hauschika, E. O., Roy, R. R., Edgerton, V. R.; Periodic weight support effects on rat soleus fibers after hindlimb suspension, *J. Appl. Physiol.*, **65**, 1231 - 1237 (1988)

10) Henriksen, E. J., Tischler, M. E., Woodman, C. R., Munoz, K. A., Stump, C. S., Kieby, C. R.; Elevated interstitial fluid volume in soleus muscles unweighted by spaceflight or suspension, *J. Appl. Physiol.*, **75**, 1650 - 1653 (1993)

11) Herbert, M. E., Roy, R. R., Edgerton, V. R.; Influence of one—week hindlimb suspension and intermittent high load exercise on rat muscles, *Exp. Neurol.*, **102**, 190 - 198 (1988)

12) 細谷憲政, 印南　敏, 五島孜郎編；小動物を用いる栄養実験, 第一出版, 136 - 157 (1980)

13) 伊井邦雄；骨格筋細胞の変性, 壊死, 崩壊の機序, 筋病理学, 檜澤一夫, 埜中征哉, 小沢鉄二郎編集, 文光堂, pp 51 - 61 (1989)

14) Kandarian, S. C., Boushel, R. C., Schulte, L. M.; Eleveted interstitial fluid volume in rat soleus muscles by hindlimb unweighting, *J. Appl. Physiol.*, **71**, 910 - 914 (1991)

15) Lind, A., Kernell, D.; Myofibrillar ATPase histochemistry of rat skeletal muscles : a "two—dimensional" quantitative approach, *J. Histochem. Cytochem.*, **39**, 589 - 597 (1991)

16) Mcdonald, K. S., Fitts, R. H.; Effect of hindlimb unweighting on single soleus fiber maximal shortening velocity and ATPase activity, *J. Appl. Physiol.*, **74**, 2949 - 2957 (1993)

17) Riley, D. A., Slocum, G. R., Bain, J. L., Sedlak, F. R., Sowa, T. E., Mellender, J. W.; Rat hindlimb unloading : soleus histochemistry, ultrastructure, and slectromyography, *J. Appl. Physiol.*, **69**, 58 - 66 (1990)

18) Roy, R. R., Baldwin, K. M., Martin, T. P., Chimarusti, S. P., Edgerton, V. R.; Biochemical and physiological changes in overloaded rat fast— and slow—twitch ankle extensors, *J. Appl. Physiol.*, **59**, 639 - 646 (1985)

19) Roy, R. R., Meadows, I. D., Baldwin, K. M., Edgerton, V. R.; Functional significance of compensatory overloaded rat fast muscle, *J. Appl. Physiol.*, **52**, 473 - 478 (1982)

20) Simard, C., Lacaille, M., Vallieres, J.; Enzymatic adaptations to suspension hypokinesia in skeletal muscle of young and old rats, *Mech. Ageing Dev.*, **33**, 1 - 9 (1985)

21) Stevens, L., Mounier, Y.; Ca^{2+} movements in sarcoplasmic reticulum of rat soleus fibers after hindlimb suspension, *J. Appl. Physiol.*, **72**, 1735 - 1740 (1992)

22) Stump, C. S., Woodman, C. R., Fregosi, R. F., Tipson, C. M.; Muscle glucose uptake in the rat after suspension with single hindlimb weight bearing, *J. Appl. Physiol.*, **74**, 2072 - 2078 (1993)

23) Takahashi, H., Wada, M., Katsuta, S ; Expressions of myosin heavy chain IId isoform in rat soleus muscle during hindlimb suspension, *Acta Physiol. Scand.*, **143**, 131 - 132 (1991)

24) Tsika, R. W., Herrick, R. E., Baldwin, K. M.; Effect of anabolic steriods on skeletal muscle mass during hindlimb suspension, *J. Appl. Physiol.*, **63**, 2122 - 2127 (1987)

25) 米本恭三；廃用性（不動性）筋萎縮, 筋病理学, 檜澤一夫, 埜中征哉, 小沢鉄二郎編集, 文光堂, pp 381 - 388 (1989)