

## 異なる基準により分類されるラット骨格筋筋線維タイプの対応関係 および持久トレーニングによるその変化

和田正信\*・神林 勲\*\*・七五三木 聡\*\*・勝田 茂\*

### The interrelationships between myosin-based and metabolism-based muscle fiber type in rats, and their changes induced by endurance training

Masanobu WADA, Isao KANBAYASHI, Satoshi SHIMEGI  
and Shigeru KATSUTA

The interrelationships of histochemically myosin-based and metabolism-based classification of skeletal muscle fibers and their changes by endurance training were investigated in plantaris muscle of the untrained rats and trained ones in response to 10 weeks of the treadmill running. With training, the transformation of Type IIB fibers to Type IIA fibers occurred, and succinate dehydrogenase activities increased twofold. The staining intensity of each fiber for reduced nicotinamide adenine dinucleotide reductase was evaluated in five grades; very dark, dark, intermediate, light, very light. When the criteria used for judging a fiber as oxidative were defined as more than intermediate, training induced no significant increases in the percent of fast-twitch oxidative glycolytic (FOG) fibers. In both untrained and trained rats, Type IIA fibers corresponded to FOG fibers. On the other hand, one fourth to half of Type IIB fibers fell into oxidative range; Type IIB fibers were not synonymous with fast-twitch glycolytic (FG) fibers. Following training, there was a tendency for decreases in the percent of Type IIB-FOG fibers. These results suggest that myosin-based and metabolism-based fiber type are not coupled and increased contractile activity may evoke a change in the correlation between fiber types by distinct fiber classifications, and that histochemical staining for oxidative potential is an inaccurate method to separate fibers into types.

Key words : fiber type, myosin, metabolism, staining intensity

#### I. 緒 言

骨格筋線維の機能的特性は一様ではなく、その収縮・弛緩速度、疲労耐性は大きく異なっている。筋はその様なバラエティに富んだ筋線維の集合体であるが、この構造的な特徴は、神経による調節

とともに様々な様式の活動を成就するのに有用であると考えられる。筋の特性を検討するために種々のパラメーターに基づき筋線維は数種類にタイプ分けされてきたが、現在組織化学的には次の2つの分類方法が広く用いられている。

1つは Peter et al.<sup>19)</sup>の提唱する方法であり、それに従えば、myofibrillar actomyosin ATPase (以下 mATPase と記す) 染色 (pH 10.3) と代謝特性を示す染色の組み合わせから、Slow-twitch oxidative, Fast-twitch oxidative glycolytic, Fast-twitch glycolytic (以下 SO,

\* 筑波大学体育科学系

\*\* 筑波大学体育研究科

\* Institute of Health and Sports Sciences  
University of Tsukuba

\*\* Master's Program in Health and Sports  
Sciences University of Tsukuba

FOG, FG と記す) 線維の 3 タイプに分類される。他の 1 つは異なる pH の preincubation 溶液に滲漬することによって起こる mATPase の活性化状態の変化からの分類であり, Brooke and Kaiser<sup>1)</sup> はこの染色結果から筋線維を 3 タイプに分け, Type I, Type II A, Type II B 線維と呼んだ。

この 2 つの分類法では, 速筋線維と遅筋線維は同一の染色 (mATPase) から類別されるので SO 線維と Type I 線維は一致する。しかしながら速筋線維をサブグループに細分する際に基準とする染色法は異なり, 仮にミオシンの特性と代謝特性との間に明確な対応関係が存在すれば, どちらか一方の染色による分類からもう一方の特性を知ることができるという利点が得られるため, FOG, FG 線維と Type II A, II B 線維とがどのような関係にあるのか多くの研究<sup>15,16,27)</sup>がなされてきた。齧歯類の骨格筋について Spurway<sup>27)</sup>は, Type II A 線維と Type II B 線維の酸化能力にオーバーラップする部分は少なく, したがって FOG=Type II A, FG=Type II B であると報告しているが, その一方では Type II B 線維の約半分は FOG 線維であることを認める報告<sup>15,19)</sup>もあり, 必ずしも明確に結論づけられているわけではない。

また筋は可塑性の高い組織であり, 活動水準が変化すると初期にはリボゾームにおける翻訳, その後には DNA から転写の活動状況が変わり, 筋線維を構成するタンパクはその量のみならず分子種の分類といった質的な側面も変化することが明らかになっている<sup>21)</sup>。しかしながら各タンパクは同期して変化するわけではないため, 筋線維の特性はさらに多様性を増すことになり, このことはトレーニングあるいは成長などの要因により前述の速筋線維間の対応関係は変化することを示唆するものと推測されるが, その点についての報告はまだなされていない。

そこで本研究ではラットの足底筋を用い, 異なる分類法における速筋線維のサブグループ間の対応関係について, 持久トレーニングを負荷したもののについても合わせて検討することにした。

## II. 実験方法

### 1. 被検動物およびトレーニング方法

実験には 3 週齢の Wistar 系雄性ラット 11 匹を用いた。これらを 2 群に分け, 1 群を非運動群 (Untrained group; 以下 Untr 群と記す), もう

Table 1. Program of progressive endurance training

Age (wks)	Speed (m/min)	Duration (min)
5	30	20
6	30	30
7	30	60
8	30	90
9	30	120
⋮	⋮	⋮
14	30	120

Values refer to the beginning of each week.

1 群を運動群 (Trained group; 以下 Tr 群と記す) とし, Tr 群には小動物用トレッドミルを用い 5 週齢より計 10 週間走行トレーニングを負荷した。表 1 にトレーニングスケジュールを示した。30m/min で 20 分の走行から始め, 速度は一定に保ち走行時間を 9 週齢まで漸次増加し, 以後 14 週齢まで 1 日 120 分のトレーニングを行わせた。なおトレッドミルの傾斜は 0 度, トレーニング頻度は週 5 回とした。

### 2. 組織化学的分析

トレーニング期間終了後, 両群ともエーテル麻酔下にて足底筋を摘出した。秤量後, 筋腹部分を厚さ数 mm に横断し, 液体窒素で冷却したイソペンタン中で急速凍結, クリオスタット (-20°C) で厚さ約 10 μm の連続横断切片を作成した。これらに mATPase 染色<sup>5,14)</sup>および NADH-tetrazolium reductase<sup>18)</sup> (以後 NADH-TR と略す) を施した。mATPase 染色における preincubation の滲漬時間は, pH 10.3 では 10 分, pH 4.6 では 2, 3, 4 分の 3 種類, pH 4.3 では 5 分 (いずれも室温) とした。

得られた各標本を光学顕微鏡を用い写真撮影し (最終倍率 136 倍), mATPase 染色 (pH 10.3, 4.6, 4.3) から Brooke and Kaiser<sup>1)</sup>の方法に従って, 筋線維を Type I, II A, II B, II C 線維に分類した。また NADH-TR 染色から, 染色強度を 5 段階に分け強い順に very dark, dark, intermediate, light, very light とし各筋線維の酸化能力を判定し, mATPase 染色 (pH 10.3) の結果と合わせて Peter et al.<sup>19)</sup>の方法に従い, SO, FOG,

FG 線維に分類した。

3. 生化学的分析

筋の酸化能力を定量的に検討するために、コハク酸脱水素酵素 (Succinate dehydrogenase; 以下 SDH と記す) 活性を Green et al.<sup>7)</sup>の方法に従って測定した。秤量した筋を100倍 (W/V) の抽出液 (0.05%ウシ血清アルブミンを含む0.17M リン酸緩衝液) でホモジネイトした後、37°Cで5分間 incubation を行い、分光蛍光光度計 (島津製作所製 RF-540) を用いて NADH の濃度を測定した。

III. 実験結果

表 2 に解剖時における体重および筋重量を示した。Tr 群では体重の増加が抑制される傾向にあり、解剖時には Untr 群と比べ 11.5%低い値 (P < 0.01) が認められた。また筋重量については、絶対値では両群間に有意な差異は認められなかったが、体重に対する相対値では Tr 群が Untr 群に比し有意な高値 (P < 0.01) を示した。

表 3 に Brooke and Kaiser<sup>1)</sup>の方法によってタイプ分けされた筋線維の構成比を示した。Untr 群と比較して Tr 群では、Type I 線維および Type

II A 線維に高値が、Type II B 線維に低値が認められ、それらの差異はすべて統計的に有意であった。またアルカリ、酸のいずれの preincubation に対しても ATPase 活性を保持する Type II C 線維も認められたが、その割合は Tr 群、Untr 群ともに 0~0.6%と極めて少なく本実験では研究の対象から除外した。

図 1 は mATPase 染色および NADH-TR 染色の光学顕微鏡写真である。Type I, Type II A 線維はそのほとんどが NADH-TR 染色において濃染したが、Type II B 線維は濃染したものもあれば淡染したものもみられた (図 1-D)。

表 4 に Type II A, Type II B 線維における FOG, FG 線維の割合を示した。FOG 線維と FG 線維への分類は NADH-TR 染色における染色強度に依存するわけであり、したがって酸化能力が高い (oxidative) とする基準をどこに設定するかが重要な問題となるが、この染色では反応強度が連続的であるため基準線を明瞭に引くことは難しい。そこで本研究では染色強度を 5 段階にわけ、oxidative とする基準を intermediate 以上とする場合と、dark 以上とする場合の 2 通りについて検

Table. 2. Comparisons of body weight and muscle weight in untrained and trained groups.

Group	n	body weight (g)	Muscle weight	
			(mg)	(mg/g Body weight)
Untr.	6	445.0±14.0	373.1±27.9	0.86±0.06
Tr.	5	384.0±15.2**	375.5±32.5	0.95±0.07**

Values are means±SD. \*\*denotes significant difference compared to untrained group at 0.01 level.

Table. 3. Comparisons of percentage distribution of fiber types based on an activation or inactivation of the myofibrillar actomyosin ATPase by acid and alkali preincubation in untrained and trained groups.

Group	Type I	Type IIA	Type IIB	%
Untr.	5.0±1.3	23.5±5.9	71.4±5.3	
Tr.	8.4±3.1*	40.2±8.4**	51.2±4.2**	

Values are means±SD. \*and\*\*denote significant differences compared to untrained group at 0.05 and 0.01 levels, respectively. The percentage of type IIC fibers is not presented

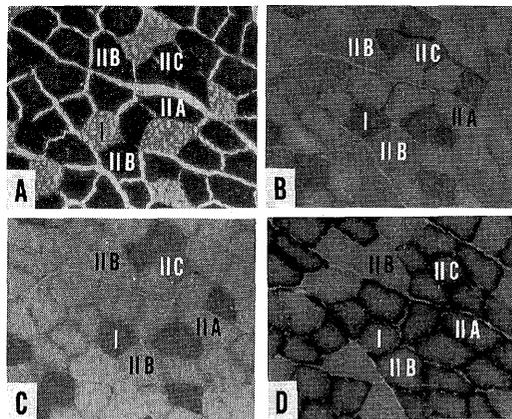


Fig. 1 Photomicrographs of serial cross sections stained for myofibrillar actomyosin ATPase (A-C) and NADH-TR (D). Pannels A, B and C are myofibrillar actomyosin ATPase stains after preincubation at pH 10.3, 4.6 and 4.3, respectively. Most of Type II A fibers stain intensively for NADH-TR. Among Type II B fibers, NADH-TR staining intensity varies widely.

Table 4. Metabolic subgroups within myofibrillar actomyosin ATPase subgroups of fast twitch fibers in untrained and trained groups.

Group	Criterion of "oxidative"		TypeIIA	TypeIIB
			%	
Untr.	more than intermediate	FOG	100±0	52.4±9.9
		FG	0±0	47.6±9.9
	more than dark	FOG	98.7±1.4	28.3±6.2
		FG	1.3±1.4	71.7±6.2
Tr.	more than intermediate	FOG	100±0	44.6±12.6
		FG	0±0	55.4±12.6
	more than dark	FOG	99.5±0.7	23.6±12.3
		FG	0.5±0.7	76.4±12.3

Values are means ±SD.

討した。前者の基準では Type II A 線維は両群ともにすべて FOG 線維と判定された。また Type II B 線維は、Untr 群では52.4%が FOG, 47.6%が FG 線維, Tr 群では44.6%が FOG, 55.4%が FG 線維であった。一方後者の基準を用いると、Type II A 線維は Untr 群では98.7%が FOG, 1.3%が FG 線維と、Tr 群では99.5%が FOG, 0.5%が FG 線維と判定された。Type II B 線維は、Untr 群では28.3%が FOG, 71.7%が FG 線維であり、Tr 群では23.6%が FOG, 76.4%が FG 線維であった。いずれの基準を用いても Untr 群と Tr 群間には有意な差異はみられなかった。

表 5 は、同様に 2 通りの分類基準を用いて判定した FOG および FG 線維の分布比率を示したものである。どちらの基準においても Untr 群より Tr 群で FOG 線維の割合が高い傾向にあったが、intermediate 以上を oxidative とした場合には両群間に統計的に有意な差異は認められなかった。しかしながら図 2 に示されるように SDH 活性は顕著な違いがみられ、Tr 群の値 ( $11.90 \pm 4.48 \mu\text{mols}/\text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) は Untr 群 ( $5.82 \pm 1.49 \mu\text{mols}/\text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) の約 2 倍であった。

#### IV. 考 察

骨格筋線維を SO, FOG, FG 線維の 3 タイプに類別する方法は1972年に Peter et al.<sup>19)</sup>が提唱したものであるが、この分類方法は呼称からそれぞれの筋線維の機能が想起できること、染色方法が比較的容易であることなどの点で優れている。し

Table 5. Comparisons of percentage distribution of fast twitch fiber metabolic subgroups dependent on different criteria in untrained and trained groups.

Group	Criterion of "oxidative"	FOG	FG
		%	
Untr.	more than intermediate	60.0±10.8	35.0±8.4
	more than dark	42.2±5.5	52.8±6.1
	more than dark	52.6±7.5**	39.0±6.2**
Tr.	more than intermediate	63.2±6.9	28.4±7.9
	more than dark	52.6±7.5**	39.0±6.2**

Values are means±SD. \*\*denotes significant difference in each criterion compared to untrained group at 0.01 level.

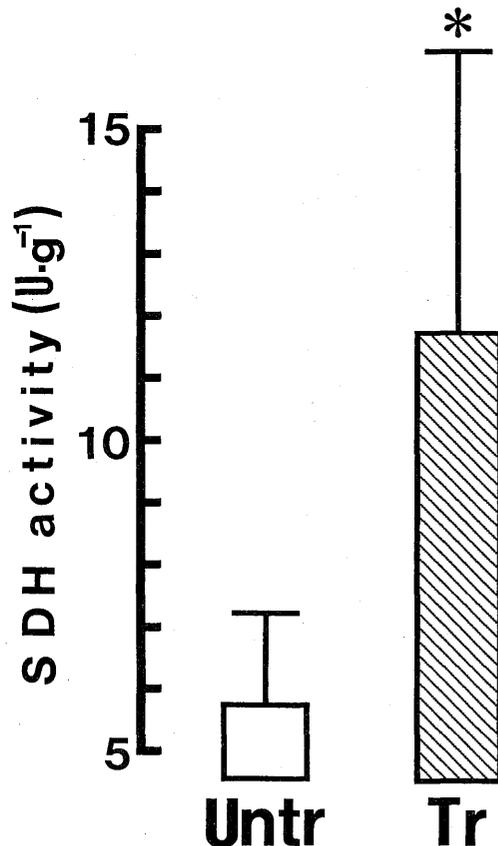


Fig. 2 Comparisons of succinate dehydrogenase activity in untrained and trained groups. \*denotes significant difference compared to untrained group at 0.05 level.

かしながら、この方法には幾つかの欠点もある。速筋 (FOG, FG) 線維と遅筋 (SO) 線維とに分類する際の基準はミオシンの性質に基づくのに対して、速筋線維を細分する際の基準は代謝特性によるため、内因性あるいは外因性の刺激に伴い筋線維にタイプ移行が生じた場合、SO ⇌ FOG と FOG ⇌ FG とで持つ意味合いが異なることがその1つである。また、酸化系酵素の活性値はそれぞれの筋線維で大きく異なり、それらを定性的に2分することは、Spamer and Pette<sup>25)</sup>が指摘するように筋線維の持つ特性を過度に単純化することになる点もさることながら、1番の問題点は代謝特性を示す染色強度が連続的である中から明確な基準線を設けなければならないことであろう<sup>27)</sup>。

これに対して Type I, Type II A, Type II B 線維へのタイプ分けは<sup>1)</sup>、いずれもミオシンの性質からの分類であり、また ATPase 活性の染色標本では中間色に染まるものは少なく筋線維を明確に分離することができるため、Peter et al.<sup>19)</sup>の方法にみられる問題は緩和されることになる。ミオシンの性質の違いとは、筋線維に分布するミオシン重鎖 (Myosin Heavy Chain; 以下 HC と記す) の差異に起因するとされている<sup>28)</sup>。Type I 線維と Type II 線維の HC の機能的・構造的な差異は比較的大きいため生化学的および免疫組織化学的にも容易に検出されるが<sup>2,11,24)</sup>、一方 Type II A 線維と Type II B 線維の差異は相対的に小さく、本研究においても組織化学的な知見を生化学的に裏づけるために、電気泳動法を用い分子量の違いから Type II A 線維および Type II B 線維の HC の分布を定量しようと試みたが明確に分画することはできなかった (未発表資料)。組織化学的には pH 4.6 で preincubation する mATPase 染色における ATPase 活性の失活の差異から Type II A 線維と Type II B 線維は判別されるが (図 1)、この失活の割合は、preincubation 溶液の pH および温度<sup>5)</sup>のわずかな違い、あるいは含まれるイオンの組成、強度<sup>12,14)</sup>など多くの要因の影響を受けるため、それぞれを厳密に規定する必要がある、これがこの染色法の再現性を低減させる原因となっている。preincubation を行うことによってなぜ染色パターンが変化するのかについては明らかになっていないが、Gollnick and Hodgson<sup>6)</sup>および Matoba et al.<sup>14)</sup>は直接的には溶液の pH の影響ではなく、含まれるイオンが

HC の ATP の加水分解に関与する部位に作用し、それぞれの分子種ごとに特異的に構造的な変化を起こすためであろうと推察している。

前述の2種類の分類法において細分される速筋線維の対応関係について多くの研究がなされてきたのは、仮に両者の間に明確な関係が成り立つとすれば、染色法や分類基準にみられる互いの持つ欠点を補足し合え、より明瞭に筋線維をタイプ分けすることができるからであろう。

Nemeth and Pette<sup>17)</sup>は筋線維が oxidative であるとする基準を、本研究でいう light と intermediate の間に置くと判定の信頼性が増すと述べ、そのような基準に従うとラットの長指伸筋では Type II B 線維の約半分が FOG 線維であると報告<sup>15)</sup>しており、これは本研究の結果 (表 4 および図 1) と一致するものである。一方 Spurway<sup>27)</sup>は、それは oxidative の基準が低すぎるためであり、デジトメーターを用い染色強度を定量化するとラビットでは Type II A 線維と Type II B 線維間の酸化能力にオーバーラップする部分は少なく、したがって Type II A = FOG, Type II B = FG であると結論している。ミオシンの表現型およびミトコンドリアの量を決定する主たる要因が筋収縮の絶対量であり<sup>13,21)</sup>、齧歯類においてもネコの腓腹筋で示されているように<sup>20)</sup>FG 線維より FOG 線維の方が収縮に際し頻りに動員されるのであれば、筋線維が Spurway<sup>27)</sup>の述べる特徴を有することも十分考えられる。これらの報告にみられる違いの原因としては、種による違い、および染色強度を判定するのに用いた方法的な差異などがあげられるが、単一筋線維の酵素活性値を測定した生化学的な知見<sup>20)</sup>は、前者の結果、すなわち Type II B ⇌ FG を支持している。

なお、ヒトの骨格筋では FOG 線維に相当するものはほとんどみられないが、あったとしてもごく僅かである<sup>10)</sup>。したがって、代謝特性を反映する染色から速筋線維を細分し、それらを Type II A, Type II B 線維とする報告<sup>4)</sup>がみられるが、ヒトの場合のもとより、Riechmann and Pette<sup>22)</sup>、Nemeth and Pette<sup>15,16)</sup>の報告および本研究の結果からは齧歯類においてもそのような呼称を用いることは誤りであると結論される。

さらに本研究では、持久トレーニングを負荷したもののについても検討した。一般に筋の活動水準が増すと、組織化学的には Type II B 線維から

Type II A 線維あるいは FG 線維から FOG 線維へのタイプ移行, 生化学的には酸化系酵素活性の増大が, その適応として起こるとされている。表 3 および図 2 に認められる結果はこれらと一致したものであるが, FG 線維から FOG 線維の移行に関しては SDH 活性が約 2 倍に増大したにもかかわらず, 顕著な変化は示されなかった (表 5)。

NADH-TR 染色は, 還元型 NADH がテトラゾリウム塩を還元することによって有色物質であるホルマザンに変えることを利用したものである。ニトロブルーテトラゾリウムを用いるとホルマザンはほとんど拡散することはなく, ミトコンドリアの形態をよく表すことが Novikoff et al.<sup>19)</sup> によって報告されており, この染色法は筋の酸化能力を反映するとされている。Reichmann et al.<sup>23)</sup> は筋線維に占めるミトコンドリアの密度と SDH を含むミトコンドリア内の多くの酵素の活性値が比例関係にあることを報告しており, これらのことから組織化学的な知見と生化学的な知見は一致すべきであると思われる。

ホルモンの影響は受けないこと, また作業筋のみに酸化能力の増大が生ずることから, 収縮活動の増加それ自身がミトコンドリアの数と大きさを増す要因となっていると考えられており<sup>8)</sup>, Hoppeler et al.<sup>9)</sup> によれば, 持久トレーニングではこのミトコンドリアの増加は特に筋線維鞘に隣接する部位で顕著に起こるとされている。染色のために筋線維は約 10 $\mu$ m の厚さに横断され, この中には非常に多くのミトコンドリアが存在することが可能である。ホルマザンによって可視化されたミトコンドリアは染色標本の各筋線維における光の透過性を低下させるが, 筋線維の長軸方向に積み重なるようにミトコンドリアが増加した場合, それ以上ミトコンドリアの密度が増加しても光の透過性は変化しない臨界点があるのではないかと推察される。酸化能力を示す組織化学的な染色強度はほぼ一様であるヒラメ筋において, 単一筋線維間のリンゴ酸脱水素酵素の活性値に約 3 倍の開きがあることを認める Spamer and Pette<sup>25)</sup> の報告はこれを支持するものであり, このことが本研究でみられた組織化学的な結果と生化学的な結果に矛盾を生んだ原因の 1 つであると思われる。

したがって SDH 活性の著しい増加は (図 2), すでに高い酸化能力を持ち組織化学的に oxidative と判定される筋線維でさらにミトコン

ドリアが増加したことに主として起因するであろう。また, dark 以上を oxidative としたときのみ FOG 線維の有意な増加が認められたのは (表 5), 運動強度と筋線維の参加動員様式との関係<sup>9)</sup> から組織化学的に中程度の酸化能力を有する筋線維にも適応が生じたためであろうが, この様に染色強度を 2 分する基準を僅かに変えることによって, 得られる結果に差異が生じるという事実は, 組織化学的に示される酸化能力は筋線維をタイプ分けするうえで優れた指標にはならないことを示すものである。

電気刺激を用いて活動量増加に伴う筋の変化を検討した報告<sup>20,21)</sup>からは, 筋線維のほとんどの性質は slow type へと移行していく傾向にあり, それら一連の変化の中で他の系に先立ちまず酸化能力が向上することが明らかにされている。このことはその様な筋では, ある時期に Type II B—FOG である筋線維が増加することを示唆するものである。本研究では持久トレーニングを負荷したのものについても検討したが, 表 4 に示されるように有意な差異はなかったものの, トレーニングを行うことにより, Type II B—FOG である筋線維はむしろ減少する傾向にあった。これは本研究で用いた運動強度が相対的に低いために Type II B—FG である筋線維が十分に動員されずそれらは変化せず, Type II B—FOG が Type II A—FOG へと移行したためであろうと思われる, 収縮特性と代謝特性の関係は活動の量のみならず質, すなわち運動強度にも影響されると推察される。

本研究では速筋線維のサブグループ内の移行だけではなく Type I 線維の増加も観察され (表 3), これは活動量の増加は速筋線維から遅筋線維へのタイプ移行を起し, トレーニングによってもそれがみられるとする先行研究<sup>29)</sup>と一致する。

今後筋線維の特性をさらに明確にするために, 本研究と異なるタイプのトレーニングを負荷したもの, 廃用性の萎縮の過程にあるもの, さらにトレーニングなどとは違い変化が相対的に緩やかである発育過程にあるものについても検討する必要があると思われる。

## V. 総 括

骨格筋線維における組織化学的に判別される収縮特性と代謝特性の関係, および持久トレーニングによるその変化を検討することを目的として,

5 週齢の Wistar 系雄ラット11匹を運動(Tr)群と非運動(Untr)群に分け, Tr 群には10週間の持久トレーニングを負荷し, 足底筋を対象に組織化学的・生化学的分析を行ったところ, 以下の結果を得た。

1) トレーニングによって Type I 線維および Type II A 線維の占有率の増加が, Type II B 線維の低下が認められた。

2) 酸化能力を示す染色において, 各筋線維の染色強度を強い順に very dark, dark, intermediate, light, very light の 5 段階に識別し, dark 以上を酸化能力が高い (oxidative) とした場合と intermediate 以上を oxidative とした場合とを比較したところ, 前者の時にのみトレーニングによる FOG 線維の占有率の増加, FG 線維の低下が認められた。

3) コハク酸脱水素酵素はトレーニングによって約 2 倍に増加した。

4) Type II A 線維はそのほとんどが FOG 線維であった。一方 Type II B 線維は1/2から1/4のものが FOG 線維であり, トレーニングによってそのような筋線維 (Type II B-FOG) は減少する傾向にあった。

以上の結果からミオシンの特性と代謝特性は一致しないこと, および筋の活動水準の変化にともない両者の関係は変化するであろうことが示唆された。また, 代謝特性は筋線維をタイプ分けするうえで優れた指標とはならないと考えられる。

### References

- 1) Brooke, M.H. and Kaiser, K.K.: Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch. Neurol.*, 23, 369-379, 1970.
- 2) Carraro, U., Cantini, C.: A sensitive SDS-PAGE method separating myosin heavy chain isoforms of rat skeletal muscles reveals the heterogeneous nature of the embryonic myosin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 116, 793-802, 1983.
- 3) Dudley, G.A., Abraham, W.M. and Terjung, R.L.: Influence of exercise intensity and duration on biochemical adaptations in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 53, 844-850, 1982.
- 4) Gerard, E.S., Caiozzo, V.J., Rubin, B.D., Prietto, C.A. and Davidson, D.M.: Skeletal muscle profiles in elite springboard and platform divers. *Am. J. Sports Med.*, 15, 125-128, 1987.
- 5) Gollnick, P.D., Parsons, D. and Oakley, C. R.: Differentiation of fiber types in skeletal muscle from the sequential inactivation of myofibrillar actomyosin ATPase during acid preincubation. *Histochemistry*, 77, 543-555, 1983.
- 6) Gollnick, P.D. and Hodgson, D.R.: The identification of fiber types in skeletal muscle: a continual dilemma. In., Pandolf, K.B. Exercise and sport sciences reviews, Vol 14, Macmillan Publishing Company, New York, 81-104, 1986.
- 7) Green, H.J., Thomson, J.A., Daub, W.D., Houston, M.E. and Ranney, D.A.: Fiber composition, fiber size and enzyme activities in vastus lateralis of elite athletes involved in high intensity exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 41, 109-117, 1979.
- 8) Holloszy, J.O. and Coyle, E.F.: Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J. Appl. Physiol.*, 56, 831-838, 1984.
- 9) Hoppeler, H., Lüthi, P., Claassen, H., Weibel, E.R. and Howald, H.: The ultrastructure of the normal human skeletal muscle: a morphometric analysis on untrained men, women and well-trained orienteers. *Pflügers Arch.*, 344, 217-232, 1973.
- 10) 勝田 茂: 筋バイオプシーについて, 体育の科学, 37, 830-837, 1987.
- 11) 北浦 孝: ミオシンの重鎖成分から見た筋組成, デサントスポーツ科学, 8, 8-13, 1987.
- 12) Mabuchi, K. and Sréter F.A.: Actomyosin ATPase II fiber typing by histochemical ATPase reaction. *Muscle and Nerve*, 3, 233-239, 1980.
- 13) Mabuchi, K., Szvetko, D., Pintér, K. and Sréter, A.: Type II B to II A fiber transformation in intermittently stimulated rabbit muscles. *Am. J. Physiol.*, 242, C373-C381, 1982.
- 14) Matoba, H., Allen, J.R., Bayly, W.M., Oakley, C.R. and Gollnick, P.D.: Comparison of fiber types in skeletal muscles from ten animal species based on sensitivity of the myofibrillar actomyosin ATPase to acid or copper. *Histochemistry*, 82, 175-183, 1985.
- 15) Nemeth, P.M. and Pette, D.: The inter-

- relationship of two systems of fiber classification in rat EDL muscle. *J. Histochem. Cytochem.*, 28, 193, 1980.
- 16) Nemeth, P.M. and Pette, D.: Succinate dehydrogenase activity in fibres classified by myosin ATPase in three hind muscles of rat. *J. Physiol.*, 320, 73-80, 1981.
  - 17) Nemeth, P.M. and Pette, D.: The limited correlation of myosin-based and metabolism-based classification of skeletal muscle fibers. *J. Histochem. Cytochem.*, 29, 89-90, 1981.
  - 18) Novikoff, A.B., Shin, D. and Drucker, J.: Mitochondrial localization of oxidative enzymes: staining results with two tetrazolium salts. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9, 47-61, 1961.
  - 19) Peter, J.B., Barnard, R.J., Edgerton, V.R., Gillespie, C.A. and Stemple, K.E.: Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry*, 11, 2627-2633, 1972.
  - 20) Pette, D., Müller, W., Leisner, E. and Vrbová, G.: Time dependent effects on contractile properties, fibre population, myosin light chains and enzymes of energy metabolism in intermittently and continuously stimulated fast twitch muscles of the rabbit. *Pflügers Arch.*, 364, 103-112, 1976.
  - 21) Pette, D.: Activity-induced fast to slow transitions in mammalian muscle. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 16, 517-528, 1984.
  - 22) Reichmann, H. and Pette, D.: Glycerolphosphate oxidase and succinate dehydrogenase activities in II A and II B fibres of mouse and rabbit tibialis anterior muscles. *Histochemistry*, 80, 429-433, 1984.
  - 23) Reichmann, H., Hoppeler, H., Mathieu-Costello, O., von Bergen, F. and Pette, D.: Biochemical and ultrastructural changes of skeletal muscle mitochondria after chronic electrical stimulation in rabbits. *Pflügers Arch.*, 404, 1-9, 1985.
  - 24) Schantz, P., Billeter, R., Henriksson, J. and Jansson, E.: Training-induced increase in myofibrillar ATPase intermediate fibres in human skeletal muscle. *Muscle and Nerve*, 5, 628-636, 1982.
  - 25) Spamer, C. and Pette, D.: Activity patterns of phosphofructokinase, glyceroldehydrophosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase in microdissected fast and slow fibres from rabbit psoas and soleus muscles. *Histochemistry*, 52, 201-216, 1977.
  - 26) Spamer, C. and Pette, D.: Metabolic subpopulations of rabbit skeletal muscle fibres. In: Pette, D., *Plasticity of muscle*, Walter de Gruyter, New York, 19-30, 1980.
  - 27) Spurway, N.: Interrelationship between myosin-based and metabolism-based classifications of skeletal muscle fibers. *J. Histochem. Cytochem.*, 29, 87-88, 1981.
  - 28) Staron, R.S. and Pette, D.: The multiplicity of combinations of myosin light chains and heavy chains in histochemically typed single fibres: rabbit tibialis anterior muscle. *Biochem. J.*, 243, 695-699, 1987.
  - 29) 和田正信, 勝田 茂: 高強度・持久トレーニングによるラット骨格筋タンパクの変化, *体育学研究*, 32, 221-229, 1988.
  - 30) Walmsley, B., Hodgson, J.A. and Burke, R.E.: Force produced by medial gastrocnemius and soleus muscles during locomotion in freely moving cats. *J. Neurophysiol.*, 41, 1203-1216, 1978.