

運動性筋損傷から回復後に見られる極細筋線維の機能特性

石道 峰 典¹⁾ 平野 朋 枝²⁾ 春日 規 克³⁾

THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF VERY SMALLER MYOFIBERS IN REGENERATED SKELETAL MUSCLE AFTER EXERCISE-INDUCED MUSCLE INJURY

MINENORI ISHIDO, TOMOE HIRANO and NORIKATSU KASUGA

Abstract

Markedly smaller myofibers including branched myofibers (SF) were contained in regenerated skeletal muscles. However, its functional properties are not yet sufficiently understood. The present study examined the metabolic, contractile properties and hypertrophy of SF included in rat skeletal plantaris muscles regenerated from eccentric contraction-induced muscle injury. Succinate dehydrogenase and alpha-glycerophosphate dehydrogenase activity of SF were respectively similar to that of other normal size myofibers (NF) within regenerated muscles. The shortening velocity of skinned fibers prepared from branched myofibers isolated from regenerated muscles was slightly slower than that of control muscles. In addition, the extent of glycogen depletion in SF was similar to that of NF after exhaustive running. Therefore, SF were innervated by motoneurons and recruited during the contractile activity of the skeletal muscle. No matter when the regenerated muscle was loaded by synergistic ablation, the continued existence of SF was observed. Therefore, the ability of hypertrophy in SF may be distinct from that in NF. The physiological properties of SF were similar to that of normal myofiber, except for the ability to regulate hypertrophy.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 2005, 54 : 269~278)

key word : regenerated skeletal muscle, SDH activity, α -GPDH activity, skinned myofiber, branched myofiber

I. 緒 言

筋損傷は骨格筋が過度の収縮を繰り返した場合や薬理誘発性におこる。筋損傷からの再生への形態的再構築は、損傷部位において筋衛星細胞(筋前駆体細胞)の筋芽細胞への決定、その後の筋芽細胞の増殖、分化という筋発生時と類似した過程と既存の筋線維への融合を経て、約一ヶ月後には再生筋全体として観た場合、形態的にも機能的にも回復することが報告されている¹⁾。興味深いことに、薬理誘発性筋損傷や筋活動時の伸張性収縮による筋損傷後にみられる再生筋には、通常の筋線維と比べて非常に径

の細い筋線維(SF)が出現することが報告されている^{2~4,6,7)}。このSFは中心核を持つことから新たに発生した筋線維ではなく、既存の筋線維からの枝分かれ線維であると報告されている⁵⁾。

トレーニングの過程で生じる遅発性筋痛は、筋活動時の伸張性収縮が最も大きな誘発原因であると考えられている^{8,9)}。従って、日常的に筋痛を経験するスポーツアスリートの骨格筋にも枝分かれ線維が伴われている可能性は十分に考えられる。

一方で、枝分かれ線維を伴う骨格筋では、組織化学的分析によって推定される筋組織の収縮特性と実際の筋機能の測定によって得られた収縮特性との間

¹⁾大阪体育大学大学院スポーツ科学専攻
〒590-0496 大阪府泉南郡熊取町朝代台1-1

²⁾岐阜聖徳学園大学短期大学部
〒500-8288 岐阜市中鶉1丁目38番地

³⁾愛知教育大学創造科学系保健体育講座
〒448-8542 刈谷市井ヶ谷町広沢1

Graduate school of Sport and Exercise Science, Osaka University of Health and Sport Sciences

Gifu Shotoku Gakuen University Junior College

Department of Health Sciences, Aichi University of Education

に差異を生じることが報告されている¹⁰⁾。枝分かれ線維の発生のメカニズムに関しては未だに不明確なままではあるが、再生筋では長期間に渡り頻繁に枝分かれ線維が確認されることから、その存在の生理的重要性を示唆する報告もなされている⁴⁾。しかし、枝分かれ線維自体の生理的特性に関する報告はない。本研究は、枝分かれ線維と考えられる再生筋におけるSFの生理的意味を明確にする上で重要な基礎的知見を得るため、伸張性収縮誘発性筋損傷から再生した骨格筋内に出現しているSFのエネルギー代謝酵素の活性、収縮特性、筋肥大能を検討した。

II. 方 法

実験概要

実験動物には6週齢のFischer 344系雌ラット(n=6/group)を用いた。実験に用いた被験筋は足底筋(以下PLA)とした。実験動物は昼夜逆転した12時間の明暗サイクルの飼育小屋にて餌、飲水共に自由摂取の環境下で飼育した。実験は全て生後7週齢よ

り開始した。

被験筋に対する筋損傷は、先行研究に従って^{7,11)}電気刺激とサーボモーターによる伸張性収縮によって誘導した。麻酔(Pentobarbital sodium; 60 mg/kg body weight)下にて、ラットの下腿背部皮膚上からの電気刺激(0.1 msec幅の矩形波, 刺激頻度: 140 Hz, 刺激時間: 1.5 sec)により下腿底屈筋を最大強縮させた。この際、足関節は170°程度までの底屈が起きる。刺激開始から0.5 sec後にサーボモーターにより毎秒140度の速度で足関節角度30°まで背屈させ、被験筋に対する伸張性収縮を実現した。この伸張性収縮を1分間に1回、1時間、計60回行った。本実験条件で伸張性収縮を行った場合、一横断面からの分析結果では25~44%の筋線維が損傷することが報告されている^{7,11)}。伸張性収縮実施後6週間が経過したPLAでは正常筋では観察できない細い線維(横断面積1000 μm^2 未満)が特にtype IIb線維で顕著に出現することが報告されている⁷⁾。本研究でも伸張性収縮実施6週間後に麻酔下でラットを屠殺し、速やかに被験筋を摘出し、瞬間凍結を行

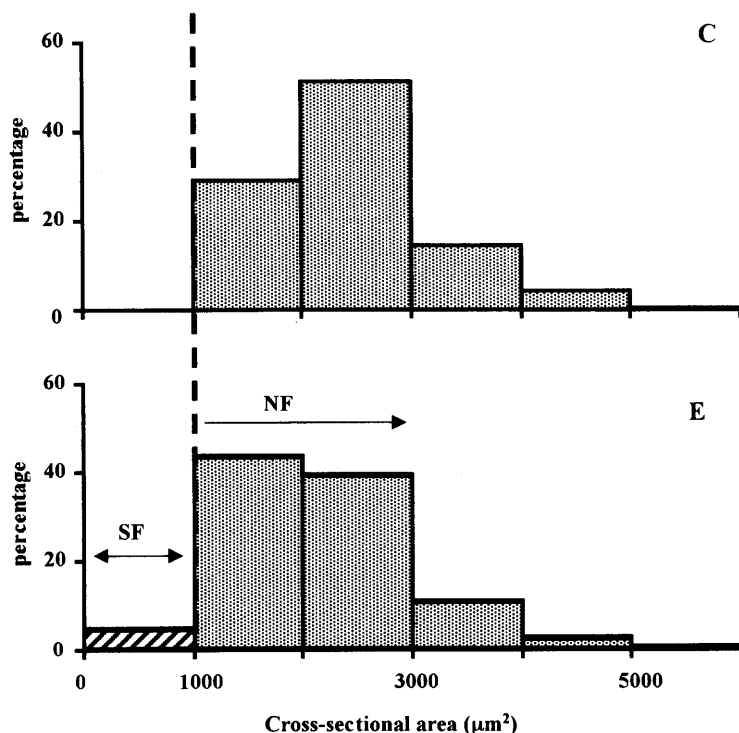


Fig. 1. Frequency distribution of cross-sectional area of type IIb myofiber in C and E group. (C) indicates control plantaris muscles, and (E) indicates regenerated plantaris muscles 6 weeks post-eccentric contraction. Type IIb myofiber sampled in E group were classified into two populations, i. e. one was the SF population whose cross-sectional area was $<1000 \mu\text{m}^2$ and the other was the NF population whose cross-sectional area was $\geq 1000 \mu\text{m}^2$. In C group, there was no SF population detected.

い筋腹から 10 μm 厚の連続横断切片を作成した後、組織化学染色を行った。先行研究⁷⁾に基づき myosin-adenosine triphosphatase (ATPase) 染色¹²⁾により type IIb 筋線維の分類を行い、succinate dehydrogenase (SDH) 染色¹³⁾を行ったサンプルから NIH image ソフトを用いて type IIb 筋線維の横断面積を算出した結果、先行研究と⁷⁾一致した結果が得られた (Fig. 1)。そこで、本研究では再生 PLA の type IIb 線維を横断面積が 1000 μm^2 未満の線維 (以下 SF) と 1000 μm^2 以上の線維 (以下 NF) とに分類し、SF の機能的、形態的特性を比較検討した。

Protocol 1: SF の ATP 再合成に関与する酸化系及び解糖系酵素活性の検討

伸張性収縮実施後、6 週間通常飼育を行ったラットを E 群とし、同週齢の対照群を C 群とした。ATPase 染色により type IIb 筋線維の分類を行い、ATP 再合成に関与する酸化系及び解糖系酵素活性を検討するため SDH 染色及び α -glycerophosphate dehydrogenase (α -GPDH) 染色¹⁴⁾をそれぞれ行った。Type IIb 筋線維の SDH 活性及び α -GPDH 活性は、先行研究^{15,16)}に基づきそれぞれ optical density (O. D.) units として評価した。各個体でサンプリングした筋線維数は、SF は一横断面で確認された全て (平均 10 本)、C 群及び NF はそれぞれ 100 本とし、その平均値を個体の各酵素活性値とした。

Protocol 2: skinned fiber による SF の収縮能の測定

伸張性収縮 6 週後の筋を弛緩液中に浸漬し、実体顕微鏡下にて枝分かれ線維を選び出した。枝分かれした細い筋線維の張力特性は、過収縮や過伸展がみられない部分、枝分かれした線維部分が含まれない

箇所において測定した。また、枝分かれが見られない太い線維を NF とした。単一筋線維は、0.1% サロニンを含む弛緩液中にて、chemically skinned fiber とした。線維両端は可動式フックに接続し、Ne-He laser を用いた光回折法により筋節長を 2.6 μm に調整した。顕微鏡下で線維を 180 度ねじり、接眼レンズに取り付けた微測計 (OSM) にて線維幅の最大と最小となる箇所の値を計測した。この最大と最小幅より楕円近似して筋線維断面積を求めた。次に筋線維の両端を半導体トランスジューサ (AE801) とドライブモータに固定し直し (筋節長 2.6 μm)、線維が浸漬する弛緩液を高濃度 Ca^{2+} の収縮液におき換え最大張力測定を行った。短縮速度の測定は slack test 法を用いた。最大収縮発揮時にドライブモータにより 3~5 種類の異なる距離にて急速解放し、最大短縮速度を求めた。張力測定に用いた溶液条件は、EGTA 4 mM, Mg-ATP 4 mM, free Mg 1 mM, Ion strength 0.2, pH 6.8, temp. 15°C とした。同週齢の対照筋から得た単一筋線維を control (C) とした。

Protocol 3: SF に対する神経支配の検討

再生筋内の SF が神経支配を受けているのかどうかを検討するために、一過性走運動後の筋線維グリコーゲンの枯渇程度を調べた。伸張性収縮後、6 週間通常飼育した群 (ER 群) と対照群 (CR 群) を小動物用トレッドミルを用いて、疲労困憊に至るまでの走運動を行わせた。実験日の 3 日前よりトレッドミルに慣れさせるため、予備走を行わせた。予備走条件は初期速度 5 m/min から最終速度 30 m/min まで漸増し、走行時間は 30~45 分とした。実験当日の走行速度は初期速度 15 m/min から最大速度 43 m/min まで漸増した。走行レーン後部にランニングを促すために設置されている刺激電極上にラットが 30 秒以上とどまり、自力でランニングを継続でき

Table 1. Relative plantaris muscle weight and mean cross-sectional area of type IIb myofiber in C and E group.

	Relative muscle weight (mg/100g body weight)	Mean cross-sectional area of type IIb myofiber (μm^2)
C	94.30 \pm 5.05	2449.73 \pm 337.31
E	91.11 \pm 4.32	2156.52 \pm 232.88

Values were expressed as means \pm SD. C, control; E, regenerated muscle 6 weeks post-eccentric contraction. There was no significant difference any parameter between the two groups.

なくなった段階で疲労困憊に至ったと判断し、走行を終了した。平均走行時間は6時間であった。走運動終了後、速やかに PLA を摘出し、瞬間凍結を行った。この時、同週齢で走運動を行わなかったE群とC群からも PLA を摘出した。Type IIb 筋線維の分類には ATPase 染色を用い、また筋線維のグリコーゲンの枯渇程度は、先行研究¹⁷⁾に従って periodic acid-Schiff (PAS) 染色サンプルに対する NIH ソフトを用いた画像解析から、optical density (O. D.) units として評価した。なお protocol 1, 3 で用いた全てのラットは実験開始24時間前から絶食させた。

Protocol 4 : SF の肥大能力の検討

SFの慢性過負荷刺激に対する適応能力を検討するため、回復筋に代償性肥大を引き起こす協働筋切除をおこなった。実験群は、生後19週齢のC群、生後13週齢時から6週間過負荷にさらしたFO群、生後7週齢時に伸張性収縮を行い、6週間後の13週齢

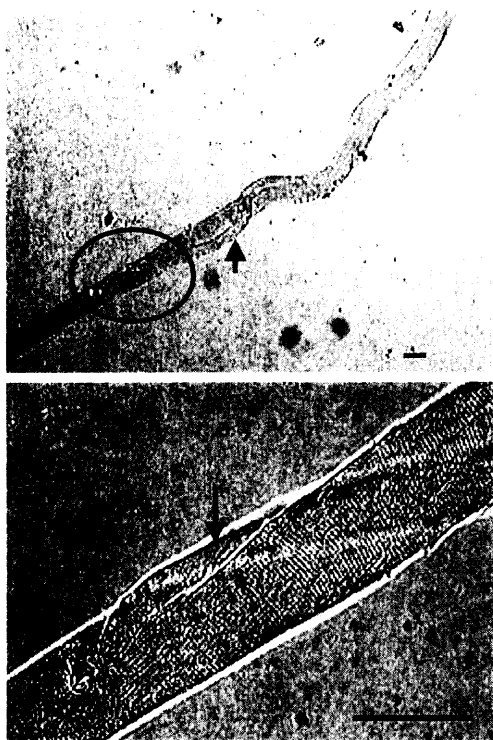


Fig. 2. Photomicrographs showing single branched myofiber isolated from regenerated plantaris muscle 6 weeks post-eccentric contraction by stereoscopic microscope. The bottom photomicrograph is a photomicrograph where the part of the circle of the upper photomicrograph was expanded. Arrows indicate branched myofibers. Bars = 100 μ m

時から6週間過負荷にさらしたEFO群とした。PLA に対する過負荷は協働筋である腓腹筋、ヒラメ筋を電気メスにより3分の2以上切除することによって実現した。6週間後の摘出筋には ATPase 染色を施し、type IIb 筋線維の横断面積を算出した。

動物実験の施行にあたっては、「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」(昭和55年総理府告示)および日本生理学会により規定された「生理学領域における動物実験に関する基本指針」を遵守した。

統計処理

各測定値は実験群ごとに平均値と標準偏差値を算出し、統計学的検定を行った。統計的有意差は、適

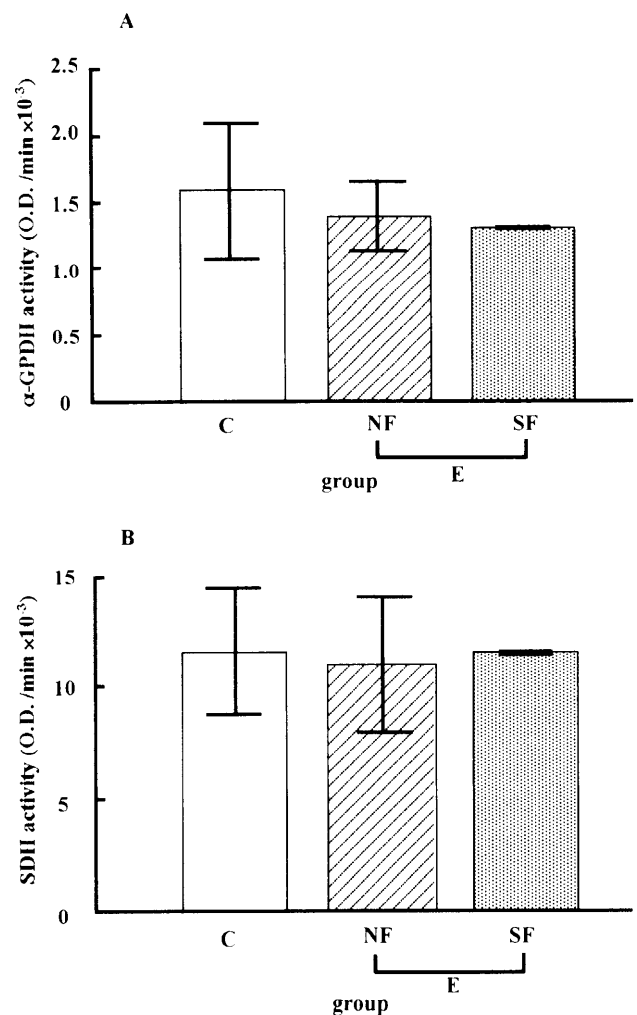


Fig. 3. α -GPDH (A) and SDH (B) activities of type IIb myofibers from C group, the NF and SF population of E group. Values were indicated as the means \pm S. D. Each enzyme activity was represented as optical density (O. D.) units. There was no significant difference among C group, the NF and SF population of E group. As to (NF) and (SF), see Fig. 1.

時 t-test あるいは Scheffe 法による分散分析を用いて検定した。全ての検定において有意水準は 5% ($p < 0.05$) 未満とした。

Ⅲ. 結 果

SF の酸化系及び解糖系酵素活性

筋損傷後の再生時に発現する極めて細い type IIb 線維(SF)において、ATP 再合成に関与する代謝機能を検討するために、 α -GPDH 活性及び SDH 活性を測定した。SF の出現率は、一横断面の全筋線維数あたり平均 0.51% であった。いずれの酵素活性においても、通常筋(C群)の type IIb 線維(C)と再生筋(E)内の NF に分類される type IIb 線維との間に有意差は認められなかった。また、再生筋内の SF に分類される type IIb 線維の α -GPDH 活性及び SDH 活性も NF の値と類似しており(Fig. 3)、再生筋に発現する SF は通常サイズの筋線維と同様の解糖系と酸化系酵素活性を有していることが示された。

収縮能に観られる SF の特性

E 群の PLA より単離した枝分かれ線維から skinned fiber を作成し、収縮能力を測定した。その結果、単位断面積当たりの最大発揮張力では、C と NF 及び SF の間に差はみられなかった(Fig. 4

A)。一方、最大短縮速度に関しては、C と NF との間に差はみられなかったが、通常線維に対して枝分かれ線維の方が有意に低値を示す結果が得られた(Fig. 4 B)。

次に SF が神経支配を受け、筋収縮に活動参加しているのかを検討するために、一過性走運動後の筋線維グリコーゲン濃度を PAS 染色強度を指標に調べた(Fig. 5)。SF の出現率は、一横断面の全筋線維数あたり平均 0.48% であった。走運動を行わなかった C、E-NF 及び E-SF 間ではいずれも PAS 染色による筋線維グリコーゲン濃度に有意な差は認められなかった。従って、この結果から安静時の SF は他の通常サイズの筋線維同様の筋線維グリコーゲン含量を有することが示された。一方、一過性走運動を行った場合、C に対し CR で有意なグリコーゲン濃度の低下が認められた($p < 0.05$)。これと同様に、E-NF と ER-NF 間、あるいは E-SF と ER-SF 間でもそれぞれ有意差が認められた($p < 0.05$)。その上、筋損傷からの再生筋内の SF と NF 間にはグリコーゲン枯渇程度に差が認められないことから、SF は神経支配を受け走運動を行う際に活動参加していることを示していた。

過負荷に対する SF の肥大能力

SF が通常の筋線維と同様の肥大能力を伴ってい

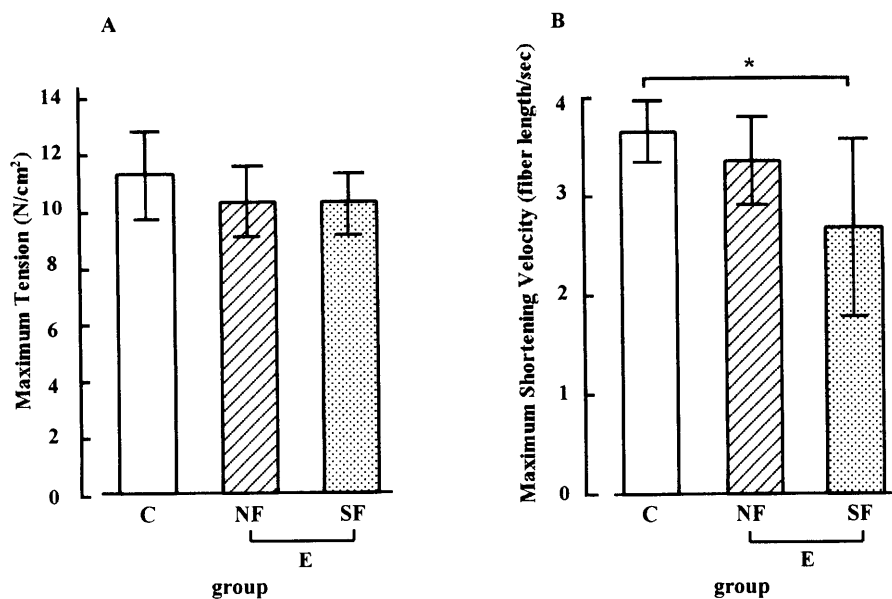


Fig. 4. Maximum tension (N/cm^2) (A) and shortening velocity (fiber length/sec) (B) of skinned fibers from myofibers in the control plantaris muscles, NF and SF in regenerated plantaris muscles. Values were indicated as the means \pm S. D. * $p < 0.05$.

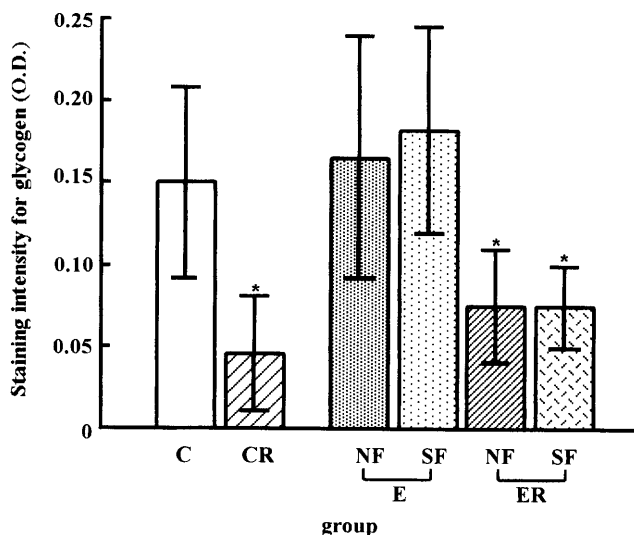


Fig. 5. Staining intensity for glycogen of type IIb myofibers of plantaris muscles. Values were indicated as the means \pm S. D. Staining intensity for glycogen was represented as optical density (O. D.) units. Experimental groups were as follows: (C) the sedentary intact group, (CR) the intact group with transiently exhaustive running, (E) the regenerated group and (ER) the regenerated group with transiently exhaustive running. As to (NF) and (SF), see Fig. 1. * $p < 0.05$; C vs. CR, E-NF vs. ER-NF, E-SF vs. ER-SF, respectively. There was no significant difference among C, E-NF and E-SF, and among CR, ER-NF and ER-SF, respectively.

るのかを検討するために、再生筋に協働筋切除により過負荷刺激を加えた。Table 2に見られるように、FO 群及び EFO 群共に PLA の相対筋重量は、C 群に対して有意に増加していた(それぞれ $p < 0.05$)。この結果は、PLA の筋肥大を誘発するために行った過負荷処置が有効であったことを示した。Type IIb 線維の平均横断面積に関しては、FO 群は C 群に対して有意な増加 ($p < 0.05$) を示した。一方、EFO 群の平均横断面積は C 群より 10% 以上の高値

が観られたが、両群間には有意な差は認められなかった。また、各群の type IIb 線維横断面積度数分布 (Fig. 6) を調べた結果、EFO 群でのみ SF の存在が認められ、また分布域が広域に渡っていた。SF の出現率は、一横断面の全筋線維数あたり平均 0.49% であった。

IV. 考 察

筋線維断面積と代謝特性

伸張性収縮実施 6 週後には、C-E 群間の type IIb 線維平均横断面積には有意な差は認められなかった (Table 1)。Type IIb 線維は伸張性収縮により選択的に損傷しやすいと考えられるが^{8,11)}、その平均横断面積が control と類似していたことから、筋損傷後 6 週間の実験期間で E 群の PLA は十分な再生を遂げたと考えられ、E 群でのみ観察された SF は再生過程の筋線維ではなく細い状態で再生が終了した線維と考えられた。肥大筋や再生筋の横断面で観察される径の細い筋線維の大部分が枝分かれ線維である可能性が示されている^{2~4,18)}。また、伸張性収縮による筋損傷後に枝分かれ線維が発生すること報告されているが⁶⁾、本研究でも実体顕微鏡下で E 群の PLA より筋線維を単離した結果、枝分かれ線維の存在を多数確認できた (Fig. 2)。従って、本研究で定義した SF の大部分も枝分かれ線維であると考えられた。

本研究で観られた SF は、酸化系並びに解糖系酵素活性ともに通常の断面積の type IIb 線維と類似した値を示した。発育期の未成熟な骨格筋では、成熟筋に比べ高い酸化系酵素活性を示し¹⁹⁾、解糖系酵素活性も成熟筋とは顕著に異なっている²⁰⁾。従って、本結果で示す SF は発育期に観られるような未

Table 2. Relative plantaris muscle weight and mean cross-sectional area of type IIb myofiber in C, FO and EFO group.

	Relative muscle weight (mg/100g body weight)	Mean cross-sectional area of type IIb myofiber (μm^2)
C	101.10 \pm 4.98	3036.11 \pm 161.08
FO	138.89 \pm 16.21 *	4358.53 \pm 317.50 *
EFO	140.22 \pm 15.01 *	3399.24 \pm 662.30

Values were expressed as means \pm SD. C, control; FO, functional overload in intact muscle; EFO, functional overload in regenerated muscle.

* significantly different from C; * $p < 0.05$.

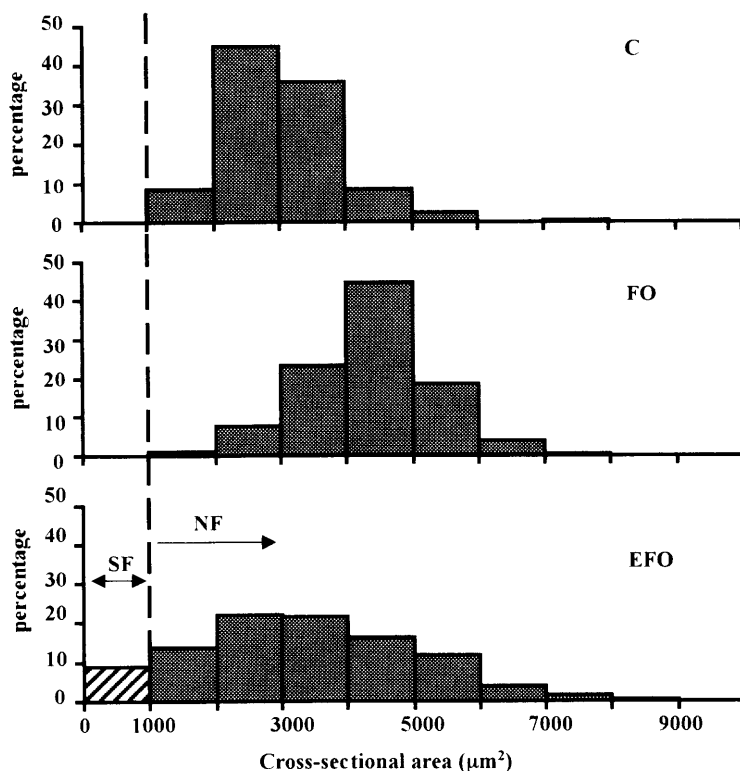


Fig. 6. Frequency distribution of cross-sectional area of type IIb myofiber in C, FO and EFO group. The SF population was detected in EFO group but not in C and FO group.

成熟な筋線維ではないことが考えられた。損傷後にみられる SF のエネルギー代謝特性は、組織染色で type IIb 線維に分類される正常筋線維と同様の能力を有すると考えられた。

神経支配による筋収縮への活動参加

一過性走運動によって SF のグリコーゲン濃度は有意に低下した。走運動による筋線維グリコーゲン消費量は、運動単位の活動参加量を反映する¹⁷⁾のものであり、SF は通常の筋線維と同様に神経支配を受け、筋の収縮活動に参加していると考えられた。また、枝分かれ筋線維上にも神経筋接合部を観察した報告も見られる²¹⁾。一方、枝分かれ線維の収縮能力を skinned fiber によって測定した結果、最大発揮張力は通常線維と類似していたが、最大短縮速度に関しては正常線維に比べ低値を示す傾向にあり、個体間のばらつきが非常に大きいという特徴もみられた (Fig. 4B)。これらの結果は、枝分かれ線維の収縮機構は著しい欠陥をともしないが、組織染色結果とは異なる機能を示すと考えられた。最大張力に対照筋と差がなかったことから、収縮タンパク量は回復していたと考えられる。このことから枝分

かれ線維の短縮速度に低値が観られた原因としては、ATPase 活性値の低下、slow 型の Myosin Heavy Chain isozyme の構成比の増加等が考えられる。枝分かれ線維を伴う骨格筋では、組織化学的分析によって推定される筋の収縮特性と実際の筋機能の測定によって得られた収縮特性との間に差異を生じることが報告されている¹⁰⁾。また、多数の枝分かれ線維を含む骨格筋の収縮特性は遅筋型に傾くという報告もみられる³⁾。本研究では再生筋全体の収縮速度の測定を行っていないが、再生筋における多数の枝分かれ線維の出現が筋全体の収縮速度の特性に影響を及ぼしてくる可能性が考えられた。

過負荷に対する筋肥大

過負荷を与えたことにより筋としては顕著な筋肥大が起きたにも関わらず、再生筋には SF が残り続けた。協働筋切除自体が過度の負荷となり筋損傷を誘発することによって径の細い線維が発現させたとする過去の報告もみられる^{2,18)}。しかし本研究における FO 群では SF の出現が確認されなかった。従って、EFO 群で観られた SF は協働筋切除による過負荷によって出現したのではなく、協働筋切除

前の既存の SF が肥大せずに残り続けていた可能性が考えられる。本研究結果より SF は神経支配を受け、通常のエネルギー代謝能を有し活動参加する線維であることが示されており、収縮機能の欠損により肥大を誘導する上で十分な負荷が SF に伝わらなかったとは考えにくい。従って、SF が過負荷刺激に適応できない原因として、肥大を制御するメカニズム自体に通常の筋線維とは異なる変化が生じている可能性が考えられた。一般に筋線維の肥大は、筋核²²⁾並びに筋衛星細胞²³⁾によって制御されている。しかし我々の知る限り、SF に局在している筋核や筋衛星細胞の機能特性に関する報告は未だにない。その一方で、筋移植後100日が経過した再生筋においても細い枝分かれ線維が存在し続けていることを示した報告⁴⁾や、伸張性収縮実施直後から過負荷にさらし3ヶ月通常飼育したラットの PLA の type IIb 線維でも SF が観察されており²⁴⁾、再生筋に発現する極細い筋が肥大し難いことは本実験のみの現象ではない。また、本結果には示されていないが、我々の研究室において伸張性収縮直後に協働筋を切除し1年間の通常飼育したラットの PLA の筋においても同様の極細線維が同じ割合で観察されており(未発表資料)、SF の筋肥大能力が通常の筋線維とは異なる特性を伴っている可能性は無視できないものと思われる。

以上のことより、再生筋で観られる SF はその大部分が枝分かれ線維であり、代謝及び収縮機能の特性には通常筋線維と顕著な違いは認められないが、筋肥大能力に特異的性質をもつ可能性は示唆された。その上、本実験と同条件で伸張性収縮を行った場合、一横断面当たり25~44%の筋線維が損傷するという報告^{7,11)}と SF の発生率が1%以下であった本研究結果からも SF が再生筋全体に及ぼす影響が著しく高いとは考えにくく、SF 発生 of 合目的性に疑問が残る結果であった。さらに、肥大能力の変化が SF 発生時における機能的欠損なのか合目的適応なのかに関しては、多方面からの詳細な検討が今後とも必要であると思われる。

V. 結 語

本研究では、伸張性収縮による筋損傷とその後の再生によって出現する極めて径の細い筋線維(SF)の機能的、形態的特性を検討した。エネルギー代謝

に参与する解糖系酵素として α -GPDH 活性、酸化系酵素として SDH 活性をそれぞれ調べた結果、再生筋内の通常サイズの筋線維(NF)と SF との間に有意差はなく、SF が正常なエネルギー代謝酵素活性を有していることが示された。また、一過性走運動による筋線維グリコーゲン消費を調べた結果、走運動によるグリコーゲン枯渇程度は、NF と SF とで極めて類似していた。従って、SF が神経支配を受け、走運動による筋収縮に活動参加していたことが示された。一方、再生筋に過負荷を加えた場合には、筋肥大にともなう SF の消失は認められなかった。このことから SF はエネルギー代謝に関わる酵素活性や収縮機能よりもむしろ筋肥大能力に通常線維とは異なる性質を伴っている可能性が示唆された。

謝 辞

本研究の実施にあたり、多大なる御尽力を頂いた愛知教育大学の宝満和紀氏、久野綾子氏に深謝申し上げます。

(受理日 平成17年5月6日)

参 考 文 献

- 1) Carlson, B. M., & Faulkner, J. A. The regeneration of skeletal muscle fibers following injury: a review. *Med. Sci. Sports Exerc.*, (1983), **15**, 187-198.
- 2) Tamaki, T., Akatsuka, A., Tokunaga, M., Uchiyama, S., & Shiraishi, T. Characteristics of compensatory hypertrophied muscle in the rat: I. Electron microscopic and immunohistochemical studies. *Anat. Rec.*, (1996), **246**, 325-334.
- 3) Tamaki, T., Akatsuka, A., Uchiyama, S., Uchiyama, Y., & Shiraishi, T. Appearance of complex branched muscle fibers is associated with a shift to slow muscle characteristics. *Acta. Anat. (Basel)*, (1997), **159**, 108-113.
- 4) Bourke, D. L., & Ontell, M. Branched myofibers in long-term whole muscle transplants: a quantitative study. *Anat. Rec.*, (1984), **209**, 281-288.
- 5) Tamaki, T., Akatsuka, A., Tokunaga, M., Ishige, K., Uchiyama, S., & Shiraishi, T. Morphological and biochemical evidence of muscle hyperplasia following weight-lifting exercise in rats. *Am. J. Physiol.*, (1997), **273**, C246-C256.
- 6) Tamaki, T., & Akatsuka, A. Appearance of complex branched fibers following repetitive muscle trauma in normal rat skeletal muscle. *Anat. Rec.*, (1994), **240**, 217-224.
- 7) 石道峰典, 平野朋枝, 西沢富江, 春日規克. 協働筋切除に伴う過負荷が再生時骨格筋の機能的、形態的

- 特性に及ぼす影響, 体力科学, (2003), **52**, 241-248.
- 8) Friden, J., & Lieber, R. L. Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. *Med.Sci.Sports Exerc.*,(1992), **24**, 521-530.
 - 9) Clarkson, P. M., Nosaka, K., & Braun, B. Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Med.Sci.Sports Exerc.*,(1992), **24**, 512-520.
 - 10) Tamaki, T., & Shiraishi, T. Characteristics of compensatory hypertrophied muscle in the rat: II. Comparison of histochemical and functional properties. *Anat. Rec.*,(1996), **246**, 335-342.
 - 11) 平野朋枝, 西沢富江, 小笠原仁美, 春日規克, 伸張性収縮により引き起こされる筋線維の損傷—骨格筋の構造及び筋線維タイプとの関係から—, 岡崎女子短期大学研究紀要, (2000), **33**, 143-150.
 - 12) Brooke, M. H., & Kaiser, K. K., Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch. Neurol.*(1970), **23**, 369-379.
 - 13) Blanco, C. E., Sieck, G. C., & Edgerton, V. R. Quantitative histochemical determination of succinic dehydrogenase activity in skeletal muscle fibers. *Histochem. J.*,(1988), **20**, 230-243.
 - 14) Martin, T. P., Vailas, A. C., Durivage, J. B., Edgerton, V. R., & Castleman, K. R. Quantitative histochemical determination of muscle enzymes: biochemical verification. *J. Histochem. Cytochem.*,(1985), **33**, 1053-1059.
 - 15) Chalmers, G. R., Roy, R. R., & Edgerton, V.R. Motoneuron and muscle fiber succinate dehydrogenase activity in control and overloaded plantaris. *J. Appl. Physiol.*,(1991), **71**, 1589-1592.
 - 16) Pearson, J. K., & Sickles, D. W. Enzyme activity changes in rat soleus motoneurons and muscle after synergist ablation. *J. Appl. Physiol.*,(1987), **63**, 2301-2308.
 - 17) De Ruiter, C. J., Habets, P. E., de Haan, A., & Sargeant, A. J. In vivo IIX and IIB fiber recruitment in gastrocnemius muscle of the rat is compartment related. *J. Appl. Physiol.*,(1996), **81**, 933-942.
 - 18) Gollnick, P. D., Parsons, D., Riedy, M., & Moore, R. L. Fiber number and size in overloaded chicken anterior latissimus dorsi muscle. *J. Appl. Physiol.*,(1983), **54**, 1292-1297.
 - 19) MacIntosh, A. M., & Baldwin, K. M. Effects of repetitive exercise on neonatal rat skeletal muscle oxidative capacity. *J. Appl. Physiol.*,(1983), **54**, 530-535.
 - 20) Thrasher J. R., Cooper, M. D., & Dunaway G. A. Developmental changes in heart and muscle phosphofructokinase isozymes. *J. Biol. Chem.*,(1981), **256**, 7844-7848.
 - 21) Tamaki, T., Sekine, T., Akatsuka, A., Uchiyama, S., & Nakano, S. Detection of neuromuscular junctions on isolated branched muscle fibers: application of nitric acid fiber digestion method for scanning electron microscopy. *J. Electron. Microsc.*(Tokyo), (1992), **41**, 76-81.
 - 22) Lowe, D. A., & Always, S. E. Stretch-induced myogenin, MyoD, and MRF4 expression and acute hypertrophy in quail slow-tonic muscle are not dependent upon satellite cell proliferation. *Cell Tissue Res.*, (1999), **296**, 531-539.
 - 23) Hawke, T. J., & Garry, D. J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J. Appl. Physiol.*, (2001), **91**, 534-551.
 - 24) 石道峰典, 鈴木英樹, 平野朋枝, 西沢富江, 春日規克. 骨格筋の損傷, 再生時に発現する極細線維の特性, 体力科学, (2001), **50**, 766.