

肥大を起こした筋線維の特性

春日 規克* 石道 峰典* 幸 篤武** 西沢 富江***

*保健体育講座 (運動生理学)

**国立長寿医療研究センター (予防開発部)

***至学館大学大学短期大学部

Functional Properties of Hypertrophied Muscle Fiber

Norikatsu KASUGA*, Minenori ISHIDO*,
Atsumu YUKI** and Tomie NISHIZAWA***

*Department of Health and Physical Education, Aichi University of Education, Kariya 448-8542, Japan

**Center for Development of Advanced Medicine for Dementia, Ohbu 474-8511, Japan

***Shigakkan University, Junior college, Ohbu 474-8651, Japan

Hypertrophy of the rat soleus muscle was induced by exercise (jump or isometric) training for 5 weeks and myectomy (for 1, 3, and 5 weeks) of the synergistic gastrocnemius and plantaris muscle.

Between pCa 7.0 to 4.0 on Ca²⁺ activated tension development and maximum velocity of shortening were examined in skinned single fibers from the rat soleus muscle. The training and myectomy caused the hypertrophy of muscle fibers, the rate of cross-sectional area(CSA) were 117, 137, 154, 156, 159% in jump, isometric, 1, 3 and 5 weeks postmyectomy groups, respectively. There was a significantly lower in maximum tension per CSA between 1 and 3 weeks postmyectomy groups than the other groups. The lower correlations between the fiber CSA and maximum tension were obtained only 1 and 3 weeks postmyectomy groups compared to the other groups. Thus there were significant differences in slope coefficient of regression equations between the both postmyectomy groups compared to the control, and exercise trained groups. No significant differences between the control group and all hypertrophied groups in respect to the contractile parameters, such as shortening velocities and pCa-tension relations.

It was concluded that the time required to achieve a steady-state hypertrophy is established within 5 weeks and that the functional properties of hypertrophied muscle fiber undergoes only minor changes.

I. 緒言

多くのスポーツ選手にとって筋力を高めることは、競技能力を向上させる上での最重要課題の一つである。対人競技において強い筋力は絶対的に有利な条件となり、個人競技においても筋力の増強は負荷となる自己の体重を相対的に軽減させるため、投走跳能力を高めることにつながる。また、筋力増強にともなう相対的負荷の軽減は、筋持久力を延長させ、収縮速度を速め、最大下負荷の加わる中でも安定したスキルの発揮を可能とする。

最大筋力は大脳の活動水準や制御機構により影響を受けるが、骨格筋の形態特性である筋断面積に強く依存することは古くから知られている。また、骨格筋は適応性に優れた組織であり、刺激に対して筋線維肥

大、筋線維増殖のかたちで筋肥大が起こり筋力を高める。筋肥大に関する研究は、肥大を引き起こすホルモンの影響^{5,33)}、アミノ酸を中心とする栄養摂取^{26,41)}、肥大誘発の刺激となるトレーニング方法³⁴⁾などから幅広く検討されてきた。最近では遺伝子レベルや低分子タンパク、シグナル伝達物質など^{6,12,13,27,35)}、肥大誘発刺激に対する制御系の詳細が検討されている。スポーツ科学の立場からは、このような知見が増えることで、より有効なトレーニング法の開発に結びつくことが期待される。しかし、筋肥大に結びつかない程度の軽度の刺激や1回限りの運動刺激においても有意な筋特異的転写因子としての遺伝子やシグナル伝達系の発現はみられる¹⁾。逆に、運動性刺激により起きた筋の肥大が、それに見合った機能として現れるかを機能発揮の最小単位である筋線維(細胞)で検討された報告は見

あたらぬ。スポーツ科学においては、運動が確実に筋肥大を起こす刺激となるかを知ると同時に、肥大した筋はその形態変化に則した機能を発揮できるかを検討することが重要と考える。

本研究では、運動性筋肥大及び協働筋切除にともない代償性肥大を誘発させたラット下肢筋線維の張力特性を調べ、急速に肥大した筋線維の発揮筋力特性が形態変化に影響を受けるかを検討する。

II. 方法

実験動物と群分け

実験動物には生後11週齢のSprague-Dawley系雄性ラットを用い、被験筋はヒラメ筋 (SOL) 線維とした。実験動物は昼夜反転した12時間の明暗サイクルの飼育小屋にて餌 (日本クレア; CE-2)、飲水共に自由摂取の環境下で飼育した。

生後5週齢のラット (n=24) を平均体重が等しくなるよう6群に分けた。1群は対照 (control; C) 群とし、他は筋肥大群とした。各群のラット数は4匹とした。トレーニング群は等尺性であり持久性トレーニング (Isometric training; IST) 群とコンセントリックな瞬発性ジャンプトレーニング (Jump training; JT) 群、代償性筋肥大モデルとしての協働筋切除 (Tenotomy; TT) 群とした。TT群は生後6, 8, 10週齢時 (それぞれTTS5, TTS3, TTS1群 (数値は協働筋切除後の飼育期間をあらわす)) に協働筋の切除手術を行った。

動物実験の施行にあたっては、愛知教育大学の動物実験規定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。

トレーニング法

IST群に対するトレーニング法としては、プレート上に垂直に金網籠を設置し、中にラットを入れた後、プレートを65-70度に熱した。ラットが足底部の熱を避けるため垂直の金網に登り体重に抗して懸垂を維持するトレーニングであった。筋疲労によりラットが降下しプレートに足がついた場合、降下2回まで金網を傾斜させ、再び金網に登ることを援助し、3度目の落下時点でその日のトレーニングを終了した。トレーニング当初の懸垂維持時間は1分間程度であったが、5週間のトレーニング終了時には平均30分以上の懸垂維持が可能であった。JT群は、強度100vの5ms矩形波電気刺激を25ms間隔で流した電気刺激板上 (縦横30cm) の四方を35cm高の木柵 (幅1cm) で囲み、中にラットを入れた。足底に対する電気刺激に驚き、ラットが木柵上に飛び乗る動作を1日50回繰り返した。木柵の高さを徐々に高くし、10日後には50cmのジャンプが可能であった。トレーニング期間が進むに従い電気刺激を加えなくともジャンプする条件付けが出来た段階

以降は電源をオフとした。これらのトレーニングは週6日実施し、11週齢までの5週間継続した。

協働筋切除手術

ラットの腹腔内に注入したネブタールにより十分な麻酔下において下腿背部を切開し、SOLの協働筋である腓腹筋と足底筋を電気メスにて摘出し、止血処理後に皮膚を縫合した。対側脚の同部位も切開と縫合を行い、歩行動作の非対称の発生を抑制した。その後11週齢に達する実験までの期間は通常飼育した。

skinned fiber³¹⁾ による収縮能の測定

実験では11週齢時に、ラットの致死量のネブタールを注入し屠殺した後にSOLを摘出した。摘出筋は直ちに弛緩液中に浸漬し筋表層部から数十本程度の筋束を取り出し、0.1%サポニンを含む弛緩液に移し、10分間処理しchemically skinnedとした。弛緩液に戻した筋束より、実体顕微鏡下でなるべく太い筋線維を選び単一線維を得た。線維両端は6 μ mの絹糸により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 μ mになるよう筋線維長を調整した。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、張力測定を行った。張力は筋節長2.6 μ mにて、Ca²⁺濃度を徐々に高めた収縮液におき換え、各収縮液中にて発揮される張力を記録した。最大収縮張力値はpCa4.0にて測定した。短縮速度の測定はslack test法を用いた²⁴⁾。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、張力が一旦ゼロになってから再び現れるまでの時間を計測した。この時間と解放距離から求めた最大短縮速度は、毎秒あたりに短縮する筋線維長単位 (ML/sec) として算出した²⁴⁾。張力測定に用いた溶液条件は、EGTA 4mM, MgATP 4mM, free Mg 1mM, Ion strength 0.2, pH6.8, 温度15 $^{\circ}$ Cとした。張力測定を終えた筋線維は、スライドガラスに添付しmyofibrillar ATPase組織化学染色 (preincubation pH4.3) を施した⁴⁾。組織染色結果と短縮速度による結果から実験に用いた筋線維がtype I線維であることを確認した。

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。統計的有意差の検定は、等分散F検定後に2群間のパラメトリック検定をおこなった。また、断面積と最大発揮張力との相関関係においては、単回帰式の傾きの差の検定を求めた。全ての検定において有意水準は5% (p<0.05) とした。

Ⅲ. 結果

11週齢時における各群の筋線維断面積をFig. 1に示した。C群に対する各トレーニング群の肥大率はIST群では117.3%, JT群は136.8%であり, 両運動トレーニング群ともにC群より有意な肥大が認められた。IST群とJT群間においても筋線維断面積に有意な差が認められた。一方, 代償性肥大期間が1週間のTT1においても158.9%の増加を示し, 代償性期間が3週間, 5週間と延長したTT3, TT5群でも同等の増加率が示され, TT1, 3, 5群間には差がみられなかった。TT1群はデータに大きなばらつきがみられたためC群の間に有意差は見られなかったが, C群とTT3, TT5群との間には差が認められた。

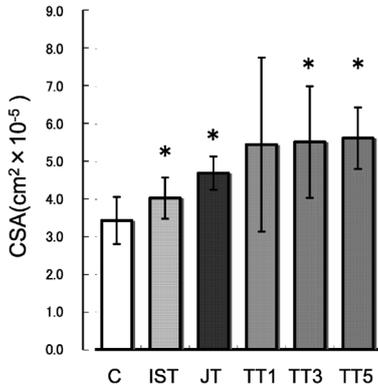


Fig. 1 Cross-sectional area (CSA) in soleus chemically skinned fiber in each group. Values are expressed as mean \pm SD. C; control, IST; Isometric training, JT; Jump training, TT1, TT3, TT5; One, three, five weeks after tenotomy operation, respectively. * $p < 0.05$

次に機能特性として, 筋線維断面積当たりの最大発揮張力を全群で比較した (Fig. 2)。C群と2つの運動トレーニング群 (ISO群, JT群), またTT5群においては, 最大張力は12~13 N/cm²であり, 運動トレーニング群間の差は認められなかった。TT1, TT3群は他群に比べ著しい低値がみられた (それぞれC群に対して71.6%, 77.4% ($p < 0.05$)であった)。そこで, 各群別の筋線維断面積と最大張力の相関係数と1次回帰式を求めた (Fig. 3)。この結果, いずれの群においても断面積と最大張力との間に有意な相関関係が得られた。Fig. 3-AにはC群, ISO群, JT群をプロットしたが, この3群の回帰式に有意な差はみられなかった。Fig. 3-BにはC群と協働筋切除3群をプロットした。各群の筋線維断面積と最大張力の関係は異なり, 回帰式の傾き

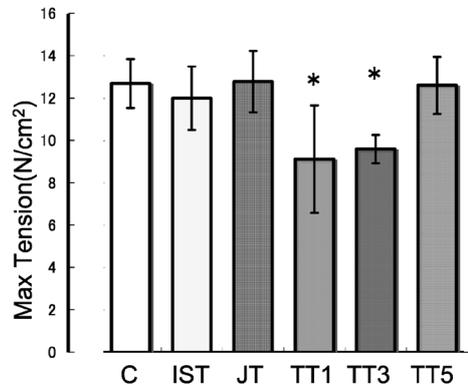


Fig. 2 Maximal tension in soleus chemically skinned fiber in each group. Values are expressed as mean \pm SD. C; control, IST; Isometric training, JT; Jump training, TT1, TT3, TT5; One, three, five weeks after tenotomy operation, respectively. * $p < 0.05$

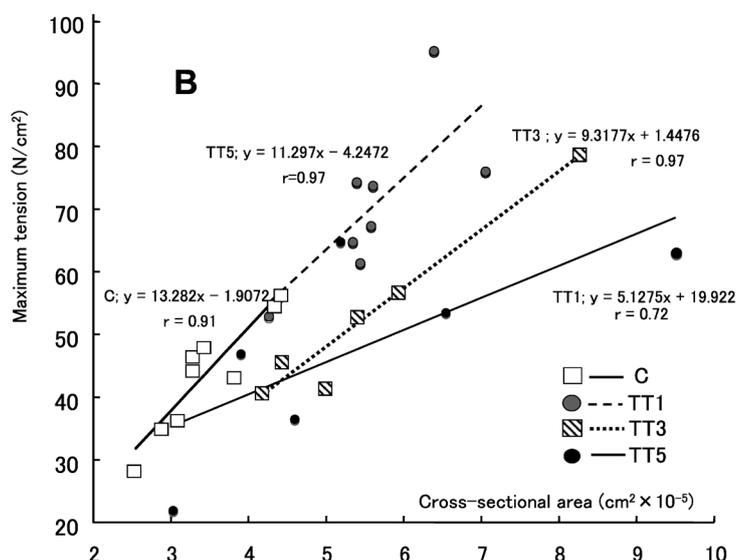
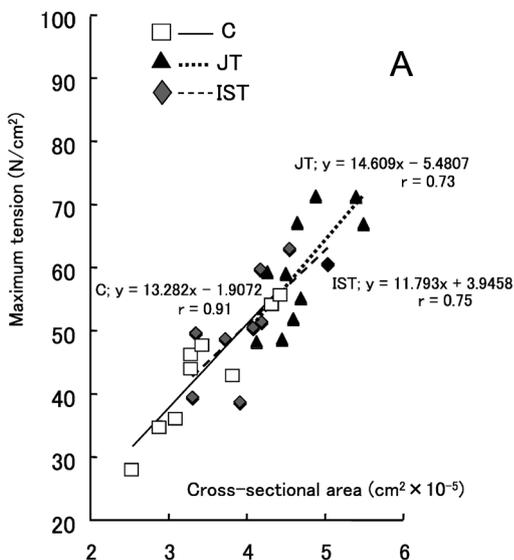


Fig. 3 Relationship between maximum tension and cross-sectional area in soleus skinned fibers.

の検定を行った結果では、最大発揮張力に低下がみられたTT1群、TT3群とC群との間には有意な差が認められた ($p < 0.05$)。

もう1つの機能特性としてSlack testにより求めた短縮速度をFig. 4に示した。C群と2つの運動トレーニング群 (ISO群, JT群) 間には有意な差は認められなかった。また、協働筋切除をおこなった後のすべての期間のTT群との間にも短縮速度には違いがみられなかった。

さらに、収縮を引き起こす Ca^{2+} 濃度と発揮筋力との関係を調べた。これはミオシンとアクチンとの結合を調整するトロポニンのカルシウム感受性が筋肥大にと

もなう変化を起こすかを調べるものである。Fig. 5には運動トレーニングの効果としてC群とISO群, JT群を比較し (Fig. 5-A), また急速な代償性肥大効果を見るためにC群とTT群の3群 (Fig. 5-B) の比較を平均値のみで示した。いずれの群においても、 Ca^{2+} 濃度上昇にともないS字状の張力曲線が得られた。張力が発生する Ca^{2+} 濃度閾値はpCa 6付近であり、 Ca^{2+} 濃度増加にともなう張力増大曲線に各群間ではほとんど差は認められなかった。

IV. 考察

本実験は使用性肥大した筋線維の張力特性が形態変化に則するものかを調べる目的で、実験動物を用いて運動トレーニング性あるいは代償性肥大を起こした筋線維を選択し張力特性を比較検討した。

本実験結果では、すべての群で有意な筋線維の肥大がみられた。運動トレーニング群の肥大率を比較した場合、IST群よりJT群が大きな値を示した。また、それ以上に、協働筋切除による慢性的の負荷を与えたTT群の筋線維肥大が切除後の過負荷期間に関係がなく顕著な増大が認められた。

活動量の増大にともなう骨格筋の肥大は、それを構成する筋線維の肥大、筋線維の増殖、筋線維(細胞)間溶液の増加から起こると考えられるが、その中の最も大きな要素である筋線維の肥大は、収縮タンパクである筋原線維の増加と筋形質成分の増加によるものである。筋タンパク合成に影響する因子としては、テストステロン、成長ホルモン、インシュリンなどのアナボ

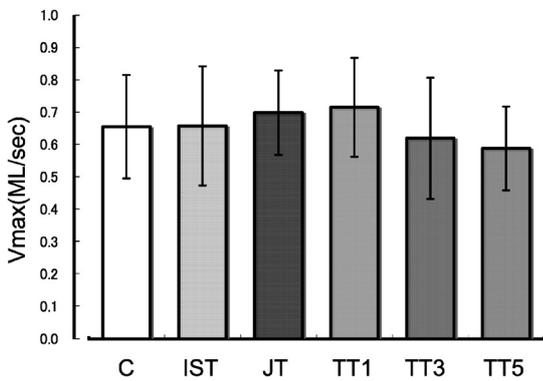


Fig. 4 Maximal shortening velocity in soleus chemically skinned fiber in each group. Values are expressed as mean \pm SD. C;control, IST;Isometric training, JT;Jump training, TT1, TT3, TT5; One, three, five weeks after tenotomy operation, respectively.

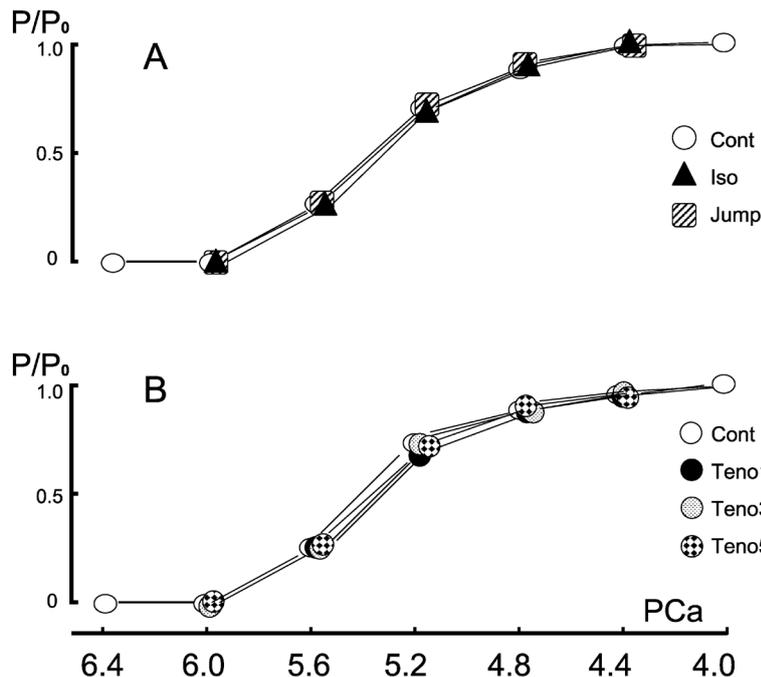


Fig. 5 Relationship between force and Ca^{2+} concentration.

リックホルモンや、活動量を決定する神経制御機構、トレーニング期の摂取アミノ酸の影響や骨格筋でのアミノ酸取り込み能^{14,29,30)}、さらには筋タンパク分解・分解抑制機構を支える筋細胞内環境とタンパク構成との関係などが広く検討されている。また近年では、筋核や筋衛星細胞核で発現する筋特異的転写因子 (Myf-5, MyoD や myogenin 等)³²⁾ の関与、筋衛星細胞核で発現する細胞周期制御因子 (PCNA ; proliferating cell nuclear antigen 等)^{22,23)} の関与、筋活動量の増大時に起こるホルモンや神経系の制御などの研究に加え、Akt/mammalian target of rapamycin 等の経路^{13,25)}、機械的刺激受容機構である stretch-activated channel の経由、あるいは膜貫通受容体である integrin とそれに接する細胞骨格の物理的変化が低分子Gタンパクを発現する経路⁶⁾ など、タンパク合成を亢進させる細胞内シグナル伝達系の詳細な研究が進められている。

このような仕組みで収縮タンパクの合成と筋形質の増大比率に歪みなく筋線維 (細胞) に肥大が起きた場合には、全体として筋 (組織) 肥大という形態の増大に見合う機能の発達が期待される。本実験結果では ISO 群より JT 群により大きな筋線維肥大がみられたことは、ジャンプという高強度運動による筋膜の伸展刺激が、機械的刺激受容機構⁶⁾ をより亢進させてタンパク合成を高めたと考えられた。また、協働筋切除 (TT) 群では、残された SOL より切除された腓腹筋の重量は約 12 倍、足底筋は 2.5 倍と大きな筋である。大きな協働筋を失った後、歩行等の動作の際には足関節伸展時に SOL には相当の負荷が加わっていたはずである。短期間に関わらず TT1, TT3 群にみられる明らかな筋線維の肥大には、SOL の活動量の急激な増大とそれによる機械的刺激受容機構の関与が関係していたと考えられる。また、協働筋切除は Insulin-like growth factor I (IGF-I) 等の筋タンパク合成因子を活性化し、生理的限界域まで代償性肥大を起こす刺激となると報告されている⁴⁰⁾。しかし、協働筋切除から 3 週間までの肥大は張力の発達を伴わないことが本実験結果より示された。本実験の系で調べられた断面積当たりの発揮張力が低いことは、筋線維を形成する収縮タンパク量が少ないことを意味するものである。筋線維内の収縮タンパクと形質量の比は、発育初期や、激しい筋活動後、また筋損傷時などで変化することが報告されている^{10,12)}。激しい筋活動や損傷後では、筋内の毛細血管の断裂やマクロファージの浸潤、細胞外溶液の筋線維内流入などにより細胞内環境が変化し形質量を増やす。また、協働筋切除後 30 日以内のラット足底筋では筋タンパク濃度が低値を示したとされている²⁰⁾。しかし、運動トレーニングを行うことによる筋原線維と形態比率には変化がないことが報告されている⁴²⁾。以上のことを考え合わせると、張力の増大をとまわらない TT1, TT3 群の筋線維の肥大は協働筋切除手術にとも

なう侵襲とその後の急激な負荷の増大が、形質量を増やしたと考えられた。過去の協働筋切除を行い肥大効果を調べた実験では、協働筋切除自体が過度の負荷となり筋損傷を誘発し再生筋線維がみられたとする報告もある^{15,40)}。TT1, TT3 群の見かけ上の肥大は、損傷筋に見られ Opaque 線維³²⁾ のような浮腫状態を示す可能性も考えられた。

また、Fig. 3 に示した各群の最大発揮張力と断面積の相関図では TT1, TT3 群においては C 群を含む他群に比して大きく異なる回帰式が得られ、傾き成分がより低値を示した。有意な相関が得られた回帰式間において、TT1, TT3 群の傾き成分が低値であることは、面積の増大に対して張力の増加が少ないことを示す。回帰式の傾き成分の違いは収縮タンパクの密度に依存すると考えられ、協働筋切除を受け過大のストレスが加わり短期間に肥大した筋線維においては、収縮タンパクに対して形質量の比が高まっていることを示していた。また、各群の発揮最大張力と断面積との関係をみた場合、TT1 群の回帰直線だけに y 軸との切片は 19.07N/cm² と高い値を示していた。回帰式の y 軸 (張力) 切片は、筋線維の断面積がゼロの場合の筋力を表すものであり、張力がゼロから大きく逸脱することは考えにくい。TT1 群や他の群においても回帰式を求めた標本数が決して多くなく十分な検討は困難であるが、y 軸切片がプラス方向に大きく逸脱する場合には、筋線維横断面積を決定するために収縮タンパク以外の他の要素が筋線維内に加わり、直線による単回帰係数では断面積と発揮張力との関係を説明できなくなったためと考えられた。逆にマイナス方向に大きく逸脱する場合には、張力値がゼロになった際にも体積を有していることを意味し、張力発揮に関与しない細胞内要素 (可溶性蛋白) の増加による影響と考えられた。

古くからトレーニングにともなう機能特性の変化は多く報告され、筋力や持久性や収縮速度等が発達する^{2,17,33)}。しかし、トレーニング性の明確な筋線維肥大が見られた本結果では Fig. 4 に示されるように、収縮速度を示す Vmax には、いずれの群にも差が認められなかった。神経制御因子や環境温、細胞内 Ca 濃度などの差異や影響のない本実験の系では、細胞レベルでの収縮速度は、ミオシンとアクチンの結合解離速度が決定する^{18,21)}。この結合解離のサイクルは ATP 分解速度に依存するため、収縮速度は ATP 加水分解酵素 (ATPase) を持つミオシン重鎖のアイソホーム³⁾、またはミオシン重鎖のアイソホームより決定される筋線維タイプに強く依存する⁹⁾。本実験で用いた筋線維はすべて SOL より摘出した type I (遅筋) 線維であることは確認されており、各群間で収縮速度に差が見られなかった本結果は、タイプ移行や筋線維内のミオシン重鎖のアイソホームの混在比率に変化がない場合には、肥大にともなう収縮タンパクの

増大はミオシンとアクチンの結合解離速度の変化をとともなわないことが示された。また、最大発揮筋力に低下が認められたTT1, TT3群においても短縮速度に低下が起こらなかった。収縮タンパクが相対的に少ないと考えられるTT1, TT3群では、アクチンとミオシンの結合量が低下していると考えられる。しかし、短縮速度は筋線維のミオシンとアクチンの重なり合う量に関係なく一定であることが知られている。これは、アクチンとミオシンの結合を起こす活性部分の総数が張力を決定する一方、短縮といった動的变化時には、解離せず残る量も結合部分に比例するため、張力発生による移動と抵抗とが常に一定となり短縮速度には影響しないことから説明できる¹⁹⁾。協働筋切除にともなう過度なストレスにより相対的な収縮タンパクの減少が張力を低下させる原因となったとしても、そのことが短縮速度に影響をもたらすことはないと考えられた。

一方、運動トレーニング筋や代償性に肥大した筋線維においても、 Ca^{2+} 濃度-張力関係には差が認められなかった。速筋線維と遅筋線維を比較した場合、速筋線維のトロポニンCa感受性が高いため、 Ca^{2+} 濃度-張力関係を示す曲線は左辺する^{37,39)}。また、 Ca^{2+} 濃度-張力関係は、細胞内遊離Mg濃度の上昇やK濃度の低下により右辺し^{8,25)}、あるいは細胞内pHの変化によっても影響を受ける⁷⁾。Litvinova等の報告では²⁸⁾、尾懸垂による筋萎縮モデルでのSOL線維の Ca^{2+} 感受性は高まり、張力発揮閾値が低下するとしている。しかし、本実験で示された肥大筋線維においても Ca^{2+} 濃度-張力関係に変化がみられず、このことは、時間をかけたトレーニング性の肥大だけでなく、収縮タンパク合成をとともなわない急激な過負荷時期においても、筋細胞内の溶液環境は一定に保たれていることを示す結果であった。

以上、本実験では筋肥大が有意に起こる運動トレーニングと協働筋切除という肥大モデルを用いて、肥大筋線維の収縮特性を調べた。協働筋切除による1から3週間内の急激肥大は、断面積当たりの張力の発達をとともなわないことから、機能をともなう肥大には5週間程度の期間の必要性が示された。また、肥大筋線維のすべてに、短縮速度と Ca^{2+} 感受性に差がないことが示され、スポーツなど活動量増大による使用性筋肥大は、形態変化に見合った以上の機能特性の変化は少ないことが示された。

V. 引用文献

- 1) Bickel CS, Slade J, Mahoney E, Haddad F, Dudley GA, Adams GR. Time course of molecular responses of human skeletal muscle to acute bouts of resistance exercise. *J Appl Physiol.* (2005) 98: 482-488.
- 2) Blazevich AJ, Jenkins DG. Effect of the movement speed of re-

- sistance training exercises on sprint and strength performance in concurrently training elite junior sprinters. *J Sports Sci.* (2002). 20: 981-990.
- 3) Bottinelli R, Schiaffino S, Reggiani C. Force-velocity relations and myosin heavy chain isoform compositions of skinned fibres from rat skeletal muscle. *J. Physiol.* (1971). 437: 655-672.
- 4) Brumback RA, Leech RW. Color atlas of muscle histochemistry. PSG publishing company, INT: Massachusetts, (1984). pp. 9-33.
- 5) Buresh R, Berg K, French J. The effect of resistive exercise rest interval on hormonal response, strength, and hypertrophy with training. *J Strength Cond Res.* (2009). 23: 62-71.
- 6) Carson JA, Wei L. Integrin signaling's potential for mediating gene expression in hypertrophying skeletal muscle. *J Appl Physiol.* (2000). 88: 337-343.
- 7) Chen RS. Ca^{++} -activated tension of skinned muscle fibers: Dependence on pH. (1972). Master Thesis, Purdue Univ.).
- 8) Ebashi S Endo M. Ca ion and muscle contraction. *Progr. Biophys. Molec. Biol.* (1968). 18: 123-183.
- 9) Eddinger TJ, Moss RL. Mechanical properties of skinned single fibers of identified types from rat diaphragm. *Am J Physiol.* (1987). 253: C210-218.
- 10) Eisenberg BR, Dix DJ, Kennedy JM. Physiological factors influencing the growth of skeletal muscle. *Ciba Found Symp.* (1988). 138: 3-21.
- 11) Farrell PA, Fedele MJ, Vary TC, Kimball SR, Jefferson LS. Effects of intensity of acute-resistance exercise on rates of protein synthesis in moderately diabetic rats. *J Appl Physiol.* (1998). 85: 2291-2297.
- 12) Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF, Snow RJ, Hargreaves M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1alpha in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* (2009). 106: 929-934.
- 13) Glass DJ. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *Int J Biochem Cell Biol.* (2005). 37: 1974-1984.
- 14) Goldberg AL. Influence of insulin and contractile activity on muscle size and protein balance. *Diabetes.* (1979). 28(Suppl 1): 18-24.
- 15) Gollnick PD, Parsons D, Riedy M, Moore RL. Fiber number and size in overloaded chicken anterior latissimus dorsi muscle. *J Appl Physiol.* (1983). 54: 1292-297.
- 16) Gonyea WJ. Role of exercise in inducing increases in skeletal muscle fiber number. *J. Appl. Physiol* (1980). 48: 421-426.
- 17) Häkkinen K. Neuromuscular fatigue and recovery in women at different ages during heavy resistance loading. *Electromyogr Clin Neurophysiol.* (1995). 35: 403-413.
- 18) He ZH, Bottinelli R, Pellegrino MA, Ferenczi MA, Reggiani C. ATP consumption and efficiency of human single muscle fibers with different myosin isoform composition. *Biophys J.*(2000). 79: 945-961.
- 19) Huxley AF, Peachey LD. The maximum length for contraction in vertebrate striated muscle. *J. Physiol.* (1961). 156: 150-165.
- 20) Ianuzzo CD, Chen V. Metabolic character of hypertrophied rat muscle. *J. Appl. Physiol.* (1979). 46: 738-742.
- 21) Irving M, R. C. Woledge. The dependence on extent of shortening of the extra energy liberated by rapidly shortening frog skeletal muscle. *J. Physiol.* (1981). 321: 411-422.
- 22) Ishido M, Kami K, Masuhara M. Localization of MyoD, myogenin and cell cycle regulatory factors in hypertrophying rat skeletal

- muscles. *Acta Physiol Scand.* (2004). 180: 281–289.
- 23) Ishido M, Uda M, Kasuga N, Masuhara M. The expression patterns of Pax7 in satellite cells during overload-induced rat adult skeletal muscle hypertrophy. *Acta Physiol (Oxf).* (2009). 195: 459–69.
- 24) Kasuga N, Takekura H. A comparative Mechanical study of shortening velocity in subgroup of fast-twitch fiber. *Decent Sprts Sci.* (1987). (A Baic Study on the Skeletal Muscle from the Standard-point of Sports Atitude. Katsuta S, Kitaura T, Kasuga N, Matoba H, Ito I), 8: 13–18.
- 25) Kerric WGL. And Dolaldson SKB. The effects of Ca^{++} on sub-maximum Ca^{++} -activated tension in skinned muscle fibers of frog skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Acta.* (1972). 275: 117–122.
- 26) Koopman R, Saris WH, Wagenmakers AJ, van Loon LJ. Nutritional interventions to promote post-exercise muscle protein synthesis. *Sports Med.* (2007). 37: 895–906.
- 27) Léger B, Cartoni R, Praz M, Lamon S, Dériaz O, Crettenand A, Gobelet C, Rohmer P, Konzelmann M, Luthi F, Russell AP. Akt signalling through GSK-3beta, mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *J Physiol.* (2006). 1: 923–933.
- 28) Litvinova KS, Kozlovskaja IB, Nemirovskaia TL, Shenkman BS. Contractile characteristics of single skinned rat soleus muscle fibers under gravitational load: effects of a calcium-binding agent. *Biofizika.* (2003). 48: 905–910.
- 29) McCaulley GO, McBride JM, Cormie P, Hudson MB, Nuzzo JL, Quindry JC, Travis Triplett N. Acute hormonal and neuromuscular responses to hypertrophy, strength and power type resistance exercise. *Eur J Appl Physiol.* (2009). 105: 695–704.
- 30) Molon-Noblot S, Laroque P, Prahalada S, Stabinski LG, Hoe CM, Peter CP, Duprat P, van Zwieten M J. Effect of chronic growth hormone administration on skeletal muscle in dogs. *Toxicol Pathol.* (1998). 26: 207–212.
- 31) Natori R. The role of myofibrils sarcoplasm and sarcolemma. *Jikeikai Med. J.* (1954). 1: 18–28.
- 32) Obayashi H, Nezu Y, Yokota H, Kiyosawa N, Mori K, Maeda N, Tani Y, Manabe S, Sanbuissho A. Cerivastatin induces type-I fiber-, not type-II fiber-, predominant muscular toxicity in the young male F344 rats. *J Toxicol Sci.* (2011). 36: 445–52.
- 33) Pereira MI, Gomes PS. Movement velocity in resistance training. *Sports Med.* (2003). 33: 427–438.
- 34) Rivero JL, Ruz A, Martí-Korff S, Estepa JC, Aguilera-Tejero E, Werkman J, Sobotta M, Lindner A. Effects of intensity and duration of exercise on muscular responses to training of thoroughbred racehorses. *J Appl Physiol.* (2007). 102: 1871–1882.
- 35) Schoenfeld BJ. Does exercise-induced muscle damage play a role in skeletal muscle hypertrophy? *J. Strength Cond Res.* (2012). 26: 1441–1453.
- 36) Smilios I, Pilianidis T, Karamouzis M, Tokmakidis SP. Hormonal responses after various resistance exercise protocols. *Med Sci Sports Exerc.* (2003). 35: 644–654.
- 37) Stephenson DG, Williams DA. Effects of sarcomere length on the force-pCa relation in fast- and slow-twitch skinned muscle fibres from the rat. *J Physiol.* (1982). 33: 637–657.
- 38) Stewart CE, Rittweger J. Adaptive processes in skeletal muscle: molecular regulators and genetic influences. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* (2006). Review. ar; 6: 73–86.
- 39) Takagi A. and Endo M. Guinea pig solues and extensor digitorum longus: A study on single skinned fibers. *Exp Neurol.* (1977). 55: 95–101.
- 40) Tamaki T, Akatsuka A, Tokunaga M, Uchiyama S, Shiraishi T. Characteristics of compensatory hypertrophied muscle in the rat.: Electron microscopic and immunohistochemical studies. *Anat Rec.* (1996). 246: 325–334.
- 41) van Loon LJ, Gibala MJ. Dietary protein to support muscle hypertrophy. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* (2011). 69: 79–89.
- 42) Wang N, Hikida RS, Staron RS, Simoneau JA. Muscle fiber types of women after resistance training--quantitative ultrastructure and enzyme activity. *Pflugers Arch.* (1993). 424: 494–502.

(2012年9月7日受理)