

## 高強度運動における筋疲労の要因： 無機リン酸，グリコーゲンおよび活性酸素種の影響

和田 正信<sup>1)</sup> 坂本 誠<sup>2)</sup> 杉山美奈子<sup>2)</sup> 松永 智<sup>3)</sup>

### Possible factors contributing to muscle fatigue during intense exercise: effects of inorganic phosphate, glycogen and reactive oxygen species

Masanobu Wada<sup>1</sup>, Makoto Sakamoto<sup>2</sup>, Minako Sugiyama<sup>2</sup> and Satoshi Matsunaga<sup>3</sup>

#### Abstract

Skeletal muscles induced to contract repeatedly respond with a progressive loss in their ability to generate a target force or power. This decline in function, referred to as muscle fatigue, has a complex etiology that can involve various metabolic and ionic factors. Of these, intracellular acidosis due to lactic acid accumulation has been regarded as one of the important causes of muscle fatigue that occurs with intense exercise. Recent surveys, however, have demonstrated little direct effect of acidosis on muscle function at physiological temperatures, and in fact several putative mechanisms by which intracellular changes can attenuate contractile function have been proposed. The most likely mechanisms to explain muscle fatigue include elevated inorganic phosphate concentrations that result from phosphocreatine breakdown, compartmentalized depletion of endogenous muscle glycogen and/or modification by reactive oxygen species that are produced extensively in contracting muscle fibers. This brief review seeks to examine how these three alterations contribute to muscular fatigue processes.

**Key words :** sarcoplasmic reticulum, Ca<sup>2+</sup> release channel, oxidative stress, myofibril, excitation-contraction coupling

(Japan J. Phys. Educ. Hlth. Sport Sci. 51: 399-408, July, 2006)

1) 広島大学大学院総合科学研究科

〒739-8521 東広島市鏡山1-7-1

2) 広島大学大学院生物圏科学研究科

〒739-8521 東広島市鏡山1-7-1

3) 大阪市立大学都市健康スポーツ研究センター

〒558-8585 大阪市住吉区杉本3-3-138

連絡先 和田正信

1. Graduate School of Integrated Arts and Sciences,  
Hiroshima University

1-7-1 Kagamiyama, Higashihiroshima 739-8521

2. Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima  
University

1-7-1 Kagamiyama, Higashihiroshima 739-8521

3. Research Center for Urban Health and Sport, Osaka  
City University

3-3-138 Sugimoto, Sumiyoshi, Osaka 558-8585

Corresponding author wada@hiroshima-u.ac.jp

キーワード：筋小胞体， $\text{Ca}^{2+}$ 放出チャンネル，酸化ストレス，筋原線維，興奮収縮連関

おらず，これらについては，Favero (1999)，Berchtold et al. (2000)，Vandenboon (2004) の総説を参考にされたい。

## I はじめに

ここでは，筋の最大張力もしくは最大パワーが低下する現象，あるいは筋が一定の張力もしくは一定のパワーを継続して発揮できなくなる現象を「筋疲労」と，また筋中乳酸濃度の継続的な上昇を伴う筋収縮を「高強度運動」と呼ぶことにする。筋疲労の原因は1つではなく，複数の要因が関与していることは事実であるが (Favero, 1999 ; Nielsen and Clausen, 2000 ; Allen et al., 2002 ; Vandenboon, 2004)，1907年のFletcher and Hopkins (1907) の報告以来，高強度運動においては，発生する乳酸によってアシドーシスが生じることが，筋疲労を誘起する主要な成因の1つであると考えられてきた。しかしながら近年，乳酸は1) 従来示されてきたほど，筋疲労に対して大きな影響を及ぼさない (Westerblad et al., 1997 ; Stary and Hogan, 2005)，あるいは2) むしろ筋疲労を軽減する作用を持つ (Nielsen et al., 2001) などの知見が報告され，これらは徐々に支持されつつあるように思われる (Allen et al., 2002 ; Pedersen et al., 2004 ; Wada et al., 2006)。

乳酸に関するこれらの見解が事実であるならば，「それではなぜ筋疲労が起こるのか」という疑問が再燃することとなる。近年，無機リン酸 (inorganic phosphate ; Pi)，グリコーゲンあるいは活性酸素種 (reactive oxygen species ; ROS) が，乳酸に代わる要因として注目されており，本稿ではこれらがどのように収縮機能に影響を与えるのかについてreviewすることにする。なお本稿は，高強度運動に伴う筋疲労の要因全般にわたる総説ではなく，あくまで上記の3つの項目に焦点を置いたものである。他の要因の影響については，Nielsen and Clausen (2000)，Fitts (1994) の総説を，また，本稿では紙面の都合上，興奮収縮連関の構造や機能については触れられて

## II 無機リン酸 (Pi)

筋形質におけるPiの濃度は，安静時では1—5mM程度であるのに対して，高強度運動後では20—40mMに達する (Cady et al., 1989 ; Godt and Nosek, 1989)。Piの蓄積が筋疲労の原因であることは，1978年にDawson et al. (1978) によって既に指摘されており，その後の研究から，Piの濃度が増加すると，ミオシンATPase活性の最大値あるいは筋原線維の $\text{Ca}^{2+}$ に対する感受性などが低下することが明らかになった (Vandenboon, 2004)。

筋原線維の収縮・弛緩は，細胞内遊離 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度によって調節されており， $\text{Ca}^{2+}$ 濃度が $1\mu\text{M}$ 以上に上昇すると収縮が， $0.1\mu\text{M}$ 以下に低下すると弛緩が起こる。骨格筋では，この $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の調節は，筋原線維を取り囲むように発達している筋小胞体 (sarcoplasmic reticulum ; SR) が担っており，筋の収縮機能に中心的な役割を果たす器官であるといえよう。近年，Piは筋原線維だけでなく，SRの機能も抑制することが示唆されており，このことが乳酸に代わる筋疲労の原因として最も注目されている。

### 1. SRの $\text{Ca}^{2+}$ 放出への影響

このことを最初に指摘したのはFryer et al. (1995) であり，彼らは単一筋線維を50mMのPiに曝露すると，SRによって放出される $\text{Ca}^{2+}$ の量が著しく低下することを報告した (Fig. 1A ; この実験モデルでは，張力曲線が描くカーブの面積がSRによる $\text{Ca}^{2+}$ 放出量を反映している)。このような変化が起こる成因について彼らは，1) 筋形質のPiの濃度が高まると，Piの一部がSR内腔に流入する，2) そこで豊富に存在する $\text{Ca}^{2+}$ と結合し，CaPiを形成する，3) Piと結合した $\text{Ca}^{2+}$ は放出に利用されず，そのためにSRから放出される $\text{Ca}^{2+}$ の量が低下する，といった段階をへて筋

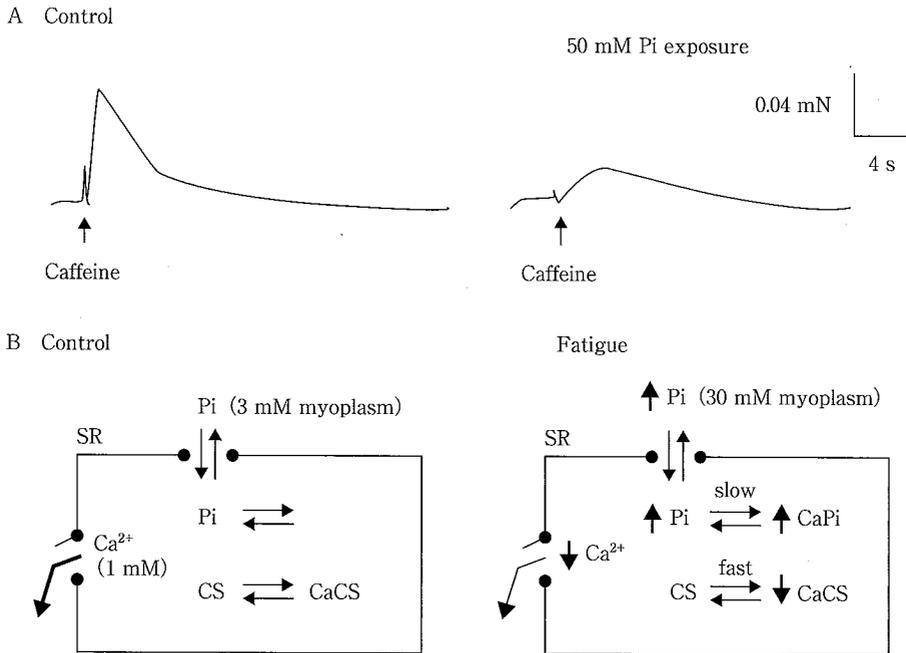


Fig. 1 Force records from skinned fibers with intact sarcoplasmic reticulum (SR) (A) and schematic diagram of Ca<sup>2+</sup> and inorganic phosphate (Pi) movements across the SR membrane and binding sites within the SR (B).

Heavy arrows indicate changes of key concentrations during fatigue. Abbreviation: CS, calsequestrin (modified from Fryer et al., 1995 and Allen and Westerblad, 2001).

疲労が生ずるとの仮説を提唱した (Fig. 1B). 上述のように、生体内ではPiの濃度は高まっても約40mMまでである。したがって、Fryer et al. (1995) が実験に用いたPiの濃度 (50mM) は非生理的な値であり、彼らが提唱したような変化が、in vitroでの特殊な環境下では起こるとしても、生体内で実際に生ずるのかどうかについては疑問視される。これを受けて、近年生理的な濃度の範囲である30mMでも、Fryer et al. (1995) が観察したものと同様の現象が起こることが、Dutka et al. (2005) によって報告されている。CaPiが形成されるか否かの閾値は、Ca<sup>2+</sup>濃度とPi濃度の積が6mM<sup>2</sup>に到達したところにあると考えられている (Allen and Westerblad, 2001). SR内腔のCa<sup>2+</sup>濃度は約1mMであるので、Pi濃度が6mMを超えるとCaPiが生成されることになる。

この仮説を支持する知見としては、1) 収縮を繰り返すとSR内の遊離Ca<sup>2+</sup>濃度が67%にまで

低下すること (Kabbara and Allen, 2001), 2) 有酸素系の代謝を抑制すると、筋疲労後に安静を保っても、低下したCa<sup>2+</sup>放出量は回復しないこと (Kabbara and Allen, 1999) (有酸素系が機能しないと、筋形質に蓄積したPiの除去速度が著しく低下する), 3) クレアチンキナーゼ (creatine kinase; CK) が欠損したマウスの筋では、収縮を繰り返してもSRのCa<sup>2+</sup>放出の低下は生じないこと (Dahlstedt and Westerblad, 2001; Piの蓄積は、CKの触媒作用によって起こる), あるいは4) SRの膜にはPiチャンネルが存在すること (Laver et al., 2001) などが報告されている。4) に関してLaver et al. (2001) は、チャンネルを介してのPiのSR内腔への流入はATPによって抑制されることを観察しており、この知見からは、筋疲労の最終局面におけるATPの濃度の低下が、Pi流入のトリガーとなることが示唆される。

一方、このようなPiの作用について、1) Piの増加とSRのCa<sup>2+</sup>放出の低下は同期して起こらない、2) CaPiの形成は筋形質中の豊富に存在するMg<sup>2+</sup>およびATPによって抑制される、あるいは3) ADPの濃度が増加するとSRからのCa<sup>2+</sup>漏出が起り、SR内腔において、CaPi形成の閾値である6mM<sup>2</sup>を下回る可能性があるなど、この仮説に疑問を投げかける指摘もなされている(Steele and Duke, 2003). Fryer et al. (1995)の提唱する仮説を実証するためには、高強度運動中、SR内腔においてCaPiが形成されていることを直接示すデータを得る必要がある。

## 2. SR Ca<sup>2+</sup>取り込みへの影響

Piは、SRのCa<sup>2+</sup>放出のみならずCa<sup>2+</sup>取り込みにも悪影響を及ぼすことが示されている。SRによるCa<sup>2+</sup>の取り込みは、SRの縦走管上に多数存在するSR Ca<sup>2+</sup>-ATPaseの作用によって能動的に行われ、1molのATPの分解によって2molのCa<sup>2+</sup>が、筋形質からSR内腔へと輸送される。Duke and Steele (2000)は、単一筋線維を用いた実験から、Piの濃度が高まるとSR Ca<sup>2+</sup>-ATPaseが正常とは反対方向に作動し、SR内腔からCa<sup>2+</sup>が漏出することを報告している。筋収縮を繰り返すと、収縮と収縮との間の安静時Ca<sup>2+</sup>濃度が2—3倍にまで高まるのは(Allen et al., 1995)、このようなPiの影響によるものであろう。Ca<sup>2+</sup>の漏出が起こるとSRのCa<sup>2+</sup>取り込み速度が低下し、筋線維の収縮・弛緩のサイクルが円滑に遂行されなくなると、また筋形質中に過剰に蓄積したCa<sup>2+</sup>は、ミトコンドリアによって取り込まれることが知られており(Gillis, 1997)、このためにSR内腔におけるCa<sup>2+</sup>の貯蔵量が低下することが考えられる。

## III 筋グリコーゲン

1962年に、Bergström (1962)によってスポーツ科学の分野に導入されたニードルバイオプシー法は、グリコーゲンが筋疲労に及ぼす影響に関する研究の礎を築くこととなった。1960年代後半

から1970年代前半に行われた一連の研究から、最大酸素摂取量の60—85%の強度の運動では、主動筋に含まれるグリコーゲンが枯渇すると、それ以上運動を継続することができなくなることが明らかとされ(Ahlborg et al., 1967; Karlsson and Saltin, 1971)、現在では、筋グリコーゲン濃度が、低強度運動(乳酸の継続的な上昇を伴わない筋収縮)での筋疲労を左右する主たる因子であることは広く認められている。

これらの知見に加え、1990年代後半に行われた単一筋線維を用いた研究では、数分以内で収縮が終了する場合(Chin and Allen, 1997)あるいは収縮回数が30回以下の場合(Stephenson et al., 1999)においても、含まれるグリコーゲンの初期値が高い筋線維ほど、筋疲労が起りにくいことが示され(Fig. 2)、高強度運動においても、従来考えられてきたより筋グリコーゲンが重要な役割を果たしているものと思われる。

## 1. SR Ca<sup>2+</sup>放出チャンネルへのシグナル伝達への影響

Chin and Allen (1997)は、収縮により(Fatigue 1)張力およびSRのCa<sup>2+</sup>放出能力が低下した筋線維をグルコースを含有した溶液の中で安静に保つと(この処置により、筋グリコーゲンが回復する)、両パラメーターともにほぼ完全に回復するが(Fatigue 2; Fig. 3A)、グルコースを含まない溶液では十分に回復しないことを観察している(Fig. 3B)。横行小管に存在するディヒドロピリジン受容体(dihydropyridine receptor; DHPR)は、ボルテージセンサーとして機能する器官である。DHPRが形質膜を伝導した活動電位を感知し、そのシグナルがSRのCa<sup>2+</sup>放出チャンネル(Ca<sup>2+</sup> release channel; CRC)に伝達されると、CRCが開口しSRからCa<sup>2+</sup>が放出される。DHPRからCRCへのシグナル伝達がどのようなメカニズムで行われるのかについては不明な部分が多いが、DHPRおよびCRCの両方はリン酸化部位を有しており、これらがリン酸化されることが、シグナル伝達に必要であると考えられている。

グリコーゲン粒子は、筋線維内に均等に分布し

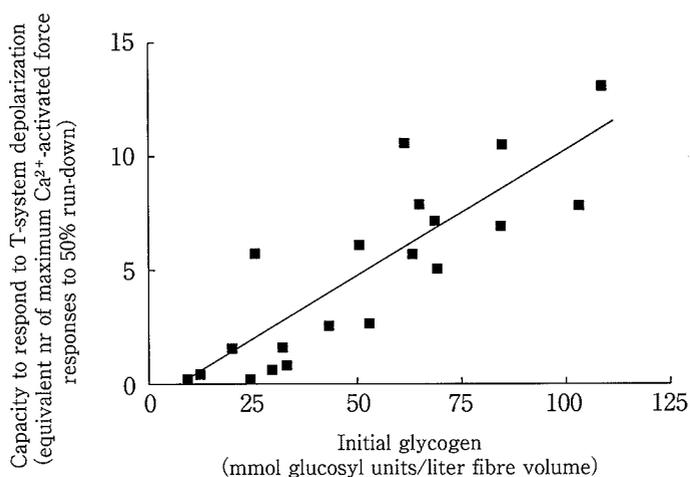


Fig. 2 Correlation between fibre capacity to respond to T-system depolarization and initial glycogen concentration.

The fibre capacity to respond to the T-system depolarization is expressed in equivalent number of maximally  $\text{Ca}^{2+}$ -activated force responses that were elicited by successive T-system depolarizations until the response declined to 50% of its highest level (from Stephenson et al., 1999).

ているわけではない。他の部位と比較し、形質膜内側、SRの膜あるいは筋原線維のI帯とA帯の境目（哺乳類の骨格筋では、ここに三つ組み構造が形成されている）など、ATPを多く消費する部位の近くに豊富に存在し（Friden et al., 1989）、必要なATPの少なくとも一部は局在するグリコーゲンから供給されていることが指摘されている。これらの事実に基づき、Chin and Allen (1997) は、収縮に伴い三つ組み構造近辺のグリコーゲンが枯渇し、局所的にATPの濃度が低下するため、DHPRあるいはCRCのリン酸化が十分に進行しなくなり（リン酸化にはATPが必要とされる）、筋疲労が起こるのであると推測している。

筋線維内においてグリコーゲンの果たす役割は、単にATPを供給するための基質であることだけではない。筋グリコーゲンの約80%は細胞内の組織に強固に結合し（Stephenson et al., 1999）、その組織の構造的特性に影響を与えていると考えられている（Cuenda et al., 1991）。Stephenson et al. (1999) は、Chin and Allen (1997) が観察したものと類似した現象が、ATP

が十分に存在する環境下でも生ずることを観察し、グリコーゲンがDHPRからCRCへのシグナル伝達に与える影響は、ATPの供給を介してではなく、DHPR、CRCのどちらか一方あるいは両方の構造的な変化を介しているのであろうと推察している。近年、DHPRの構造の変化が直接CRCの構造の変化を誘起し、それによりCRCが開くというモデルが提唱されており（Meissner, 2002）、Stephenson et al. (1999) の結果はこのモデルと関連して興味深い。

Chin and Allen (1997) およびStephenson et al. (1999) の研究では、どちらも実験に用いた筋線維のタイプは同定していないが、用いた動物および筋の種類から推察すると速筋線維であったと思われる。今後、そのメカニズムに加え、筋線維タイプと対応させ、グリコーゲンの作用をさらに詳細に検討することが望まれる。

## 2. SR $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase および $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase への影響

SRの膜には、多量のグリコーゲンが付着している（Lees et al., 2001；Mishima et al., 2006）。

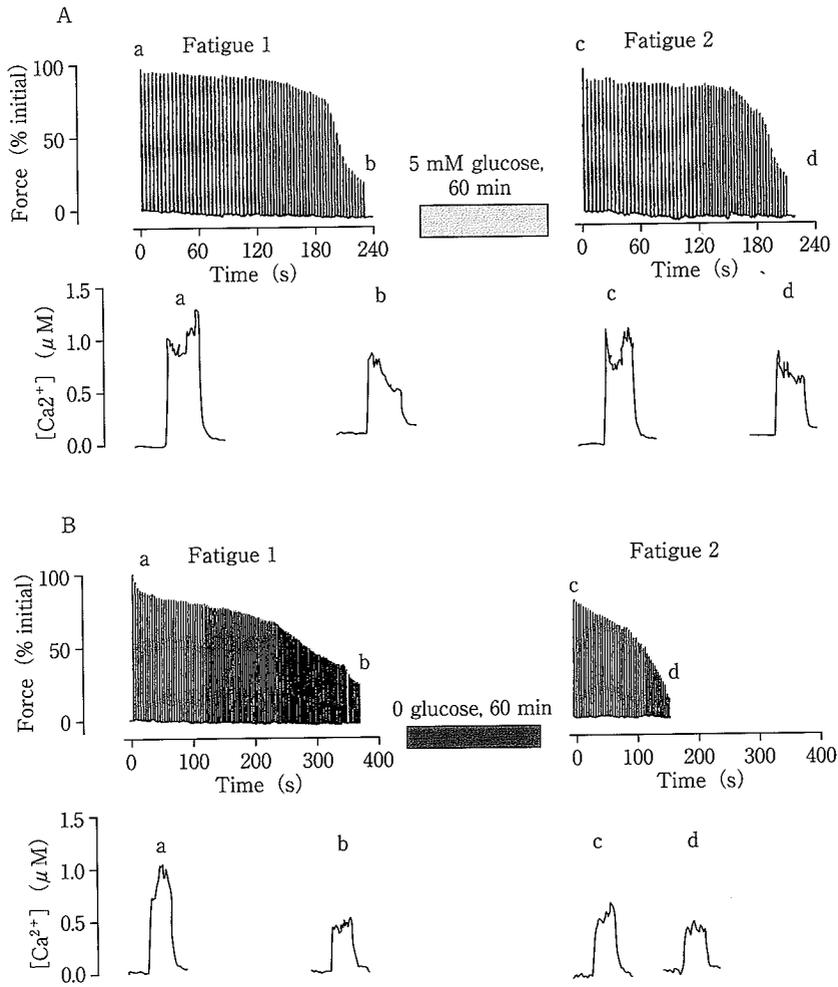


Fig. 3 Data traces representative of the changes in force, intracellular  $Ca^{2+}$  concentration ( $[Ca^{2+}]$ ), and time to fatigue for fatigue 1 and 2 under control (A) and experimental (B) conditions. Tetanic force and  $[Ca^{2+}]$  were reduced at the end of fatigue 1 (A-a vs. A-b). After 60 min recovery in the presence of glucose,  $[Ca^{2+}]$  was recovered to a greater extent, compared with the absence of glucose (A-c vs. B-c). (modified from Chin and Allen, 1997)

筋収縮中におけるグリコーゲンの減少速度をSRに付着しているものと全筋で測定したものとで比較すると、前者の方が約5倍高いことが明らかになっている (Lees et al., 2001). また、形質膜の興奮性の維持に不可欠な役割を果たす  $Na^+K^+ATPase$  は、解糖系の代謝を抑制するとその機能が低下するが、有酸素系の代謝を阻害しても同様の変化は起こらないことが示されており (Okamoto et al., 2001), これらの報告からは、この2つの

ATPaseが解糖系によって供給されるATPを主として利用していることが示唆される。したがって、これらの酵素にエネルギーを供給する局所的なグリコーゲンが枯渇すれば、筋疲労が生ずることが予想される。

#### IV 活性酸素種 (ROS)

ROSとは通常の酸素より反応性の高い酸素化

化合物の総称であり、それらの濃度が高い場合、幾つかは生体内成分と反応し機能障害をもたらす。筋線維内では、絶えず数種類のROSが産生されており、スーパーオキシドがその源である。スーパーオキシドは電子交換反応により、過酸化水素、ヒドロキシルラジカルなどへと変換される。スーパーオキシドは、キサンチンオキシダーゼおよびミトコンドリアでの電子伝達系の2つの反応において主として産生されるが、どちらの反応もATPの需要が高まることにより亢進する代謝過程である。したがって、多量のATPを消費する筋収縮では、筋細胞内で発生するROSの量は必然的に増すことになる。

ROSは発生すると、組織あるいは関連する物質と迅速に反応してしまうため、筋細胞内における濃度を直接測定することは、困難である場合が多い。しかしながら、過酸化脂質、グルタチオンあるいはカルボニル基など、ROSを源とする代謝産物の濃度を測定することにより、細胞内の酸化・還元状態を間接的にはあるが知ることができる。この方法を用い、高強度運動によって、筋細胞内ではROSの濃度が高まることが示されており (Alessio et al., 1988 ; Matsunaga et al., 2003), これが筋疲労を生む原因の1つとなっているものと考えられる。

### 1. 筋原線維への影響

ROSが筋疲労の原因となっていることは、筋線維をROSに曝露すると張力が低下すること、あるいはROSの捕捉剤を含む溶液中で筋を収縮させると、張力の低下が軽減されることなどの研究結果により示されている (Reid, 2001)。ROSが作用すると、筋形質中のCa<sup>2+</sup>濃度が同一であっても、筋原線維が発揮する張力が低下することが認められており (Moopanar and Allen, 2005), 筋原線維のCa<sup>2+</sup>に対する感受性が低下することが、ROSによって筋疲労が生じる素因の1つであると考えられている。筋原線維を構成する多くのタンパクの中で、Ca<sup>2+</sup>によって特に大きな影響を受けるのは、ミオシンとCa<sup>2+</sup>結合タンパクであるトロポニンであり、感受性の変化は、この

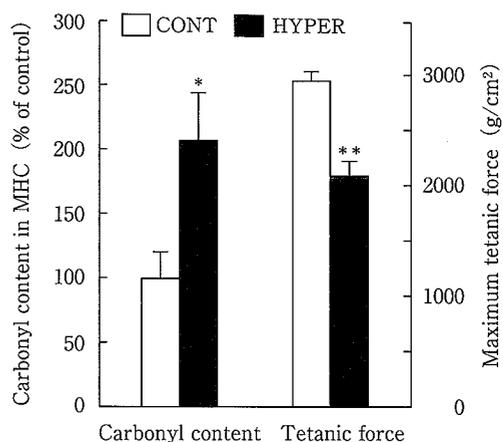


Fig. 4 Carbonyl content in myosin heavy chain (MHC) and maximum tetanic force in the soleus muscles from control (CONT) and hyperthyroid (HYPER) rats. Hyperthyroid rats were treated with 3,5,3'-triiodo-L-thyronine for 21 days. Introduction of carbonyl groups into amino acid residues of protein can be a hallmark for oxidative modification. Maximum tetanic force was evoked by direct stimulation at 75 Hz. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  CONT vs. HYPER (modified from Yamada et al., 2006).

2つのどちらか一方あるいは両方の変化によって起こると思われる。しかしながら、骨格筋ではCa<sup>2+</sup>結合タンパクはROSによる作用を受けにくいとされており (Andrade et al., 2001), したがって、ミオシンに構造的な変化が起こっている可能性が高い。酸化ストレスにより張力が低下した筋において、ミオシン重鎖が酸化されていることを認めるYamada et al. (2006) の報告は (Fig. 4), これを支持するものである。酸化の影響についてLowe et al. (2001) は、ミオシン頭部には収縮機能に重要な役割を果たすスルフヒドリル (SH) 基が数個存在し、これらが酸化されると、アクチンと強く結合するミオシン頭部の数が減少することを示している。

### 2. 筋小胞体への影響

SR Ca<sup>2+</sup>-ATPaseが酸化されると、この酵素の活性値が濃度依存的に低下し、SRのCa<sup>2+</sup>取り込み機能が抑制されることが、in vitroの実験によって示されている (Favero et al., 1998 ; Gutier-

rez-Martin et al., 2004). 高強度運動によってSR  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPaseの酸化が生ずることは、100%最大酸素摂取量に相当する強度で走行を行わせたラットの骨格筋では、SR  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase活性値の減少とともにATPaseに含まれるカルボニル基の量が増加することを認めた、Matsunaga et al. (2003)の報告によって示されている。しかしながら、ミオシンの場合とは異なり、収縮により酸化ストレスに曝されても、SR  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPaseに含まれるSH基は修飾を受けないことが認められており (Klebl et al., 1998; Matsunaga et al., 2003), ROSがどのようなメカニズムでSR  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPaseの機能に影響するのかについては明らかではない。

ROSが、間接的にSRの $\text{Ca}^{2+}$ 取り込み能力に影響を及ぼしている可能性もある。一酸化窒素は、スーパーオキシドとは別の経路から産生されるROSである。SRの膜には、一酸化窒素のターゲットの1つであるCKが附着しており (Wolosker et al., 1996; Lees and Williams, 2004), SR  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPaseによる $\text{Ca}^{2+}$ の取り込みには、グリコーゲンの分解に加え、このCKによって局所的に産生されるATPが利用されている (Wolosker et al., 1996)。したがって、SR  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase活性が変化しなくても、収縮活動により増加した一酸化窒素によってCK活性が低下すれば、十分なATPが供給されなくなり、 $\text{Ca}^{2+}$ 取り込み能力が低下することが予想される。

$\text{Ca}^{2+}$ の取り込みとは対照的に、ROSは $\text{Ca}^{2+}$ の放出に対しては促進的に作用する場合多いと考えられている (Favero et al., 2003)。これは、CRCを構成するSH基が酸化されると、CRCが開口状態になるためである。SRの膜上には、スーパーオキシドを産生するNADH依存性オキシダーゼが存在する。Xia et al. (2003)は、この酵素を活性化するとCRCに対するリアノジンの結合量が増加することを観察し、SR自らが発生するROSによって、CRCの開口状態が調節を受けているのではないかと推察している (リアノジンは開口状態にあるCRCに結合する)。

## V おわりに

関連する先行研究を精査する限り、ここで取り上げたPi, グリコーゲンおよびROSのいずれも、高強度運動によって起こる筋疲労に関与していることは、ほぼ間違いないと思われる。今後の研究課題としては、他の要因も含め複数の因子が同期して作用した場合、収縮機能にどのような変化が生ずるのか、あるいは筋疲労の種々の局面で個々の因子がどのような割合で筋疲労に寄与するのかなどについて、解明することが挙げられる。

## 文 献

- Ahlborg, B.J., Bergström, J., Ekelund, L.G., and Hultman, E. (1967) Muscle glycogen and muscle electrolytes during prolonged physical exercise. *Acta Physiol. Scand.*, 70: 129-142.
- Alessio, H.M., Goldfarb, A.H., and Cutler, R.G. (1988) MAD content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. *Am. J. Physiol.*, 255: C874-C877.
- Allen, D.G., Kabbara, A.A., and Westerblad, H. (2002) Muscle fatigue: the role of intracellular calcium stores. *Can. J. Appl. Physiol.*, 27: 83-96.
- Allen, D.G., Lännergren, J., and Westerblad, H. (1995) Muscle cell function during prolonged activity: cellular mechanisms of fatigue. *Exp. Physiol.*, 80: 497-527.
- Allen, D.G. and Westerblad, H. (2001) Role of phosphate and calcium stores in muscle fatigue. *J. Physiol. (Lond.)*, 536: 657-665.
- Andrade, F.H., Reid, M.B., and Westerblad, H. (2001) Contractile response of skeletal muscle to low peroxide concentrations: myofibrillar calcium sensitivity as a likely target for redox-modulation. *FASEB J.*, 15: 309-311.
- Berchtold, M.W., Brinkmeier, H., and Muntener, M. (2000) Calcium ion in skeletal muscle: its crucial role for muscle function, plasticity, and disease. *Physiol. Rev.*, 80: 1215-1265.
- Bergström, J. (1962) Muscle electrolytes in man. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. (Suppl.)*, 68: 1-110.

- Cady, E.B., Jones, D.A., Lynn, J., and Newham, D.J. (1989) Changes in force and intracellular metabolites during fatigue of human skeletal muscle. *J. Physiol. (Lond.)*, 418: 311–325.
- Chin, E.R. and Allen, D.G. (1997) Effects of reduced muscle glycogen concentration on force,  $\text{Ca}^{2+}$  release and contractile protein function in intact mouse skeletal muscle. *J. Physiol. (Lond.)*, 497: 17–29.
- Cuenda, A., Centeno, F., and Gutierrez-Merino, C. (1991) Modulation by phosphorylation of glycogen phosphatylase-sarcoplasmic reticulum interaction. *FEBS Lett.*, 283: 273–276.
- Dahlstedt, A.J. and Westerblad, H. (2001) Inhibition of creatine kinase reduces the rate of fatigue-induced decrease in tetanic  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in mouse skeletal muscle. *J. Physiol. (Lond.)*, 533: 639–649.
- Dawson, M.J., Gadian, D.G., and Wilkie, D.R. (1978) Muscular fatigue investigated by phosphorus nuclear magnetic resonance. *Nature (Lond.)*, 274: 861–866.
- Duke, A.M. and Steele, D.S. (2000) Characteristics of phosphate-induced  $\text{Ca}^{2+}$  efflux from the SR in mechanically skinned rat skeletal muscle fibers. *Am. J. Physiol.*, 278: C126–C135.
- Dutka, T.L., Cole, L., and Lamb, G.D. (2005) Calcium-phosphate precipitation in the sarcoplasmic reticulum reduces action potential-mediated  $\text{Ca}^{2+}$  release mammalian skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, 289: C1502–C1512.
- Favero, T.G. (1999) Sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  release and muscle fatigue. *J. Appl. Physiol.*, 87: 471–483.
- Favero, T.G., Colter, D., Hooper, P.F., and Abramson, J.J. (1998) Hypochlorous acid inhibits  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J. Appl. Physiol.*, 84: 425–430.
- Favero, T.G., Webb, J., Papiez, M., Fisher, E., Trippichio, R.J., Broide, M., and Abramson, J.J. (2003) Hypochlorous acid modifies calcium release channel function from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J. Appl. Physiol.*, 94: 1387–1394.
- Fitts, R.H. (1994) Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiol. Rev.*, 74: 49–94.
- Fletcher, W.M. and Hopkins, G. (1907) Lactic acid in amphibian muscle. *J. Physiol. (Lond.)*, 35: 247–309.
- Friden, J., Seger, J., and Ekblom, B. (1989) Topographical localization of muscle glycogen: an ultra-histochemical study in human vastus lateralis. *Acta Physiol. Scand.*, 135: 381–391.
- Fryer, M.W., Owen, V.J., Lamb, G.D., and Stephenson, D.G. (1995) Effects of creatine phosphate and Pi on  $\text{Ca}^{2+}$  movements and tension development in rat skinned skeletal muscle fibres. *J. Physiol. (Lond.)*, 482: 123–140.
- Gillis, J.M. (1997) Inhibition of mitochondria calcium uptake slows down relaxation in mitochondria-rich skeletal muscles. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 18: 473–483.
- Godt, R.E. and Nosek, T.M. (1989) Changes of intracellular milieu with fatigue or hypoxia depress contraction of skinned rabbit skeletal and cardiac muscle. *J. Physiol. (Lond.)*, 412: 155–180.
- Gutierrez-Martin, Y., Martin-Romero, F.J., Inesta-Vaquera, F.A., Gutierrez-Merino, C., and Henao, F. (2004) Modulation of sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase by chronic and acute exposure to peroxynitrite. *Eur. J. Biochem.*, 271: 2647–2657.
- Kabbara, A.A. and Allen, D.A. (2001) The use of the indicator fluo-5N to measure sarcoplasmic reticulum calcium in single muscle fibres of the cane toad. *J. Physiol. (Lond.)*, 534: 87–97.
- Kabbara, A.A. and Allen, D.G. (1999) The role of calcium stores in fatigue of isolated single muscle fibres from the cane toad. *J. Physiol. (Lond.)*, 519: 169–176.
- Karlsson, J. and Saltin, B. (1971) Diet, muscle glycogen, and endurance performance. *J. Appl. Physiol.*, 31: 203–206.
- Klebl, B.M., Ayoub, A.T., and Pette, D. (1998) Protein oxidation, tyrosine nitration, and inactivation of sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase in low-frequency stimulated rabbit muscle. *FEBS Lett.*, 422: 381–384.
- Laver, D.R., Lenz, G.K.E., and Dulhunty, F. (2001) Phosphate ion channels in sarcoplasmic reticulum of rabbit skeletal muscle. *J. Physiol. (Lond.)*, 535: 715–728.

- Lees, S.J., Franks, P.D., Spangenburg, E.E., and Williams, J.H. (2001) Glycogen and glycogen phosphorylase associated with sarcoplasmic reticulum: effects of fatiguing activity. *J. Appl. Physiol.*, 91: 1638–1644.
- Lees, S.J. and Williams, J.H. (2004) Skeletal muscle sarcoplasmic reticulum glycogen status influences  $Ca^{2+}$  uptake supported by endogenously synthesized ATP. *Am. J. Physiol.*, 286: C97–C104.
- Lowe, D.A., Surek, J.T., Thomas, D.D., and Thompson, L.V. (2001) Electron paramagnetic response reveals age-related myosin structural changes in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, 280: C540–C547.
- Matsunaga, S., Inashima, S., Yamada, T., Watanabe, H., Hazama, T., and Wada, M. (2003) Oxidation of sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase induced by high-intensity exercise. *Pflügers Arch.*, 446: 394–399.
- Meissner, G. (2002) Regulation of mammalian ryanodine receptors. *Front Biosci.*, 7: d2072–d2080.
- Mishima, T., Sugiyama, M., Yamada, T., Sakamoto, M., and Wada, M. (2006) Effects of reduced glycogen on structure and in vitro function of rat sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase. *Pflügers Arch.*, 452: 117–123.
- Moopanar, T.R. and Allen, D.A. (2005) Reactive oxygen species reduce myofibrillar  $Ca^{2+}$  sensitivity in fatiguing mouse skeletal muscle at 37°C. *J. Physiol. (Lond.)*, 564: 189–199.
- Nielsen, O.B. and Clausen, T. (2000) The  $Na^+/K^+$  pump protects muscle excitability and contractility during exercise. *Exerc. Sport Sci. Rev.*, 28: 159–164.
- Nielsen, O.B., de Paoli, F., and Overgaard, K. (2001) Protective effects of lactic acid on force production in rat skeletal muscle. *J. Physiol. (Lond.)*, 536: 161–166.
- Okamoto, K., Wang, W., Rounds, J., Chambers, E.A., and Jacobs, D.O. (2001) ATP from glycolysis is required for normal sodium homeostasis in resting fast-twitch rodent skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, 281: E479–E488.
- Pedersen, T.H., Nielsen, O.B., Lamb, G.D., and Stephenson, D.G. (2004) Intracellular acidosis enhances the excitability of working muscle. *Science*, 305: 1144–1147.
- Reid, M.B. (2001) Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J. Appl. Physiol.*, 90: 724–731.
- Stary, C.M. and Hogan, M.C. (2005) Intracellular pH during sequential, fatiguing contractile periods in isolated single *Xenopus* skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 99: 308–312.
- Steele, D.S. and Duke, A.M. (2003) Metabolic factors contributing to altered  $Ca^{2+}$  regulation in skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand.*, 179: 39–48.
- Stephenson, D.G., Nguyen, L.T., and Stephenson, G.M.M. (1999) Glycogen content and excitation-contraction coupling in mechanically skinned muscle fibres of the cane toad. *J. Physiol. (Lond.)*, 519: 177–187.
- Vandenboon, R. (2004) The myofibrillar complex and fatigue. *Can. J. Appl. Physiol.*, 29: 330–356.
- Wada, M., Mishima, T., and Yamada, T. (2006) The role of lactic acid in muscle contraction. *Jpn. J. Phys. Educ. Hlth. Sport Sci.*, (in press)
- Westerblad, H., Bruton, J.D. and Lännergren, J. (1997) The effect of intracellular pH on contractile function of intact, single fibres of mouse muscle declines with increasing temperature. *J. Physiol. (Lond.)*, 500: 193–204.
- Wolosker, H., Panizzutti, R., and Engelender, S. (1996) Inhibition of creatine kinase by S-nitrosoglutathione. *FEBS Lett.*, 392: 274–276.
- Xia, R., Webb, J.A., Gnall, L.M., Cutler, K., and Anramson, J.J. (2003) Skeletal muscle sarcoplasmic reticulum contains a NADH-dependent oxidase that generates superoxide. *Am. J. Physiol.*, 385: C215–C221.
- Yamada, T., Mishima, T., Sakamoto, M., Sugiyama, M., Matsunaga, S., and Wada, M. (2006) Oxidation of myosin heavy chain and reduction in force production in hyperthyroid rat soleus. *J. Appl. Physiol.*, 100: 1520–1526.

(平成17年9月2日受付)  
(平成18年2月18日受理)