

原 著

## 全身持久的トレーニングに対する骨格筋収縮調節蛋白“トロポニン”の適応

Adaptation of regulatory protein “Troponin” in skeletal muscle fibers to endurance training.

河 畑 有里子

Yuriko Kawabata

増 原 光 彦

Mitsuhiko Masuhara

### Abstract

Troponin plays a key role in the regulation of muscle contractions. During strenuous endurance exercise, muscle contractions occur by the sliding of actin into myosin filaments, which depends on  $Ca^{2+}$ -activation. Troponin consists of actin filament and plays the role of controlling the bridge between actin and myosin filaments by releasing  $Ca^{2+}$  from the sarcoplasmic reticulum. However, the adaptive characteristics of troponin are not clear. This study experimentally examined the characteristics of adaptation of regulatory protein “Troponin” in skeletal muscle fiber (m. soleus and m. plantaris) to endurance using the Wistar male rats. These rats were divided into control (CG), exercise 30 minutes (Ex30G) and exercise 90 minutes (Ex90G). Rats in the exercise groups (Ex30G and Ex90G) performed running on a treadmill at the velocity of 30m/min and a grade of 10 degrees for 8 weeks. The results obtained from this study were as follows: 1) There was a tendency for troponin I (TnI) and Troponin C (TnC) of m. soleus and m. plantaris, and fast Troponin T (TnT) of m. plantaris to increase with the duration of the exercise 2) In the fast Troponin T (TnT) of m. plantaris, fast TnT3 decreased but TnT1 increased with the duration of exercise 3) It was suggested that Troponin C, I, T in muscle fibers were important to more safely achieve smooth and effective muscle fibers contractions during endurance exercise. Especially, the changeover from troponin TnT3 to troponin TnT1 in m. plantaris may be important during strenuous endurance training.

**キーワード** カルシウムイオン、ウエスタンブロットイング、アクチンフィラメント、筋小胞体

Calcium ion, western blotting, actin filament, sarcoplasmic reticulum

## 1. 緒言

骨格筋は脳の運動中枢からの刺激を末梢神経（運動神経）を介して受けて、はじめて収縮する。特に運動神経末端から筋に送られた電気刺激は筋線維内にある筋小胞体に到達すると、筋小胞体内腔に存在する $\text{Ca}^{2+}$ が放出される（若林ほか, 1977）。この $\text{Ca}^{2+}$ を受けとり、筋収縮の調節を行っているのが、トロポニン（Tn）である。アクチンフィラメントを構成する筋収縮調節蛋白トロポニン（Tn）は、TnI, TnC, TnTと3つのサブユニットで構成されている（Schaub et al., 1969）。各サブユニットの働きについて、TnIはアクチン、ミオシンの架橋形成阻害機能を有し、TnCは $\text{Ca}^{2+}$ との結合機能を有し、そして、TnTはトロポミオシン（Tm）と結合機能を有している（Wang et al., 1990）。Tmはアクチンフィラメントに沿って巻きついており、アクチンとミオシンの架橋を阻止している。筋収縮について、筋小胞体より筋原線維内に $\text{Ca}^{2+}$ が放出された環境下において、 $\text{Ca}^{2+}$ と結合したTnCは、TnIと強く結合しそのTnIのアクチン、ミオシン架橋形成阻害機能を抑制する。また、TnTは $\text{Ca}^{2+}$ に連結し、Tmと結合させ、Tmがアクチンフィラメント上の位置をシフトすることにより、アクチンとミオシンの架橋形成を促し、筋収縮がおこる。

以上のように、Tnは筋収縮にとって重要な役割を果たしている。さらに、各サブユニットはfast線維型（以下：fast）、slow線維型（以下：slow）のアイソフォームに分けることができる。しかし、アイソフォームによる機能の違いについての研究は少ない（Kischel et al., 2001）。その中でもTnTにおいてはfastとslowの分画がみられ、収縮応答に対する $\text{Ca}^{2+}$ 活性感受性に違いがあることが報告されている（Bastide et al., 2002）。

Zhi et al., (2007) やKischel et al., (2001) は、ラットのヒラメ筋において筋萎縮によるミオシンタイプの速筋化に伴い、TnI, C, Tにおいてもslowからfastへのタイプ移行が生じたことを述べている。筋線維タイプの違いは、収縮速度や瞬発性に大きく関わっており、Tnの適応変化も

同様に筋収縮速度、力発揮に関連していることが考えられる。

持久的トレーニングなどの長時間運動は、収縮、弛緩の繰り返しが活発に行われ、筋小胞体から $\text{Ca}^{2+}$ も断続的にリズミカルに放出されている（Allen et al., 1989）。また、このような長時間の運動に伴い、ATPの分解産物であるADPの細胞内濃度の上昇や筋細胞内水素イオン濃度の上昇により、筋小胞体の $\text{Ca}^{2+}$ ポンプ作用を持つ $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase活性機能が抑制される（Kim et al., 1981）。そのために、細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度上昇を引き起こす。また、収縮蛋白であるミオシンにおいては、持久的トレーニングの効果に対する多くの研究が報告されている（Adams et al., 1993；Andersen, 1977）。持久的トレーニングに伴い速筋線維の多い筋に対して、ミオシンタイプはMHC II bから中間筋であるMHC II aへタイプ移行し、運動時間によりミオシンタイプの変化の割合は異なることが報告されている（Haydar et al., 1999）。そこで、運動時間の違いにおけるミオシンタイプの移行の変化から、同じ筋原線維内のTnも同様な変化を伴っている可能性があるが、Tnにおける研究は未だ報告されていない。このように、運動やトレーニング等の激しい筋収縮状態における筋小胞体や筋収縮蛋白の研究は多く存在するが、Tn, Tmなどの筋収縮調節蛋白の運動適応の特性については明らかではない。

本研究は、持久的トレーニングによるTnの量的変化から、骨格筋収縮調節蛋白Tnに対する運動適応の特性について筋線維タイプや、ミオシンタイプの変化が異なることが報告されている運動時間の違いにより検討した。

## 2. 実験方法

### 1) 実験動物

実験動物は、7週齢のWistar系雄ラットを用いた。ラットは無作為にコントロール群（CG：n=5）、運動30分群（Ex30G：n=5）、運動90分群（Ex90G：n=5）の3群に分け飼育した。飼育は、水と固形飲料を自由に摂取させ、室温20℃、湿度75%、12時間の明暗サイクル下で行った。な

お、実験に先だち、環境に慣れさせるために、6週齢から1週間予備飼育を行った。

## 2) 実験プロトコル

運動群のトレーニングは、小動物用トレッドミルを用いて行った。運動期間は8週間とし、持久的トレーニングによるミオシンタイプの選筋化を報告したHaydar et al., (1999) の運動を参考にし、運動強度は最終運動強度が傾斜10°、速度30m/minになるように漸増して行った (Table. 1)。この運動強度は中等度 (75% VO<sub>2</sub>max) に匹敵することが報告されている (Haydar et al., 1999)。

Table 1. Details of the training protocol used in the study.

Training Group	Week of Training							
	1	2	3	4	5	6	7	8
30min								
Duration, min	20	30	30	30	30	30	30	30
Speed, m/min	25	25	30	30	30	30	30	30
Grade(°)	0	0	3	5	6	8	10	10
90min								
Duration, min	60	90	90	90	90	90	90	90
Speed, m/min	25	25	30	30	30	30	30	30
Grade(°)	0	0	3	5	6	8	10	10

## 3) 筋ホモジネートおよび蛋白濃度測定

被験ラットは、8週間の持久的トレーニング終了日の翌日、ペントバルビタール腹腔内投与により全身麻酔を行った。そして、その麻酔下において、すばやくヒラメ筋、足底筋を摘出し、被験筋とした。被験筋は、10倍量の抽出液 (100mM Tris-HCl, 137mM NaCl, 5mM EDTA pH 8.3, 1% IGEPAL CA630, 10% glycerol, protease inhibitor cocktail ; 5  $\mu$ l/ml) でホモジナイズ (Polytron PT1300 Littau-Switzerland) し、14,000gで30分間遠心分離した。この上清を試料とし、分析まで-80°Cで保存した。蛋白濃度は、BCA Protein Assay Kit (PIERCE, U. S. A) を用いて、分光光度法 (HITACHI U-3210, ヒタチ株式会社, 日本) で分析した (波長 562nm)。

## 4) 電気泳動、ウエスタンブロッティングの方法

本研究では、TnI, C, T蛋白量はウエスタンブロッティング法により測定した。蛋白濃度が算出されたサンプルは、ホモジナイズで用いた抽出液を用いて蛋白濃度を一定にした。それらのサンプルは、SDSサンプルバッファー (2% SDS, 20% Sucrose, 0.06% プロモフェノールブルー, 100mM DTT, 100mM Tris-HCl, pH8.8) に混入し、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (sodium dodecyl-sulfate polyacrylamide gel ; SDS-PAGE) を用いて25mAの定電流下で約90分間電気泳動を施した。なお、SDS-PAGEに用いたゲル濃度は、TnI, Cが15%、TnTは12.5%であった。泳動終了後、ゲルはメンブレン (Hybound-P, Amersham) に転写した。そのメンブレンは、目的とする蛋白以外の反応を防ぐために5% skim milk, TBS pH 7.6, 0.1% Tween-20から構成される溶液でブロッキングした後、それぞれ1次抗体 (TnI : rabbit anti-troponin I antibody ; SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC. TnC : mouse anti-troponin C antibody ; SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, I-NC. TnT : mouse anti-troponin T antibody ; SIGMA)、2次抗体 (HRP-linked anti-rabbit IgG, HRP-linked anti-mouse IgG ; GE Healthcare) と反応させた。また、本研究におけるTnTに対する抗体は、Bastide et al., (2002) がfast TnTとして用いたものと同様の抗体を使用した。そして、化学発光検出試薬 (ECL Plus Western Blotting Detection Reagents, Amersham, England) を加えることによって生じた反応光をX線フィルムに感光した。免疫反応により検出された蛋白のバンドの定量はImage J (NIH) を用いた。また、Tnはアクチンフィラメントに付随するため、定量化の確認としてアクチン蛋白量を、電気泳動で得たゲルからCBB染色により検出した。

## 3. 統計処理

本研究において得られた全ての測定値は、平均  $\pm$  標準誤差 (mean  $\pm$  SE) で示した。体重、筋湿重量およびウエスタンブロッティング法に

よるTnI, TnC, TnTの平均値の差は、1元配置の分散分析を用いて調べ、もし有意性が認められた場合、Tukey法による多重比較検定を用いて群間の平均値の差を危険率5%未満で判定した。また、本研究でfast TnTをさらに3つのアイソフォームに分画することを可能とし、ウエスタンブロッティングにより検出された3つのバンドに対し上から順に番号を付け、全体に対する割合をそれぞれ比較し、同様の検定を行った。

なお、本実験は1988年に日本生理学会が制定した「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」を遵守し、厳正適格に行った。

#### 4. 実験結果

##### 1) 体重及び筋湿重量

体重は、Ex30G, Ex90GともにCGに比して有意に低い値を示した ( $P<0.05$ )。筋湿重量において、ヒラメ筋の体重1g当たりの筋湿重量は、Ex90GがCGに比して有意に高い値を示した ( $P<0.05$ )。しかし、CGとEx30Gに有意な差はみられなかった。足底筋の体重1g当たりの筋湿重量は、Ex30GおよびEx90GともにCGに比して有意に高い値を示した ( $P<0.05$ )。しかしながら、筋湿重量の絶対量は、両筋とも3群間で差はみられなかった (Table. 2)。

Table 2. Body, muscle weight of rat in each group.

	CG (n=5)	Ex30G (n=5)	Ex90G (n=5)
Body mass (g)	405±8.9	355±7.8 *	346±9.5 *
Soleus Muscle weight (g)	0.155±0.004	0.155±0.004	0.157±0.006
Muscle weight (mg/g)	0.38±0.007	0.436±0.01	0.456±0.02 *
Plantaris Muscle weight (g)	0.413±0.01	0.426±0.01	0.393±0.01
Muscle weight (mg/g)	1.036±0.016	1.202±0.024 *	1.138±0.03 *

\*:  $p<0.05$  Significantly different from control group

##### 2) Tnの蛋白量

ウエスタンブロッティング法によるTn蛋白量は、ヒラメ筋TnI, TnCはともにCGに比して、Ex30G, Ex90Gが増加する傾向を示した。その増加の割合は、CGに対してEx30G, Ex90GともにTnIが約1.1倍であり、TnCは約1.2倍であった (Fig. 1, 2)。しかし、ヒラメ筋TnI, TnCは、3

群間に有意差がみられなかった。足底筋のTnI, TnCおよびfast TnTの全体量は、ヒラメ筋と同様にCGに比してEx30G, Ex90Gは増加傾向を示した。その増加の割合は、CGに対してEx90GはTnCは約1.2倍、fast TnTは約1.4倍であった (Fig. 4, 5)。しかし、足底筋のTnI, TnTは、3群間に有意差はみられなかった。足底筋TnIは、CGに対してEx30Gが約2倍の有意な増加を示し ( $P<0.05$ )、Ex90Gが約1.8倍に増加する傾向にあった (Fig. 3)。足底筋fast TnTは、本研究で検出された3つのバンド1~3に対する割合を算出し (Fig. 6)、蛋白量は、全群ともに分子量が最も高いfast TnT1が少なく、分子量が最も低いfast TnT3が多かった。また、運動に伴いfast TnT3は減少傾向にあり、CGに比してEx90Gは有意に低い値を示した ( $P<0.05$ )。また、足底筋において全個体を対象にfast TnT1とfast TnT3との関係を検討したところ、有意な負の相関関係がみられた (Fig. 7)。

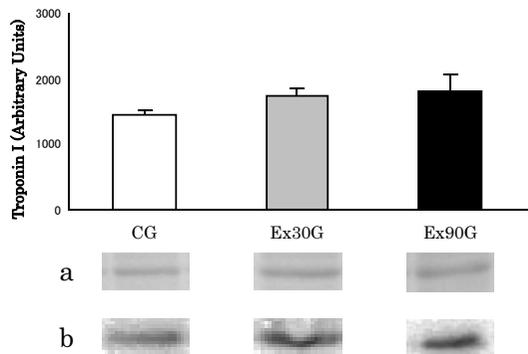


Fig. 1 Expression levels, measured by Western blotting and densitometry (mean±SE) for TnI of m. soleus of CG, Ex30G and Ex90G. a ; The photograph shows actin of m. soleus in SDS-PAGE. b ; The photograph shows TnI of m. soleus in western blotting. The molecular weight of TnI is 25kD.

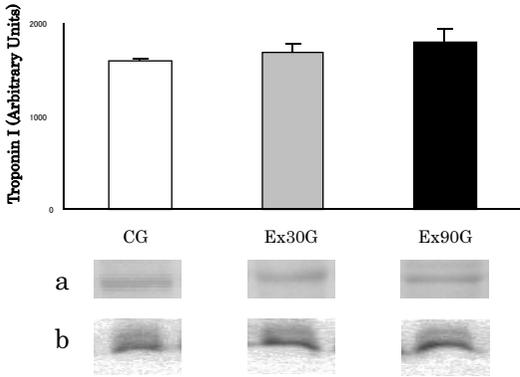


Fig. 2 Expression levels, measured by Western blotting and densitometry (mean± SE) for TnC of m. soleus of CG, Ex30G and Ex90G. a ; The photograph shows actin of m. soleus in SDS-PAGE. b ; The photograph shows TnC of m. soleus in western blotting. The molecular weight of TnC is 18kD.

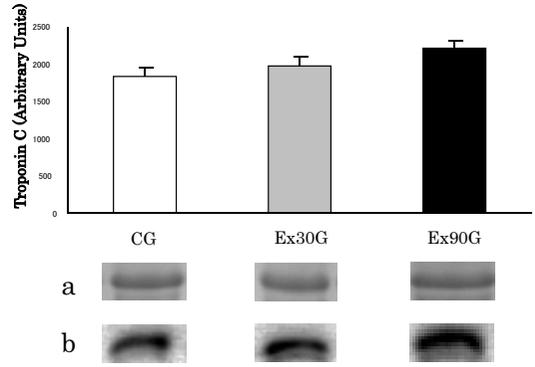


Fig. 4 Expression levels, measured by Western blotting and densitometry (mean± SE) for TnC of m. plantaris of CG, Ex30G and Ex90G. a ; The photograph shows actin of m. plantaris in SDS-PAGE. b ; The photograph shows TnC of m. plantaris in western blotting.

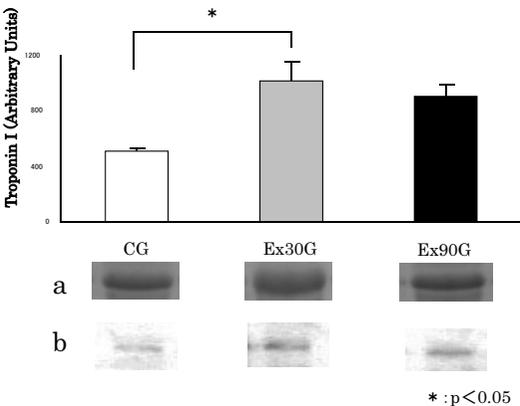


Fig. 3 Expression levels, measured by Western blotting and densitometry (mean± SE) for TnI of m. plantaris of CG, Ex30G and Ex90G. a ; The photograph shows actin of m. plantaris in SDS-PAGE. b ; The photograph shows TnI of m. plantaris in western blotting. \*: p<0.05

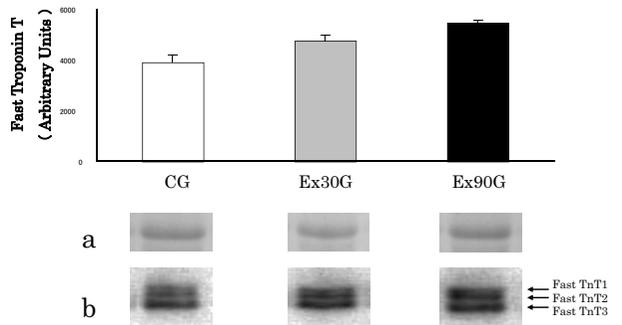


Fig. 5 Expression levels, measured by Western blotting and densitometry (mean±SE) for fast TnT of m. plantaris of CG, Ex30G and Ex90G. a ; The photograph shows actin of m. plantaris in SDS-PAGE. b ; The photograph shows fast TnT of m. plantaris in western blotting. The molecular weight of TnT is 38kD.

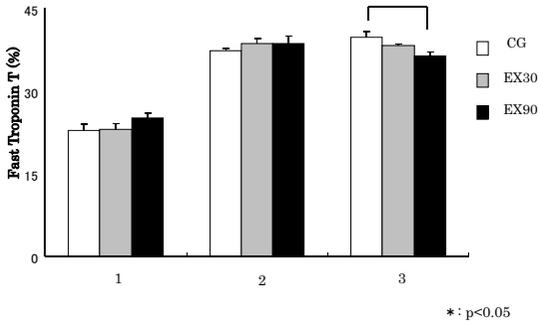


Fig.6 Expression levels, measured by Western blotting and densitometry (mean± SE) for fast TnT isoform of m.plantaris.

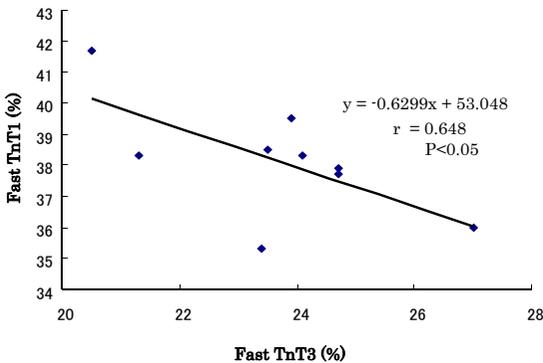


Fig.7 Relationship between fast TnT1 and fast TnT3 in all samples of plantaris.

## 5 考察

ラットの体重は、一般に運動により減少することが報告されている。山岡ほか（1964）、原田・酒井（1985）は、体重の増加量が安静飼育の場合より運動を負荷すると鈍化し、これは、体脂肪と体水分量の差が増加量の抑制に起因することを指摘している。本研究においても体重は、運動群であるEx30G、Ex90Gは、CGに対して有意な低値を示した（ $P < 0.05$ ）。

Booth（1985）は、持久的トレーニングによる筋湿重量はわずかに増加するか変化しないことを報告し、本研究も同様に、運動群Ex30G、Ex90GとCGに有意な差はみられなかった。体重当たりの筋湿重量がCGに比してEx30G、Ex90Gで増加したことは、主に脂肪量などの結合組織が運動によって減少したものと考えられる。

若林、江橋ほか（1977）は、運動神経の細胞体が興奮すると、その電気信号を筋細胞膜に伝え、筋細胞と連結している筋小胞体が刺激されて、 $Ca^{2+}$ が放出をもたらす、筋収縮蛋白系が収縮すると述べている。筋収縮蛋白であるアクチンフィラメントには、調節蛋白であるトロポニン（Tn）、トロポミオシン（Tm）が含まれている。Tnは、 $Ca^{2+}$ と結合し、アクチンフィラメントとミオシンフィラメントの架橋を促進させ、筋収縮のOn,Offのスイッチの役割を果たす。ウエスタンブロッティングによるTn蛋白量の結果は、ヒラメ筋、足底筋ともにTnI、TnC、および足底筋のfast TnTにおいて増加傾向を示した。今回、ヒラメ筋のfast TnTは検出されなかった。ヒラメ筋は、遅筋型であることからfast TnTはほとんど存在しないことが示唆される。TnのCGに対する増加率は、足底筋TnI以外は全て運動時間に伴い増加した。足底筋のTnIにおいて、CGに対してEx90GよりEx30Gで有意に高いことについて（ $P < 0.05$ ）、運動が長時間に伴いTnI合成の高まるピークが異なることが考えられるが、Ex90Gも有意差はなかったものの増加率は高かったことから、この結果については今後、さらに調べる必要がある。また、足底筋TnIの増加率がヒラメ筋TnIより高いことについて

て、足底筋が遅筋型であるヒラメ筋より収縮速度が速く大きな力を発揮できるが、疲労しやすい特性を持つことと関係している可能性がある。だが、筋線維タイプの違いにおける増加率は、足底筋TnI以外はほとんど変わらなかったことから、TnCにおいては、筋線維タイプの違いによる変化の度合いは、ほぼ同様であることが示唆された。Tnはアクチンフィラメントに存在し、アクチン重合体上に周期的に結合している (Ohtsuki et al., 1967)。Tnの量的変化について、今回の持久的トレーニングによりアクチンフィラメントの蛋白合成の活性化が起きているとするとアクチンフィラメント自体も増加し、調節蛋白Tnも増加傾向を示した可能性がある。そのため、本研究では、Tn蛋白量と同時にアクチンの蛋白量も電気泳動法により分析した。その結果、アクチンはどの筋群においても同等量であったため、本研究におけるTnの増加は、Tn単体の増加であることを示唆する。

本研究によるTn分子の増加は、有意な結果ではなかったものの長時間運動に対する適応応答と考えられる。Tnは、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇に伴い構造変化を引き起こし機能するため、Ca<sup>2+</sup>と密接な関係があると思われる。Ca<sup>2+</sup>放出、取り込み機能を持つ筋小胞体は、長時間の運動に伴いCa<sup>2+</sup>-ATPase活性やCa<sup>2+</sup>取り込み速度の低下を引き起こすことはすでに述べられている (Kim et al., 1981)。したがって、長時間運動における激しい筋収縮の繰り返しは、筋細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を通常より高いレベルに維持された状態になっていることが考えられる。筋細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が高い状態では、Ca<sup>2+</sup>依存性中性プロテアーゼであるカルパインは活性化され、筋原線維蛋白であるTnT, TnIやTmなどが分解されることを報告している (Reddy et al., 1975)。また、Tnは、収縮、弛緩をリズムカルに継続されるために機能し続けなければならない。そのため、長時間におけるTnの筋収縮の調節機能に伴いTnの分解の活性化が高まり、Tn機能を低下することを防ぐため、新しいTn合成の活性化が必要とされ、合成を促進させた可能性がある。これは、Tn蛋白合成を高める原因の一つとして、

長時間の筋収縮に伴うTn機能を維持するための適応と考えられる。また、基本的にTnは、3つのサブユニットで一つのTnとして活動しており、筋収縮においてCa<sup>2+</sup>受容蛋白TnCや、架橋を阻止しているTmに結合することで架橋形成するTnTにおける筋収縮のOnのスイッチ機能に対し、筋収縮阻害機能を持つTnIが筋収縮から弛緩へのフィードバックシステムとして働き、それぞれの機能に応じた量的変化から、円滑な筋収縮を保持しているものと思われる (Fig. 8)。

本研究の持久的トレーニングにおいて運動時間に伴い、足底筋fast TnT3は減少し、逆にfast TnT1が増加傾向を示した。足底筋fast TnT3においては、CGに対してEx90Gが有意な減少を示したことから (p<0.05)、長時間の運動時間に伴い適応変化していることが示唆される。そして、Fig. 7に示すようにfast TnT3とfast TnT1の関係は、有意な負の相関関係がみられた (p<0.05)。この結果は、Haydar et al., (1999) が述べているミオシンタイプにおける持久的トレーニングによる遅筋化に伴う速筋型MHC II bの減少や中間筋MHC II aの増加と類似すると思われる。これは、fast TnT3はfast TnTの中でも特に速筋型であり、逆にfast TnT1が中間筋型に近い蛋白である可能性が示唆され、fast TnT3の減少は、持久的トレーニングによる遅筋化の適応変化であると考えられる。TnTアイソフォームは収縮応答に対してCa<sup>2+</sup>活性に対する感受性に違いがあることから、持久的トレーニングに対するTnの適応特性はTnTアイソフォームの適応変化と高い関係性があることが考えられる。

本研究は、持久的トレーニングによる激しい筋収縮におけるTnの量的変化から、どのサブユニットにおいてもCGより高いレベルで維持されていることが示唆された。また、今回の持久的トレーニングにおいて筋線維タイプにおける顕著な違いはみられなかったが、足底筋TnIにおいては、筋線維タイプとの違いや運動時間との違いに他のサブユニットとは異なる関係性があることが示唆されたが、今後、さらに検討する必要がある。また、運動時間の違いについては、fast TnTアイソフォームにおいて、ミオシンタ

イプ変化に類似した特性がみられ、運動時間に伴い適応変化している可能性が示唆された。本研究は、Tnに対する持久的トレーニングにおいて検討したが、今後は、さまざまな運動やトレーニングに対して検討する必要がある。だが、本研究から長時間の激しい筋収縮において、Tnは運動適応性の変化を生じ、激しい円滑な筋収縮を保証するために重要な役割を果たしていることが示唆された。

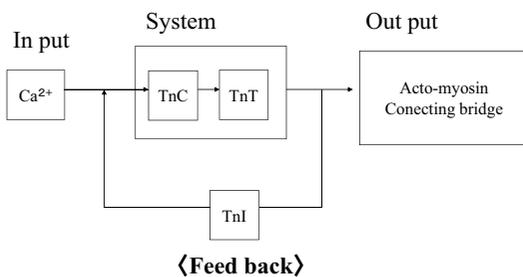


Fig.8 Scheme of control actuation of Troponin T, I, C on the sliding of actin-myosin.

## 6 まとめ

持久的トレーニングに伴う骨格筋収縮調節蛋白Tnの運動に対する適応について、筋線維タイプや、運動時間の違いにより検討した。Wistar系雄ラットをコントロール群 (CG)、運動30分群 (Ex30G)、運動90分群 (Ex90G) に分け、運動群には速度30m/min、傾斜10° のトレッドミル走を8週間行わせた。トレーニング期間終了後の翌日、赤筋の代表的な骨格筋であるヒラメ筋と速筋線維の優位な足底筋のトロポニンを分析し、以下の結果を得た。

ヒラメ筋のTnIやヒラメ筋、足底筋の TnCおよび足底筋のfast TnTは、持久的トレーニングの時間に伴い増加する傾向を示した。足底筋TnIにおいて、CGに対しEx30Gが有意な増加を示し、足底筋TnIはヒラメ筋TnIより増加率が高い傾向を示した。足底筋fast TnTは、長時間の運動によりfast TnT3が減少し、fast TnT1が増加する傾向を示した。

その結果により、(1) 骨格筋収縮調節蛋白トロポニンは長時間の継続的な筋収縮において、速筋線維の多い足底筋のTnIの持久的トレーニングに伴う適応変化は、TnC,TnTよりも著しいこと。(2) 長時間の筋収縮において、Tnの機能を維持するためにTnの量的変化をもたらし、Ca<sup>2+</sup>取り込みを円滑にするために、TnI, TnC, TnTそれぞれの機能に応じた合成を促す適応反応を生じていること。(3) 持久的トレーニングにおける足底筋fast TnT3からfast TnT1への変化は、Tnの運動適応の特性と高い関連性があること。

以上のことが示唆された。

## 文献

- Adams, GR., Hather, BM., Baldwin, KM., Dudley, GA. (1993) Skeletal muscle myosin heavy chain composition and resistance training. *J. Appl. Physiol.*, 74: 911-915.
- Allen, D. G., Lee, J. A., and Westerblad, H. (1989) Intracellular calcium and tension during fatigue in isolated single muscle fibers from xenopus laevis. *J. Physiol.*, 415: 433-458.
- Andersen, P., and Henriksson, J. (1977) Capillary supply of the quadriceps femoris muscle of man: adaptive response to exercise. *J. Physiol.*, 270: 677-690.
- Bastide, B., Kischel, B., Puterflam, J., and Stevens, L. (2002) Expression and functional implications of troponin T isoforms in soleus muscle fibers of rat after unloading. *Eur. J. Physiol.*, 444: 345-352.
- Booth, FW., and Watson, PA. (1985) Control of adaptations in protein levels in response to exercise. *Federation. Proc.*, 44: 2293-2300.
- 原田邦彦・酒井敏夫 (1985) ラットの基礎代謝に及ぼす中等度な強度による持久的反復運動負荷の影響：日本生理誌, 47: 213-218.
- Haydar, A., Demirel, Scott, K, Powers, Hisashi, Naito, Michael, Hughes, and Jeff, S. (1999) Exercise-induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose-

- response relationship. *J. Appl. physiol.*, 86: 1002-1008.
- Kim, D. H., Wible, G. S., Witzman, F. A., and Fitts, R. H. (1981) The effect of exercise-training on sarcoplasmic reticulum function in fast and slow skeletal muscle. *Life. Sci.*, 28: 2671-2677.
- Schaub, M. C., and Perry, S. V. (1969) The relaxing protein system of striated muscle. Resolution of the troponin complex into inhibitory and calcium ion-sensitizing factors and their relationship to tropomyosin. *J. Biochem.*, 115: 993-1004.
- Ohtsuki, I., Masaki, T., Nonomura, Y., and Ebashi, S. (1967) Periodic distribution of troponin longthethin filament. *J. Biochem.*, 61: 817-819.
- Kischel, P., Bastide, B., Stevens, L., and Mounier, Y. (2001) Expression and functional behavior of troponin C in soleus muscle fibers of rat after hindlimb unloading. *J. Appl. Physiol.*, 90: 1095-1101.
- Reddy, M. K., Etlenger, J. D., Rabinowitz, M., Fischman, D. A., and Zak, R. (1975) Removal of Zlines and alpha-actinin from isolated myofibrils by a calcium-activated neutral protease. *J. Biol. Chem.*, 250: 4278-4284.
- 若林健之・江橋節郎 (1977) 筋の構造と機能. 医学書院：東京, pp. 308-333.
- Wang, G., Sarkar, S., Gergely, J., and Tao, T. (1990) Ca<sup>2+</sup>-dependent Interactions between the C-helix of Troponin-C and Troponin-I. *J. Biol. Chcm.*, 265: 4953-4957.
- 山岡誠一・蜂須賀弘久・細野吉治・森脇泰子・能勢令子 (1964) ラットに対する負荷運動の質と発育に関する研究, 京都学芸大学紀要B, 23: 57-65.
- Zhi, Bin, Yu, Fang, Gao, Han, Zhong, Feng, and Jian-Ping, Jin. (2007) Differential regulation of myofilament protein isoforms underlying the contractility changes in skeletal muscle unloading. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 292: C1192-C1203.