

## ラット下腿筋の代償性肥大にともなう骨格筋タンパク質の変化

和田正信・大道 泉\*・勝田 茂

### Myoprotein changes induced by ablation of synergist in rat hind limb.

Masanobu WADA, Izumi ŌMACHI and Shigeru KATSUTA

The effects of overloading, which was induced by surgical ablation of a synergist, on muscle fiber area, muscle fiber composition and myosin light chain(LC) isozyme patterns were studied in rat plantaris muscle, using two-dimensional electrophoretic and conventional histochemical techniques. The overloading after ablation of gastrocnemius muscle produced significant increases in wet weight and size of slow-twitch oxidative(SO) fibers and fast-twitch oxidative glycolytic(FOG) fibers in the muscle. An existence of markedly small fibers, possibly due to degenerative process such as necrosis, was restricted in the experimental leg. An increase in SO and FOG fibers and decrease in fast-twitch glycolytic(FG) fiber were found; these might indicate that the transformation of fast-twitch fiber to slow twitch fiber occurred. Although an increase in slow-type LC accompanied the histochemically observed fiber transformation, the replacement by its slow counterparts in alkali LC(LC1 and LC3) preceded those of phosphorylatable, 5,5-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)-dissociated(DTNB) LC(LC2) in contrast to electrical stimulation-induced alterations reported in previous studies. These data suggest that the skeletal muscle has the plasticity to adjust its biochemical-physiological properties in response to functional demands.

Key words: Myosin light chain—Muscle fiber—Hypertrophy

#### I 緒 言

ボディービルダーのよく発達した四肢やマラソンランナーの優れた持久性などに示されるように、骨格筋は種々の負荷に対し合目的な変化が可能な極めて適応力に富んだ組織である。

運動などの外的刺激により生じる筋の肥大に関して、組織化学的<sup>7)13)</sup>、生化学的<sup>18)</sup>、生理学的<sup>28)</sup>観点からその変化の様相およびそれらから類推される肥大のメカニズムについて数多くの報告がなされてきた。Morpurgo<sup>20)</sup>に端を発するこの分野の研究ではヒトと比べ動物がその実験材料として用いられることが多い傾向にあり、これは対象とす

る全組織が採取でき、whole muscle としての分析が可能であるといった利点によるところが大きいと思われる。しかし問題点としては強度の高い運動を自発的に行わせ難いことが挙げられ、そこで協同筋を切除し残存する筋に肥大を生じさせる、いわゆる代償性肥大が過負荷のモデルとして主に用いられてきた。この方法は交叉神経支配や電気刺激実験とは異なり、筋を支配する神経の正常な機能を阻害することなく肥大による組織内変化を検討することができるという点で優れたモデルであり、各方面からのアプローチがなされてきた<sup>6)13)28)</sup>。しかしながら分子レベルから筋タンパク質の動態について明らかにしたもの<sup>2)21)</sup>は少なく、またそれらの何れの報告も各分子種の分布を

\*筑波大学研究生

定量化しているわけではない。

そこで本研究は代償性肥大筋における変化を、組織化学的手法からは筋線維構成比および筋線維横断面積について、二次元電気泳動法からは収縮特性と関連の深いミオシン軽鎖の分子種の分布について定量的に検討することを目的とした。

## II 実験方法

### 1. 被検動物および実験プロトコール

実験には Wistar 系雄ラット 7 匹を用い、体重が約 200g (196~259g) までに成長した時点で次の手順により協同筋切除の手術を行った。まずエーテルで麻酔後下腿背部をメスで切開し、足底筋に外傷を与えないように注意して腓腹筋の腱を足底に近いところで切断、そのままピンセットで筋をはがすようにして数mm切除した。各個体とも左右交互に片脚のみにこの手術を行い、これを実験側 (Exp) とした。残された片脚を対照側 (Cont) とし、こちらには皮膚をメスで切開するところまでは実験側と同様の擬手術を施した。術後90日に足底筋を摘出し、組織化学的・電気泳動学的分析を施した。

なお温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 5\%$ に常時維持した飼育室において、一台の回転ケージに2匹ずつのラットを飼育した。また水と飼料 (オリエンタル固形飼料 MF) は24時間自由摂取とした。

### 2. 組織化学的および電気泳動学的分析

摘出した筋は、秤量後、筋腹付近を厚さ数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 ( $-20^\circ\text{C}$ ) により厚さ $10\mu\text{m}$ の連続横断切片を作製した。それらに Myosin ATPase 染色 (preincubation pH 10.3)<sup>23)</sup>、および NADH-tetrazolium reductase 染色<sup>22)</sup>を施し、得られた標本の顕微鏡写真から Peter et al.<sup>24)</sup>の分類にしたがい筋線維を Slow-twitch,

Oxidative(SO), Fast-twitch, Oxidative, Glycolytic(FOG), Fast-twitch, Glycolytic(FG)線維に類別し、筋線維構成比および筋線維横断面積を算出した。

筋タンパク質を分析するために、筋を40倍 (V/W) の 8M グアニジン抽出液でホモジネイトし、得られた抽出液を一次元目を等電点電気泳動、二次元目を Sodium dodecyle sulfate-ポリアクリルアミドゲル電気泳動とする二次元電気泳動を Hirabayashi<sup>10)</sup>の方法にしたがって行った。クーマジープリリアントブルーによって染色したタンパク質の泳動パターンから、画像解析装置 (NEC 社製 PC-8001MK II, 日本ピーシーシステムズ社製写楽) を用いミオシン軽鎖 (LC) の各分子種を定量した。なお各タンパク質は, Pette<sup>25)</sup>および Hirabayashi<sup>10)</sup>の報告に基づき同定した。

成績の有意性の判定には, Student の t-test を用い, 5%および1%以下の危険率を有意水準とした。

## III 実験結果

### 1. 筋重量, 筋線維横断面積および筋線維構成比

表1に筋重量および筋線維横断面積を示した。筋重量は対照側に比し実験側で29.5%の高値が認められた ( $p < 0.01$ )。また筋線維横断面積についても実験側の全てのタイプの筋線維において高い傾向がみられ, その肥大率は, SO 線維で35.4% ( $p < 0.01$ ), FOG 線維で30.2% ( $p < 0.01$ ) であり, それらは筋重量のそれとほぼ同様の値であった。

図1には NADH-tetrazolium reductase 染色を施した切片の顕微鏡写真を示した。実験側(A)では他の筋線維と比べ極めて小さいものがみられ, そのような筋線維の比率は全体の約3%であった。また Maier et al.<sup>19)</sup>は, 活動量の増加し

Table 1 Effects of overloading on the muscle wet weight and muscle fiber area.

Group	n	Muscle wet weight		Muscle fiber area ( $\mu\text{m}^2$ )		
		(mg)		SO	FOG	FG
Cont.	7	460.4 $\pm$ 45.6		2605.0 $\pm$ 302.3	2564.3 $\pm$ 378.9	3325.3 $\pm$ 931.0
Exp.	7	596.4 $\pm$ 81.1**		3527.5 $\pm$ 852.4**	3339.4 $\pm$ 184.5**	3868.9 $\pm$ 598.3
		(129.5)		(135.4)	(130.2)	(116.3)

Values are means $\pm$ S.D. The numbers in parentheses are percentage of experimental values to control ones. \*\* denotes significant differences from control at 0.01 level.

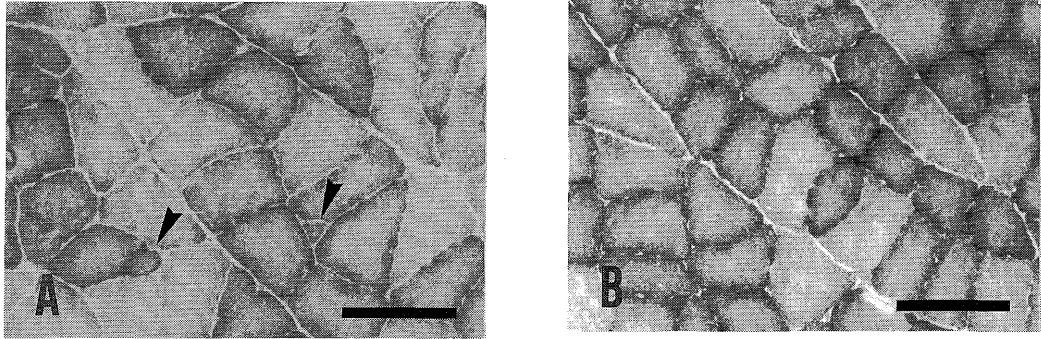


Fig. 1 Photomicrographs of transverse sections stained for NADH tetrazolium reductase in experimental (A) and control (B) muscles. Markedly small fibers were observed in experimental leg (arrows). There were no differences in fiber shapes between experimental and control muscles. Calibration bar=100μm.

た筋では正常な筋には存在しない膨脹し丸い形をした筋線維がみられるようになると報告しているが、実験側と対照側でその形状に顕著な差異は認められなかった。

図2に筋線維構成比を示した。対照側ではSO 6.8%, FOG 62.6%, FG 30.6%であったのに対し、実験側ではSO 11.5%, FOG 65.6%, FG 22.9%であり、SOおよびFG線維に有意な差異が認められた。

2. ミオシン軽鎖の分子種の分布

図3に二次元電気泳動によって分画された対照側における筋タンパク質の泳動パターンを示した。ミオシン軽鎖(LC)の分子種の分布についてみると、この筋ではfast type LC (LC1f, LC2f, LC3f)の占有率が高くslow type LC (LC1s, LC2s)はわずかに検出されたにすぎなかった。

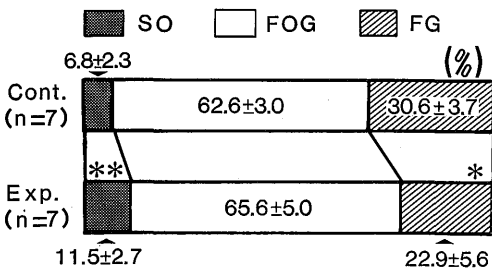


Fig. 2 Effects of overloading on muscle fiber composition. Values are means ± S.D. \* and \*\* denote significant differences from control at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

これらのスポットを定量化した結果を重量比で表2に示した。実験側では対照側と比較して、LC1sおよびLC2sで高値(p<0.01)が、LC2fおよびLC3fに低値(p<0.05および0.01)が認められた。表3にはfast alkali LC (LC1f, LC3f)に対するLC3fのモル比およびfast phosphorylatable, 5,5-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)-dissociated(DTNB) LC(LC2f)に対するfast alkali LC (LC1f, LC3f)のモル比を示した。各LCの分子量は, Pette and Schnez<sup>27)</sup>がラビットの骨格筋において報告したものの(LC1s-23000, LC1f-22300, LC2s-18500, LC2f-18400, LC3f-16000)にしたがった。両パラメーターともに対照側に比し実験側で有意な低値が示された。

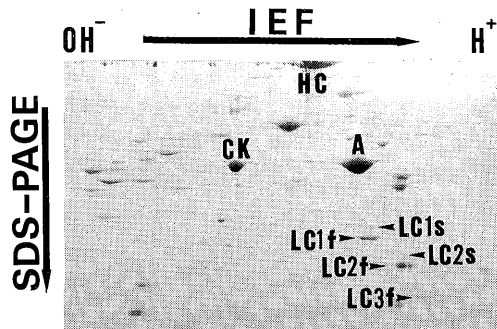


Fig. 3 Two-dimensional electrophoretic pattern in control muscle. HC; Myosin heavy chain, A; Actin, CK; Creatine Kinase, LC; Myosin light chain.

Table 2 Effects of overloading on relative distribution of myosin light chain isozymes

Group	n	LC1s	LC1f	LC2s	LC2f	LC3f (%)
Cont.	7	2.0±0.9	34.2±8.1	0.1±0.3	50.4±4.6	13.3±7.6
Exp.	7	12.0±3.4**	36.3±8.8	4.9±3.5**	43.0±6.4*	3.8±3.7**

Values are means±S.D. \*and \*\*denote significant differences from control at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

Table 3 Effects of overloading on molar ratio of LC3f:LC1f+LC3f and LC1f+LC3f:LC2f.

Group	n	LC3f	LC1f+LC3f
		LC1f+LC3f	LC2f
Cont.	7	0.38±0.11	0.90±0.08
Exp.	7	0.13±0.12**	0.82±0.12*

Values are means±S.D. \*and \*\*denote significant differences from control at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

#### IV 考 察

ウェイトトレーニングのような最大に近い筋力を発揮する運動を行うことにより筋は肥大するが<sup>15)</sup>, 持久性トレーニングでは同様の適応がみられない<sup>14)</sup>ことが明らかになっており, 筋の mass の増大に関して, それ以下では変化が生じない運動強度の閾値が存在すると考えられる。さらにその閾値を超えた強度であっても, そこでの相対的運動強度の違いにより各々の筋線維タイプに及ぼす影響は異なることを Gonyea<sup>7)</sup>がネコにウェイトトレーニングを負荷した研究から報告している。それによると 1 kg 以上の重量を前腕で Lifting することができた群では FG および FOG 線維に, できなかった群では SO 線維に主として肥大がみられたとしている。また遅筋線維に対する速筋線維の面積比 (FT/ST area ratio) が, 一流ウェイトリフターにおいて他の運動選手と比べ著しく高い (1.76) ことを認めた Tesch and Karlsson<sup>33)</sup>の報告はこれを支持するものである。

実験側では筋重量および SO, FOG 線維の筋線維横断面積に増大が認められたが(表 1), 術後極めて早期に起こる筋重量の増大は, 炎症性の浮腫による水分含有量の増大に起因すること<sup>1)</sup>, また電気刺激などにより慢性的な収縮を強いられた筋

では変性過程にあるとみられる丸く膨脹した筋線維がみられること<sup>19)</sup>が報告されており, 表 1 にみられるこのような変化は必ずしも生理的な適応を反映するとは限らない。しかしながら本研究では, 水分含有量が正常な筋線維のレベルに回復していると思われる<sup>11)</sup>術後90日のものについて検討したこと, さらに図 1 に示されるように実験側における筋線維の形状に異常がみられないことなどから, 足底筋における SO および FOG 線維の肥大は細胞内構成要素の構築を示すものであると思われる。したがって腓腹筋を切除することによって残存の協同筋は, その機能を代償するために速筋線維をも変化させるほど高い張力を発揮するものと考えられる。このような作業性の筋線維肥大について勝田<sup>12)</sup>は, 細胞内の特定の要素のみが特異的に合成されるのではなくバランスのとれた発達が促されることを電子顕微鏡を用いた研究から定量的に裏付けている。

筋の肥大は, 筋線維の増殖 (muscle fiber hyperplasia) ではなく個々の筋線維の肥大 (muscle fiber hypertrophy) に起因することが, 1897年の Morpurgo<sup>20)</sup>の報告以来広く認められているもの, その一方で増殖説も古くから唱えられている。1962年に Van Linge<sup>36)</sup>が, 次いで1970年に Edgerton<sup>4)</sup>が運動をさせたラットにおいて他と比べ著しく小さい筋線維が観察されたことから, 増殖を示唆しそのメカニズムとして筋線維の縦裂 (splitting) を提唱している。さらに Vaughan and Goldspink<sup>37)</sup>は, そのような現象は停止部に近い部位で高い頻度で発生することを観察しているが, これらは何れも組織化学的な切片からの報告である。

本研究においても実験側のみ横断面積の小さい筋線維がみられたが(図 1), これらについては Gonyea and Sale<sup>8)</sup>は, 縦裂により生じたものではなく壊死や単細胞の浸潤などの変性過程のもので

あるとしている。また Gollnick et al.<sup>6)</sup>は羽状筋では横断切片中の筋線維数は筋全体の総数を反映しないことを、さらに Timson et al.<sup>35)</sup>は筋の長軸方向に筋線維が比較的並行に走行しているヒラメ筋であっても、横断切片を作製する部位により（筋腹付近かあるいは腱に近いところか）その中に含まれる筋線維数は大きく異なることを指摘しており、組織化学的な横断切片から筋線維数の変化について検討することには限界があると考えられている。

このような見地に立ち Gollnick et al.<sup>6)</sup>は、硝酸消化法を用いて、ラットに協同筋の切除に加え走トレーニングを行わせるという極めて過酷な負荷を与えても筋線維数は変化しないことを報告している。一方増殖説を強く支持する Gonyea は、それ以前の組織化学的手法からの自らの結果<sup>7)</sup>が先に述べた理由によるアーチファクトに起因しているとの指摘<sup>8)</sup>に対し、Gollnick et al.<sup>6)</sup>と同様な方法（硝酸消化法）で筋線維数をカウントし、ウェイトトレーニングを負荷したネコの橈側手根屈筋で筋線維数が約 9%増加したことを認めている<sup>9)</sup>。また Gollnick et al.<sup>6)</sup>の報告については、筋に与える負荷強度が相対的に低いため増殖が起こらなかったであろうと推察している。さらにヒトを用いての研究においても、MacDougall et al.<sup>10)</sup>が長年トレーニングを積んできたパワーリフターやボディビルダーは、6ヶ月間ウェイトトレーニングを行った一般人と比べ筋の横断面積は明らかに大きいが個々の筋線維の面積には違いがみられないことを報告している。

これらの報告を基にすると、強度の高い筋収縮を繰り返せば筋線維の肥大とともに増殖が起こるが、少なくとも代償性肥大中には、筋線維数は変化しないと要約される。なお増殖のメカニズムとしては、splitting 以外には satellite cell の働きにより全く新しい筋線維が新生することも示唆されている<sup>5)30)</sup>。

骨格筋の機能を向上させようとする場合、収縮活動を負荷することがその基本であるが、強度、継続時間、頻度の組合せにより得られる効果は異なり、一般に一種類の活動様式で複数の異なるタイプの機能を同時に向上させることは難しいと考えられている。例えば筋力トレーニングによって筋力は増大するが、ミトコンドリアや毛細血管の密度といった持久能力の指標となるパラメーター

は、変化しないばかりかむしろ減少の方向へ移動することが認められている<sup>17)34)</sup>。

しかしながら、代償性肥大筋では筋線維の肥大に示されるように高強度トレーニングと類似した適応と同時に、それらでは起こり難いと考えられる SO 線維および slow type LC の占有率の増加など持久トレーニングの特徴とされる変化もみられた（図 2 および表 2）。この条件下では筋線維に増殖が生じないとする先行研究<sup>6)35)</sup>および図 1 にみられる変性過程にあると思われる筋線維の割合は極めて低い（約 3%）ことから、このような変化は腓腹筋の切除により足底筋の収縮様式が相動性から緊張性へと変化し活動量が増した結果、速筋線維内で slow type ミオシンの合成が促進され遅筋線維へと移行したことに主として起因するものと考えられる。この slow type LC の増加、さらに表 3 に示される fast type alkali LC に占める LC1f の増加は、収縮速度に減少がみられたとする Roy et al.<sup>29)</sup>の生理学的データと一致する。また slow type のミオシンは ATP の化学的エネルギーを機械的エネルギーに変換する効率 fast type のミオシンより優れていることが明らかとなっており<sup>3)</sup>、そのような意味からは、本研究でみられた LC の変化は必要とされる機能に対応した合目的な適応であると考えられる。

Baldwin et al.<sup>2)</sup>は、本研究と同様に代償性肥大筋において slow type LC の増加を観察しているが、電気刺激によって活動量を増加させるモデルを用いた報告とは一致せず、筋小胞体のカルシウムの取り込み能力には変化がみられないことを認めている。一方 Pette<sup>25)</sup>は具体的な機序についてはよく分からないものの、電気刺激による速筋線維から遅筋線維へのタイプ変換に、筋小胞体の能力不全に起因する筋形質内のカルシウム濃度の増加がそのトリガーとなるであろうと推察している。これらの報告にみられる筋小胞体の変化の差異についてその原因は明かではないが、収縮機構の機能変化に関して幾つかの異なるメカニズムが存在する可能性を示唆するものと思われる。

さらに本研究では、LC の分布をモル比という面から検討した。Staron and Pette<sup>32)</sup>は、ラビットの速筋では遅筋線維には slow type LC が、速筋線維には fast type LC が特異的に分布していることを報告しており、これにしたがえば

$$LC1f + LC3f / LC2f = 1$$

になると考えられるが、表3に示されるように、対照側においてさえこの値(alkali LC/DTNB LC;以後A/D比と記す)はそれよりややずれるものであった。これは本研究ではLCの分子量は測定しなかったこと、またこれまでラットLCの分子量についての報告はなされていないことなどの理由から、モル比の算出にラビットのLCの分子量を用いたことに一部原因があると思われる。LCの分子量がラットとラビットで全く同一であるとは限らないので、モル比そのものについて議論することは問題が多いが、代償性肥大中の変化については検討することは可能であろう。

一般に電気刺激ではalkali LC(LC1, LC3)に先立ちまずDTNB LC(LC2)にfast typeの減少, slow typeの増加が起こるとされている<sup>25)</sup>。本研究では実験側におけるA/D比の減少から明らかかなようにalkali LCから先に変化する傾向にあるが、この原因についてはよく分からない。しかしいずれにせよA/D比の変動は、細胞内に遊離するLCの頻度が高くないとすれば筋線維のタイプ移行中にfast typeとslow typeとが混在するミオシン分子が多くみられるようになることを示唆し、Pette and Schnez<sup>26)</sup>およびStaron et al.<sup>31)</sup>の先行研究を支持する結果となった。なおStaron and Pette<sup>32)</sup>は、単一筋線維の分析から3種のHC(ミオシン重鎖)と5種のLCを組合せると、生体内では計60種ものミオシンの分子種が存在するであろうと推察している。

先に述べたように、代償性肥大筋では筋小胞体の能力は低下しないこと<sup>2)</sup>、またLCのfastからslowへの移行がDTNB LCよりalkali LCにおいて早期に起るとされることなど、電気刺激によって筋の活動量を増加させるモデルとは異なる適応がみられ、このような変化の作用機序については今後の研究課題として残されている。

## V 総 括

体重196~259gのWistar系雄性ラットに片脚の腓腹筋を切除する手術を施し、術後90日に足底筋を摘出して組織化学的・電気泳動的検討を加えたところ、以下の結果を得た。

- 1) 実験側では対照側と比較して筋重量に29.5%, SOおよびFOG線維の筋線維横断面積に35.4%および30.2%の増加が認められた。
- 2) 筋線維構成比は対照側に対して実験側でSO

線維の増加およびFG線維の減少が認められた。

- 3) ミオシン軽鎖(LC)は、対照側に対して実験側でslow type LCの増加およびfast type LCの減少が、またfast alkali LC(LC1f, LC3f)内ではLC3fの相対的な減少が認められた。さらにfast type LCの減少率はDTNB LC(LC2)よりalkali LCにおいて高いことが示された。

これらのことから、協同筋の一部切除によって残存の筋では通常のトレーニングでは同時に起り難いとされる筋力の増加と収縮特性のfastからslowへの変化が顕著に生じるものと思われる。

## 参 考 文 献

- 1) Armstrong, R.B., P. Marum, P. Tullson and C. W. Saubert IV: Acute hypertrophic response of skeletal muscle to removal of synergists. *J. Appl. Physiol.*, 46: 835-842, 1979.
- 2) Baldwin, K.M., V. Valdez, R.E. Herrick, A.M. MacIntosh and R.R. Roy: Biochemical properties of overloaded fast-twitch skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 52: 467-472, 1982.
- 3) Crow, M.T. and M.J. Kushmerick: Chemical energetics of slow- and fast-twitch muscles of the mouse. *J. Gen. Physiol.*, 79: 147-166, 1982.
- 4) Edgerton, V.R.: Morphology and histochemistry of the soleus muscle from normal and exercised rats. *Am. J. Anat.*, 127: 81-88, 1970.
- 5) Giddings, C.J., W.B. Neaves and W.J. Gonyea: Muscle fiber necrosis and regeneration induced by prolonged weight-lifting exercise in the cat. *Anat. Rec.*, 211: 133-141, 1985.
- 6) Gollnick, P.D., B.F. Timson, R.L. Moore and M. Riedy: Muscular enlargement and number of fibers in skeletal muscles of rats. *J. Appl. Physiol.*, 50: 936-943, 1981.
- 7) Gonyea, W.J.: Role of exercise in inducing increases in skeletal muscle fiber number. *J. Appl. Physiol.*, 48: 421-426, 1980.
- 8) Gonyea, W.J. and D. Sale: Physiology of weight-lifting exercise. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 63: 235-237, 1982.
- 9) Gonyea, W.J., D.G. Sale, F.B. Gonyea and A. Mikesky: Exercise induced increases in muscle fiber number. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 55: 137-141, 1986.
- 10) Hirabayashi, T.: Two-dimensional gel electro-

- phoresis of chicken skeletal muscle proteins with agarose gels in the first dimension. *Analyt. Biochem.*, 117: 443-451, 1981.
- 11) Ianuzzo, C.D. and V. Chen: Metabolic character of hypertrophied rat muscle. *J. Appl. Physiol.* 46: 738-742, 1979.
  - 12) 勝田 茂: ラット骨格筋線維の活動性肥大に関する電子顕微鏡的研究。体力科学, 23: 67-76, 1974.
  - 13) 勝田 茂: 骨格筋の代償性肥大に関する組織化学的研究。九州大学体育学研究, 5 (5): 21-28, 1977.
  - 14) 勝田 茂, 金尾洋治, 満園良一: トレーニング効果から見た持久力トレーニングの量的限界に関する組織化学的, 生化学的研究。デサントスポーツ科学, 5: 213-220, 1984.
  - 15) MacDougall, J.D., G.C.B. Elder, D.G. Sale, J.R. Moroz and J.R. Sutton: Effects of strength training and immobilization on human muscle fibers. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 43: 25-34, 1980.
  - 16) MacDougall, J.D., D.G. Sale, G.C.B. Elder and J. R. Sutton: Muscle ultrastructural characteristics of elite powerlifters and bodybuilders. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 48: 117-126, 1982.
  - 17) MacDougall, J.D., D.G. Sale, J.R. Moroz, G.C.B. Elder, J.R. Sutton and H. Howald: Mitochondrial volume density in human skeletal muscle following heavy resistance training. *Med. Sci. Sports*, 11: 164-166, 1979.
  - 18) MacDougall, J.D., G.R. Ward, D.G. Sale, and J. R. Sutton: Biochemical adaptation of human skeletal muscle to heavy resistance training and immobilization. *J. Appl. Physiol.*, 43: 700-703, 1977.
  - 19) Maier, A., B. Gambke and D. Pette: Degeneration-regeneration as a mechanism contributing to the fast to slow conversion of chronically stimulated fast-twitch rabbit muscle. *Cell. Tissue Res.*, 244: 635-643, 1986.
  - 20) Morpurgo, B.: Ueber activitäts-hypertrophie der willkürlichen muskeln. *Virchow's Archiv*, 150: 522-552, 1897.
  - 21) Noble, E.G., B.L. Dabrowski and C.D. Ianuzzo: Myosin transformation in hypertrophied rat muscle. *Pflügers Arch.*, 396: 260-262, 1983.
  - 22) Novikoff, A.F., W. Schin, J. Drucker: Mitochondrial localization of oxidation enzymes staining results with two tetrazolium salts. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9: 47-61, 1961.
  - 23) Padykula, H.A. and H. Herman: The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. *J. Histochem. Cytochem.*, 3: 170-195, 1955.
  - 24) Peter, J.B., R.J. Barnard, V.R. Edgerton, C.A. Gillespie and K.E. Stempel: Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry*, 11: 2627-2633, 1972.
  - 25) Pette, D.: Regulation of phenotype expression in skeletal muscle fibers by increased contractile activity. *Biochemistry of exercise IV, Human Kinetics*, 1986, p3-26.
  - 26) Pette, D. and U. Schnez: Coexistence of fast and slow type myosin light chains in single muscle fibers during transformation as induced by long term stimulation. *FEBS Lett.*, 83: 128-130, 1977.
  - 27) Pette, D. and U. Schnez: Myosin light chain patterns of individual fast and slow-twitch fibers of rabbit muscle. *Histochemistry*, 54: 97-107, 1977.
  - 28) Roy, R.R., K.M. Baldwin, T.P. Martin, S.P. Chimarusti and V.R. Edgerton: Biochemical and physiological changes in overloaded rat fast- and slow-twitch ankle extensors. *J. Appl. Physiol.*, 59: 639-646, 1985.
  - 29) Roy, R.R., I.D. Meadows, K.M. Baldwin and V. R. Edgerton: Functional significance of compensatory overloaded rat fast muscle. *J. Appl. Physiol.*, 52: 473-478, 1982.
  - 30) Salleo, A., G. Anastasi, G.L. Spada, G. Falzea and M.G. Denaro: New muscle fiber production during compensatory hypertrophy. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 12: 268-273, 1980.
  - 31) Staron, R.S., B. Gohlsch and D. Pette: Myosin polymorphism in single fibers of chronically stimulated rabbit fast-twitch muscle. *Pflügers Arch.*, 408: 444-450, 1987.
  - 32) Staron, R.S. and D. Pette: The multiplicity of combinations of myosin light chains and heavy chains in histochemically typed single fibers: Rabbit tibialis anterior muscle. *Biochem. J.*, 243: 695-699, 1987.
  - 33) Tesch, P.A. and J. Karlsson: Muscle fiber type and size in trained and untrained muscles of elite athletes. *J. Appl. Physiol.*, 59: 1716-1720, 1985.
  - 34) Tesch, P., A. Thorsson and P. Kaiser: Muscle capillary and fibre type characteristics in weight and power lifters. *J. Appl. Physiol.*, 56: 35-38, 1984.

- 35) Timson, B.F., B.K. Bowlin, G.A. Dudenhoefter and J.B. George: Fiber number, area and composition of mouse soleus muscle following enlargement. *J. Appl. Physiol.*, 58: 619-624, 1985.
- 36) Van Linge, B.: The response of muscle to strenuous exercise: An experimental study in the rat. *J. Bone Joint Surg.*, 44 B: 711-721, 1962.
- 37) Vaughan, H.S. and G. Goldspink: Fibre number and fibre size in a surgically overloaded muscle. *J. Anat.* 129: 293-303, 1979.