

=原 著=

雌性Fischer344系ラットヒラメ筋におけるミオシン重鎖アイソフォーム構成比の加齢変化

辻本尚弥* 鈴木英樹** 春日規克**

Age-related Changes of Myosin Heavy Chain Isoform Composition
in Female Fischer344 Rats Soleus Muscles

Hisaya TSUZIMOTO, Hideki SUZUKI, Norikatsu KASUGA

Abstract

We studied a change of myosin heavy chain (MyHC) isoform composition by aging in female Fischer344 rats soleus muscles. Three (N=6)-, six (N=6)-, twelve (N=6)-, twenty (N=7)- and twenty-sevens (N=6)-month old female rats were examined. The weight of soleus muscle was not changed with aging. The relative weight of soleus muscle was not changed from 3-month-old to 12-month-old. But, the relative weight in 20- and 27-month old was significantly lower than 3-month old. The existence of type IIa MyHC was identified, and this isoform composition was not different by 12-month old from 3-month old. But, it was not possible to identified existence of type IIa MyHC in 20- and 27-month old.

These results indicated that the changes by aging would be different from about 20-month in female Fischer344 rat soleus muscle.

Key words: Soleus muscle, Fischer344 rat, Myosin heavy chain, Aging

緒 言

骨格筋は加齢に伴いその機能が低下する^{18) 38)}。骨格筋の機能低下は運動能力や姿勢保持能力の低下を引き起こす^{21) 22) 26) 29) 33)}。ヒトの直立時の姿勢保持^{14) 35) 37)}や直立歩行^{16) 28)}での姿勢維持には、主にヒラメ筋が働いている。ラットなどの実験動物においてもヒラメ筋は姿勢維持に関与し、慢性的に活動をしている¹⁷⁾。ラットのヒラメ筋は組織化学的には、ほとんどがSO(タイプI)線維より構成される典型的な遅筋である^{4) 10)}。これまでヒラメ筋の加齢による変化については多くの報告がある。生理学的特性では張力の低下^{3) 6) 31)}、収縮時間と1/2弛緩時間の遅

延^{3) 13) 31) 45)}や、若齢に比べて短縮速度が遅い³²⁾ことが報告されている。形態的には筋線維の消失による筋線維総数の減少^{9) 13) 15) 20) 24)}、筋線維の委縮^{1) 6) 7) 23)}や筋線維横断面積の分布域の広がり⁴⁰⁾、速筋線維(タイプIIa)の選択的消失や委縮^{1) 24) 40)}とそれによるタイプI線維構成比の増加^{2) 8) 11) 12)}が報告されている。生化学的特性では加齢によるミオシンATPase活性⁴⁵⁾やクエン酸合成酵素活性の低下³⁶⁾、ミオシン重鎖(Myosin heavy chain; MyHC)アイソフォーム構成比の変化^{41) 43)}が報告されている。

これまで加齢の研究には多くの種類の実験動物が用いられている。齧歯類ではラットやマウスが多く用いられている。特にラットでは、他の系に比べて

* 久留米大学保健体育センター

The Institute of Health and Physical Education, Kurume University.

**愛知教育大学健康科学教室

Department of Health Science, Aichi University of Education.

長寿命であり、低体重で成長によるばらつきが少なく、攻撃性の比較的低いFischer344系を用いた研究が多くみられる^{9) 11) 12) 39) 43) 44) 49) 52) 53)}。我々もFischer344系ラットを用いて、骨格筋の速筋や骨を対象に加齢に関する研究を行ってきた^{19) 46) 47) 50) 51)}。

本研究では典型的な遅筋であるヒラメ筋に注目し、Fischer344系ラットにおけるミオシンの重鎖アイソフォーム組成の加齢による変化について検討した。

方 法

1. 実験動物及び飼育方法

実験動物には、生後3 (N=6), 6 (N=6), 12 (N=6), 20 (N=7), 27 (N=6) カ月齢のFischer344系の雌性ラットを用いた (日本S L C)。

餌 (CE-2: 日本クレア) 及び飲水は自由摂取とし、昼夜逆転した12時間の明暗サイクルで室温22±1°C, 湿度60±5%の環境下で飼育した。ラットは24×38×20cm (KN-623: 夏目製作所) の大きさのケージにて飼育された。なお飼育および屠殺での実験動物の扱いについては、「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」に沿って行った²⁵⁾。

2. 筋の摘出と粗ミオシンの抽出・変性

各月齢においてラットは体重を計測した後、ペントバルビタールナトリウム溶液にて麻酔を行い、麻酔下において頸動脈より放血し屠殺した。ヒラメ筋と足底筋及び腓腹筋を摘出し重量を測定した後、液体窒素により冷却したイソペンタン中でただちに瞬間凍結し、生化学的分析を行うまで-60°Cの冷凍庫で保存した。はじめに、ヒラメ筋から粗ミオシンの抽出を行った。粗ミオシン抽出の方法は、Bar & Petteの方法⁵⁾によった。粗ミオシンの最終タンパク濃度は、60µg/mlとした。また、摘出した各筋の重量をそれらの筋の総重量で除して、各筋の重量構成比を求めた。

3. 電気泳動によるMyHCアイソフォームの分析

MyHCアイソフォームの分離は、Sugiura & Murakamiの方法⁴²⁾を改変したSDS存在下の電気泳動法 (SDS-PAGE) にて行った⁴⁸⁾。泳動はマイクロスラブ電気泳動装置 (KS 8020型: マリソル) を用いて行った。ゲル条件は分離ゲルには、30% (v/v) のGlycerolを含むアクリルアミド総濃度 (T)=5% (w/v) で架橋度 (C)=1%の淡溶液と40% (v/v) のGlycerolを含むT=8% (w/v) でC=1%の濃溶液より作成した濃度勾配ゲル [0.1% (w/v) SDS, 0.375M (w/v) Tris (hydroxymethyl) aminomethane, 0.03

% (w/v) Ammonium Peroxodisulfate, 0.067% (v/v) TEMED, pH 8.8] を用いた。濃縮ゲルには、35% (v/v) のGlycerolを含むT=3.5% (w/v) でC=20%のゲル [0.1% (w/v) SDS, 0.125M (w/v) Tris (hydroxymethyl) aminomethane, 0.03% (w/v), Ammonium Peroxodisulfate, 0.067% (v/v) TEMED, pH 6.8] を用いた。泳動は、装置にゲルを設置し泳動用バッファ [0.1% (w/v) SDS, 25mM (w/v) Tris (hydroxymethyl) aminomethane, 0.192M (w/v) Glycine, pH 8.3] を上下槽に満たした後、変性粗ミオシンサンプル5µl (タンパク濃度: 300ng) を泳動溝にのせ開始した。泳動は濃縮ゲル中は50V, マーカー色素が分離ゲルに入ってから150Vで行った。泳動時間はマーカー色素が分離ゲルに入ってから18時間とした。

4. 銀染色による可視化と画像処理によるMyHCアイソフォーム構成比の分析

銀染色による可視化と画像処理によるMyHCアイソフォーム構成比の分析は前報^{47) 48) 50)}と同様の方法によった。泳動後ゲルは銀染色 (銀染色キットワコー: 和光純薬) を施しタンパク質を可視化した^{47) 48) 50)}。MyHCアイソフォームの同定は、全てのMyHCアイソフォームを含むように前脛骨筋と横隔膜筋、ヒラメ筋より抽出し調整された粗ミオシン混合溶液を、被験溶液と同時に泳動して得られたパターンをマーカーとして行った^{47) 48) 50)}。アイソフォーム構成比の分析は、画像解析により行った^{47) 48) 50)}。

5. 統計処理

各測定値は群ごとに平均値、標準偏差及び標準誤差を求め統計学的な検定を行った。各測定項目はまず一要因の分散分析にて検定し、有意差がみられた場合の多重比較には、統計量をt値とするRyan法を用いた。全ての検定において有意水準は5% (p<0.05) とした³⁴⁾。

結 果

各月齢における体重とヒラメ筋重量、体重100gあたりの相対的ヒラメ筋重量を平均値と標準誤差によりTable 1に示した。体重は3ヶ月齢から20ヶ月齢まで増加したが、3ヶ月齢と6ヶ月齢及び20ヶ月齢と27ヶ月齢では差が認められなかった。ヒラメ筋重量は3ヶ月齢から6ヶ月齢まで増加し、6ヶ月齢以後は差が認められなかった。相対的ヒラメ筋重量は3ヶ月齢から12ヶ月齢では差がみられなかったが、

Table 1 Body weight and soleus muscle weight in each age

Age (Number)	3-month (6)	6-month (6)	12-month (6)	20-month (7)	27-month (6)
Body weight (g)	175±2	191±3	226±7*	275±9*†	255±22*
SOL weight (mg)	63±1	69±2	77±2*	75±2	71±5
Relative SOL weight (mg/100gBody Weight)	36±1	36±1	34±1	27±1*†	28±1*

Values are expressed as mean±SEM

* : Significant difference from the value in 3-month

† : Significant difference from the value in previous month

SOL ; soleus muscle

Table 2 Total muscle weight and percentage of each muscle weight in each age

Age (Number)	3-month (6)	6-month (6)	12-month (6)	20-month (7)	27-month (6)
Total muscle weight (mg)	1115±46	1178±55	1276±79	1217±46	1008±187†
Percentage of each muscle weight in total muscle weight(%)					
Soleus	5.5±0.2	5.8±0.1*	6.1±0.2*	6.2±0.2*	7.1±0.2*
Plantaris	14.8±0.2	15.1±0.1	15.5±0.2	16.1±0.2*	16.3±0.3*
Gastrocnemius	79.7±0.2	79.1±0.2	78.4±0.3	77.7±0.4*	76.6±0.4*

Values are expressed as mean±SEM

* : Significant difference from the value in 3-month

† : Significant difference from the value in previous month

total muscle weight ; the amount of soleus, plantaris and gastrocnemius muscle weight

3ヶ月齢に比べ20, 27ヶ月齢で低値を示し, 両月齢では差がみられなかった。次に各月齢における主な後肢底屈筋群(ヒラメ筋, 足底筋及び腓腹筋)の総重量と各筋の構成割合を平均値と標準誤差によりTable 2に示した。主な後肢底屈筋群の総重量は3ヶ月齢から20ヶ月齢まで差がみられなかったが, 20ヶ月齢に比べ27ヶ月齢で低値を示した。後肢屈筋群総重量の構成割合においてヒラメ筋では加齢に従い構成割合が増加する傾向にあり, 3ヶ月齢に比べ他の月齢が高値を示した。足底筋及び腓腹筋では3ヶ月齢から12ヶ月齢では差がみられなかったが, 3ヶ月齢に比べ20, 27ヶ月齢で低値を示し, 両月齢では差がみられなかった。Fig.1 にヒラメ筋横断切片のミオシンATPase染色像(pH4.6とホルマリン固定後のpH10.3)を示した。このようにヒラメ筋はタイプI線維とタイプIIa線維より構成されている。形態的にみるとヒラメ筋では筋線維横断面積はタイプI線維がタイプIIa線維に比べ大きい。Fig. 2にはSDS-PAGEによるMyHCアイソフォームの分離像を示した。AはタイプIとタイプIIaの2種類の

MyHCアイソフォームが観察された例を, BではタイプI MyHCアイソフォームのみが観察された例を示している。Table 3には各月齢におけるMyHCアイソフォーム構成比を平均値と標準誤差により示した。タイプIIa MyHCは3ヶ月齢から12ヶ月齢では存在が確認され, その構成比も差がみられなかった。しかし, 20, 27ヶ月齢ではタイプIIa MyHCの存在は確認できなかった。そのためタイプI MyHCは3ヶ月齢から12ヶ月齢では差がみられなかったが, 3ヶ月齢に比べ20, 27ヶ月齢が高値を示し, 両月齢では差がみられなかった。

考 察

本研究では, 雌性Fischer344系ラットにおいてヒラメ筋の相対的筋重量やMyHCアイソフォーム構成比の変化が20ヶ月齢より顕著にみられた。

主要な後肢底屈筋群における個々の筋の構成割合は加齢に伴い変化した。前月齢に対する各筋重量の変化率(委縮率)は, ヒラメ筋, 足底筋, 腓腹筋で12から20ヶ月齢にかけてはそれぞれ2.7, 0.5, 4.3%

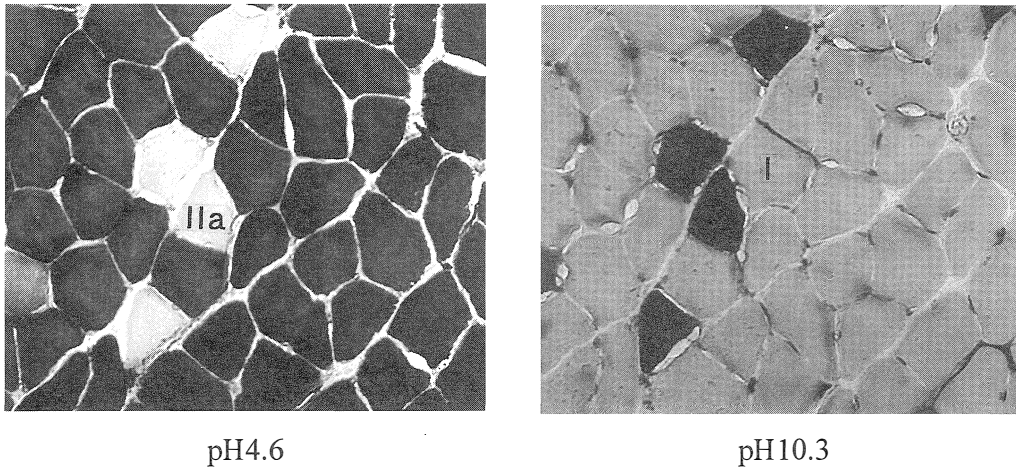


Fig. 1 Serial cross-sections of rat soleus muscle stained for myofibrillar actomyosin ATPase after preincubation at pH 10.3(right) and 4.6 (left)
I; type I fiber, IIa; type IIa fiber

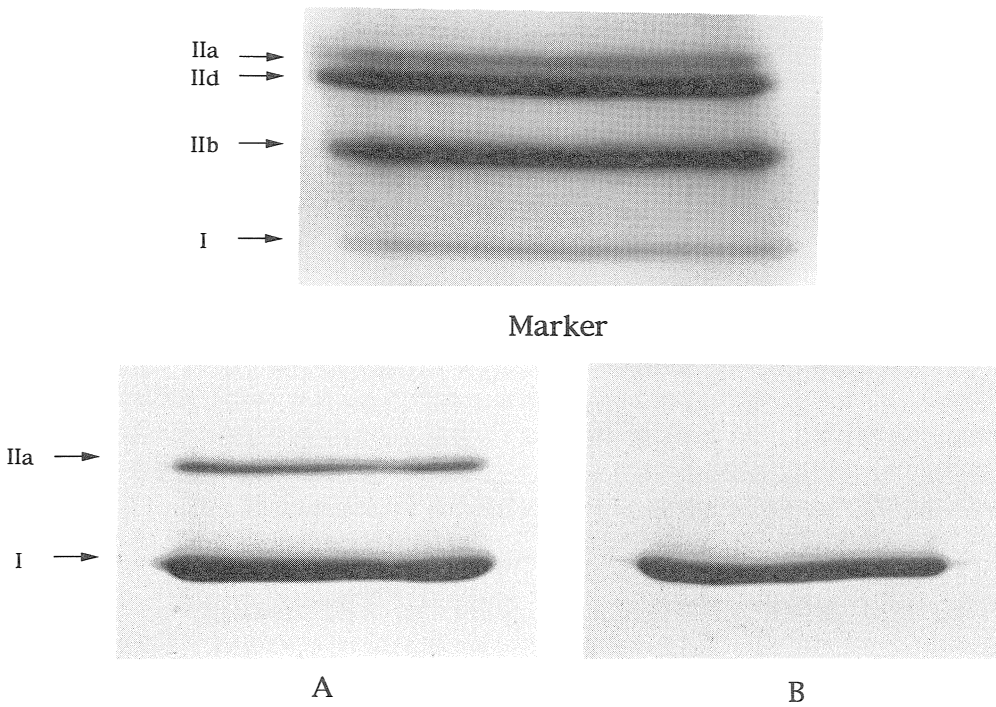


Fig. 2 Electrophoretograms of myosin heavy chain isoforms in soleus muscle.
Marker: mixture of tibialis anterior, diaphragm and soleus muscle
(A: Type I and IIa myosin heavy chain was existent, B: Only type I myosin heavy chain was existent)

Table 3 Myosin heavy chain composition of soleus muscle in each age

Age (Number)	3-month (6)	6-month (6)	12-month (6)	20-month (7)	27-month (6)
Type I (%)	99.0±0.5	99.0±0.6	98.5±0.6	100.0±0.*†	100.0±0.*
Type IIa (%)	1.0±0.5	1.0±0.5	1.5±0.6	N.D.	N.D.

Values are expressed as mean±SEM

* : Significant difference from the value in 3-month

† : Significant difference from the value in previous month

N.D. ; Not detected

で、20からに27ヶ月齢にかけてはそれぞれ5.3, 16.3, 18.3%であった。これは筋線維タイプ構成比の違いを反映して腓腹筋がヒラメ筋³⁹⁾や足底筋²⁷⁾に比べて委縮率が大きいと考えられる。ヒラメ筋では筋重量の加齢変化もみられず、絶対重量としては老齢期においても筋量が維持されていることがわかる。しかし、相対的筋重量では12ヶ月齢に比べ20ヶ月齢群が低値を示した。また3ヶ月齢より12ヶ月齢までは相対的筋重量は変化しなかった。このことは体重増加に見合う筋重量の増加が3ヶ月齢より12ヶ月齢までみられるが、20ヶ月齢ではみられなくなっていたことを示している。ヒラメ筋は抗重力筋であり姿勢維持において主要な働きをしている¹⁷⁾。そのためヒラメ筋では機能的要請からラットの体重増加に見合う筋重量の増加がみられると考えられる。本研究の結果は20ヶ月齢の前後においてヒラメ筋重量の増加に関与するタンパク質代謝、特にタンパク質の合成能が低下したことによると思われる。

次にFischer344系雌性ラットのMyHCアイソフォーム構成比についてみると、若齢期と成熟期にあたる3及び6ヶ月齢ではタイプIIa MyHCが約1%程度であった。ヒラメ筋のMyHCアイソフォーム構成比の加齢変化について、Sugiuraら⁴¹⁾は雄性Wistar系ラットでタイプIIa MyHCの割合が5, 10, 20の各週齢及び1, 2の各年齢ではそれぞれ15.3, 16.2, 3.1, 3.0, 0.1%であると報告している。Sullivanら⁴³⁾は雌性specific pathogen-free barrier-reared (SPF-BR)のFischer344系ラットヒラメ筋において3及び22ヶ月齢ではタイプIIa MyHCはそれぞれ6.1%と0%であると報告している。本研究及びSullivanら⁴³⁾の報告ではSugiuraら⁴¹⁾の報告に比べIIa MyHCの割合が低値を示している。これまでヒラメ筋内のタイプIIaについては組織化学的な筋線維タイプ構成比としての報告が多い。AnsvedとLarsen³⁾は雄性Wistar系ラットでは本数比で3, 6, 12, 20の各月齢ではそれぞれ10, 6, 1, 1%と報

告している。雄性Fischer344系ラットについてはEdingerら^{11) 12)}がタイプIIa線維の本数比が3ヶ月齢では15.1%, 9ヶ月齢では19.5%と10%, 28ヶ月齢で9.3%, 29~30ヶ月齢で5.9%と2%であると報告している。組織化学的にはタイプIIa線維の若齢での割合は、むしろ雄性Fischer344系ラットが高値を示している。Vaughanら⁵⁴⁾ およびKrotkiewskiら³⁰⁾は雄の精巣除去によりFOG (IIa) 線維の占める割合が減少したことから、筋内のFOG (IIa) 線維の割合に対する雄性ホルモンの関与を示唆している。Sugiuraら⁴¹⁾の結果と本研究及びSullivanら⁴³⁾の結果との違いは一因として性差が考えられる。さらに本研究の結果をSullivanら⁴³⁾の報告と比べると、IIa MyHCの割合が若齢期において低値を示した。Sullivanら⁴³⁾は研究にSPF-BRを用いている。本研究では用いたラットは十分に整備された環境で飼育されているがSPF-BRではない。ラット骨格筋のMyHCアイソフォーム構成比にSPF-BRが影響する可能性が考えられるが、この点については不明である。

Sullivanら⁴³⁾はIIa MyHCの存在が22ヶ月齢で確認できないと報告している。本研究では20ヶ月齢においてすでにIIa MyHCアイソフォームの存在が確認できなかった。若齢期のIIa MyHC構成比に違いがみられたにも関わらず、その存在が確認できなくなった時期はほぼ同じであった。相対的筋重量においても20ヶ月齢では低値を示していたことから、神経と筋の関係や筋細胞内において、その構造や機能の維持から退縮へと向かう変化がこの頃に起こっているのではないと思われる。しかし、本研究では20ヶ月齢前後の体重や筋重量、MyHC構成比の変化を詳細に検討してはいない。加齢によるタンパク質の合成能とMyHCアイソフォーム合成過程のそれぞれの変化とそれらの関りを考えるうえで、これらの経時的变化については20ヶ月齢の前後の時期をさらに詳細に検討する必要があると思われる。

本研究では雌性Fischer344系のラットにおけるMyHCアイソフォーム構成比の加齢変化をみると、筋重量の増加が見られなくなっていた20ヶ月齢においてIIa MyHCの存在が確認できなくなっていたことが示された。

要 約

本研究では雌性Fischer344系ラットヒラメ筋におけるミオシンの重鎖アイソフォーム組成の加齢による変化について検討した。実験動物には、生後3(N=6), 6(N=6), 12(N=6), 20(N=7), 27(N=6)の各月齢の雌性ラットを用いた。各月齢にてヒラメ筋と足底筋及び腓腹筋を摘出し重量を測定した後、各筋の重量構成比を求めた。次にSDS-PAGEを用い各月齢のヒラメ筋MyHCアイソフォーム構成比の分析を行った。

ヒラメ筋の重量は6ヶ月齢以後は差が認められなかった。相対的筋重量は3ヶ月齢から12ヶ月齢では差がみられなかったが、3ヶ月齢に比べ20, 27ヶ月齢で低値を示した。各筋の構成割合について腓腹筋では3ヶ月齢に比べ20, 27ヶ月齢で低値を示した。各月齢におけるMyHCアイソフォーム構成比ではタイプIIa MyHCは3ヶ月齢から12ヶ月齢では存在が確認され、その構成比に差がみられなかった。しかし、20, 27ヶ月齢ではタイプIIa MyHCの存在は確認できなかった。

これらの結果から雌性Fischer344系のラットヒラメ筋では20ヶ月齢前後より加齢変化の様相が異なる可能性が示唆された。

引 用 文 献

- 1) Alnaqeeb, M. A., Goldspink, G. (1987): Changes in fibre type, number and diameter in developing and ageing skeletal muscle. *J. Anat.*, 153, 31-45.
- 2) Ansved, T., Edstrom, L. (1991): Effects of age on fibre structure, ultrastructure and expression of desmin and spectrin in fast- and slow-twitch rat muscles. *J. Anat.*, 174, 61-79.
- 3) Ansved, T., Larsson, L. (1989): Effects of ageing on enzyme-histochemical, morphometrical and contractile properties of the soleus muscle in the rat. *J. Neurol. Sci.*, 93 (1), 105-124.
- 4) Armstrong, R.B., Phelps, R.O. (1984): Muscle fiber type composition of the rat hindlimb. *Am. J. Anat.*, 171(3), 259-272.
- 5) Bar, A., Pette, D. (1988): Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal muscle. *FEBS Lett.*, 235 (1-2), 153-155.
- 6) Brown, M., Hasser, E. M. (1996): Complexity of age-related change in skeletal muscle. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 51(2), B117-B123.
- 7) Brown, M., Ross, T.P., Holloszy, J.O. (1992): Effects of aging and exercise on soleus and extensor digitorum longus muscles of female rats. *Mech. Ageing Dev.*, 63 (1), 69-77.
- 8) Danielli Betto, D., Betto, R., Megighian, A., Midrio, M., Salviati, G., Larsson, L. (1995): Effects of age on sarcoplasmic reticulum properties and histochemical composition of fast- and slow-twitch rat muscles. *Acta Physiol. Scand.*, 154 (1), 59-64.
- 9) Daw, C.K., Stames, J.W., White, T.P. (1988): Muscle atrophy and hypoplasia with aging: impact of training and food restriction. *J. Appl. Physiol.*, 64 (6), 2428-2432.
- 10) Delp, M. D., Duan, C. (1996): Composition and size of type I, IIA, IID/X, and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. *J. Appl. Physiol.*, 80 (1), 261-270.
- 11) Eddinger, T. J., Cassens, R. G., Moss, R. L. (1986): Mechanical and histochemical characterization of skeletal muscles from senescent rats. *Am. J. Physiol.*, 251 (Cell Physiol. 20), C421-C430.
- 12) Eddinger, T. J., Moss, R. L., Cassens, R. G. (1985): Fiber number and type composition in extensor digitorum longus, soleus, and diaphragm muscles with aging in Fisher 344 rats. *J. Histochem. Cytochem.*, 33 (10), 1033-1041.
- 13) Edstrom, L., Larsson, L. (1987): Effects of age on contractile and enzyme-histochemical

- properties of fast- and slow-twitch single motor units in the rat. *J. Physiol. (Lond.)*, 392, 129-145.
- 14) Fukuda, T. (1984): Statokinetic reflexes in equilibrium and movement, 2 ed, Ushio, N., Okubo, J. (eds.), Univ. Tokyo Press, Tokyo, 311p.
- 15) Gutmann, E., Hanzlikova, V. (1966): Motor unit in old age. *Nature*, 209, 921-922.
- 16) Haxton, H. A. (1947): Muscle of the pelvic limb. A study of the differences between bipeds and quadrupeds. *Ana. Rec.*, 98, 337-346.
- 17) Hnik, P., Vejsada, R., Goldspink, D. F., Kasicki, S., Krekule, I. (1985): Quantitative evaluation of electromyogram activity in rat extensor and flexor muscles immobilized at different lengths. *Exp. Neurol.*, 88 (3), 515-528.
- 18) Holloszy, J. O. (1995): Workshop on Sarcopenia: Muscle atrophy in old age. *J. Gerontol.*, 50A (Special Issue), 1-157.
- 19) 稲垣洋, 藤田慎一, 辻本尚弥, 内藤久士, 鈴木英樹(1997): 老齢期における持久性トレーニングがラット足底筋の形態的・組織化学的特性に及ぼす影響, *東海保健体育科学*, 19, 43-48.
- 20) 石原昭彦, 勝田茂(1987): 加齢にともなうラット骨格筋線維, 脊髄内支配運動ニューロンの総数の変化について, *体育学研究*, 32 (1), 43-48.
- 21) 石原昭彦(1988): 老化にともなう筋線維の委縮・減少について, *体育の科学*, 38 (9), 702-707.
- 22) 石原昭彦(1991): 筋の老化とトレーニング, *臨床スポーツ医学*, 8 (7), 769-774.
- 23) 石原昭彦, 山崎先也, 岡本啓, 田口貞善(1994): 加齢による筋委縮に対する運動の抑制効果, *日本生理誌*, 56, 111-117.
- 24) Ishihara, A., Naitoh, H., Katsuta, S. (1987): Effects of aging on the total number of muscle fibers and motoneurons of the tibialis anterior and soleus muscles in the rat. *Brain Res.*, 435 (1-2), 355-358.
- 25) 実験動物飼育保管研究会(1980): 実験動物の飼養及び保管等に関する基準の解説, 第1版, 総理府内閣総理大臣官房管理室, ぎょうせい, 東京, 115p.
- 26) 神田健郎, 運動機能の老化(1994): 積田亨(編), 老化の科学, 東京化学同人, 東京, pp.104-109.
- 27) Klitgaard, H., Marc, R., Brunet, A., Vandewalle, H., Monod, H. (1989): Contractile properties of old rat muscles: effect of increased use. *J. Appl. Physiol.*, 67 (4), 1401-1408.
- 28) 近藤四郎(1961): ヒトの姿勢とからだつき. 現代人間学(第1巻)人の進化, みすず書房, 東京, pp.207-254.
- 29) Kovanen, V. (1989): Effects of aging and physical training on rat skeletal muscle. An experimental study on the properties of collagen, laminin, and fibre types in muscles serving different functions. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 577, 1-56.
- 30) Krotkiewski, M., Kral, J. G., Karlsson, J. (1980): Effects of castration and testosterone substitution on body composition and muscle metabolism in rats. *Acta Physiol. Scand.*, 109, 233-237.
- 31) Larsson, L., Edstrom, L. (1986): Effects of age on enzyme-histochemical fibre spectra and contractile properties of fast- and slow-twitch skeletal muscles in the rat. *J. Neurol. Sci.*, 76 (1), 69-89.
- 32) Larsson, L., Li, X., Yu, F., Degens, H. (1997): Age-related changes in contractile properties and expression of myosin isoforms in single skeletal muscle cells. *Muscle Nerve Suppl.*, 5, S74-S78.
- 33) McComas, A. J. (1996): Skeletal muscle Form and Function, *HUMAN KINETICS*, Champaign, 325-341.
- 34) 森敏昭, 吉田寿夫(1990): 心理学のためのデータ解析テクニカルブック. 第1版, 北大路書房, 京都, 349p.
- 35) 中村隆一, 斉藤宏(1996): 基礎運動学. 第4版, 医歯薬出版, 東京, pp.295-309.
- 36) Nasrullah, I., Mazzeo, R. S. (1992): Age-related immunosenescence in Fischer 344 rats: influence of exercise training. *J. Appl. Physiol.*

- Physiol., 73 (5), 1932-1938.
- 37) 森於菟, 大内弘 (1982): 分担 解剖学 1 総説・骨学・靭帯学・筋学. 第11版, 金原出版, 東京, pp.249-437.
- 38) Rogers, M. A., Evans, W. J. (1993): Changes in skeletal muscle with aging: effects of exercise training. *Exerc. Sport Sci. Rev.*, 21, 65-102.
- 39) Rumsey, W. L., Kendrick, Z. V., Starnes, J. W. (1987): Bioenergetics in the aging Fischer 344 rat: effects of exercise and food restriction. *Exp. Gerontol.*, 22 (4), 271-287.
- 40) Shorey, C. D., Everitt, A. V., Armstrong, R. A., Manning, L. A. (1993): Morphometric analysis of the muscle fibres of the soleus muscle of the ageing rat: long-term effect of hypophysectomy and food restriction. *Gerontology*, 39 (2), 80-92.
- 41) Sugiura, T., Matoba, H., Miyata, H., Kawai, Y., Murakami, N. (1992): Myosin heavy chain isoform transition in aging fast and slow muscles of the rat, *Acta Physiol. Scand.*, 144 (4), 419-423.
- 42) Sugiura, T., Murakami, N. (1990): Separation of myosin heavy chain isoforms in rat skeletal muscles by gradient sodium dodecyl sulfate-polyacrylamid gel electrophoresis. *Biomed. Res.*, 11 (2), 87-91.
- 43) Sullivan, V. K., Powers, S. K., Criswell, D. S., Tumer, N., Larochelle, J. S., Lowenthal, D. (1995): Myosin heavy chain composition in young and old rat skeletal muscle: effects of endurance exercise. *J. Appl. Physiol.*, 78 (6), 2115-2120.
- 44) 鈴木英樹, 春日規克, 内藤久士, 山内秀樹, 辻本尚弥, 石河利寛(1996): 老齢期の骨格筋における持久性走運動の有効性の検討. *デサントスポーツ科学*, 16, 124-130.
- 45) Syrový, I., Gutmann, E. (1970): Changes in speed of contraction and ATPase activity in striated muscle during old age. *Exp. Gerontol.*, 5, 31-35.
- 46) 辻本尚弥, 鈴木英樹, 春日規克(1994): 走及びジャンプトレーニングの前脛骨筋に対する効果. *名古屋経済大学・市邨学園短期大学 自然科学研究会誌*, 29 (1), 5-18.
- 47) 辻本尚弥, 鈴木英樹, 春日規克, 石河利寛(1995): 走及びジャンプトレーニングによるラット骨格筋ミオシン重鎖アイソフォーム組成の変化. *体力科学*, 44 (1), 97-104.
- 48) 辻本尚弥, 鈴木英樹, 春日規克(1995): 老齢期ラット下肢筋における走及びジャンプトレーニングの効果. *名古屋経済大学・市邨学園短期大学 自然科学研究会誌*, 30 (1), 9-21.
- 49) 辻本尚弥, 鈴木英樹, 春日規克(1996): ラット腓腹筋外側部表層における筋線維及び毛細血管の老化による変化. *名古屋経済大学・市邨学園短期大学 自然科学研究会誌*, 31 (1), 1-13.
- 50) 辻本尚弥, 鈴木英樹, 平野朋枝, 西沢富江, 小坂井留美, 山下晋, 春日規克(1996): ラット骨格筋に対するトレーニング期間の違いによる影響. *東海保健体育科学*, 18, 1-8.
- 51) 辻本尚弥, 鈴木英樹, 春日規克(1997): ラット下肢骨格筋に対する発育期より開始したトレーニングの影響. *久留米大学保健体育センター研究紀要*, 5, 29-35.
- 52) 梅村義久, 三浦哉, 川井紀代, 辻本尚弥, 鈴木英樹(1993): トレーニングと加齢が骨に及ぼす影響. *中京大学体育研究所紀要*, 7, 1-4.
- 53) 梅村義久, 三浦哉, 李子紀代, 辻本尚弥, 鈴木英樹(1994): トレーニングと加齢が骨に及ぼす影響II. *中京大学体育研究所紀要*, 8, 67-70.
- 54) Vaughan, H. S., Aziz, U., Goldspink, G., Nowell, N. W. (1974): Sex and stock differences in the histochemical myofibrillar adenosine triphosphatase reaction in the soleus muscle of the mouse. *J. Histochem. Cytochem.*, 22 (3), 155-159.