

〈原著〉

中学生の血清脂質およびアポリポ蛋白組成における トリグリセライド濃度の影響

日高 宏哉¹⁾、五味 三寧子²⁾、本郷 実¹⁾

Effect of triglyceride level on serum lipid and apolipoprotein composition in junior high school students

Hiroya Hidaka¹⁾, Mineko Gomi²⁾ and Minoru Hongo¹⁾

Summary This study aimed to investigate the association of serum lipid and apolipoprotein composition in the evaluation of serum fat metabolism in junior high school students. We measured the serum lipid and apolipoprotein levels of 300 junior high school students (130 boys and 170 girls). Serum lipid and apolipoprotein (apoA-I and apoB) levels were measured using enzyme reagent and immunoturbidimetric methods, respectively. High-density lipoprotein (HDL) fractionation was performed using a precipitation method. The triglyceride (TG) level did not affect the apoA-I level but was correlated with the HDL-TG level. The ratio of apoB/apoA-I level was not correlated with the ratio of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C)/apoB level in the normal serum TG range. A negative correlation was observed between high serum TG levels and HDL-C, HDL-C/apoA-I, and LDL-C/apoB levels. The results of this study showed that the composition of serum lipids and apolipoproteins was useful in the evaluations of serum fat metabolism in the normal serum TG range. However, various lipid and apolipoprotein ratios were affected in individuals with high serum TG levels.

Key words: Lipid, lipid fraction, Apolipoprotein, Lipid metabolism, Junior high school student

¹⁾ 信州大学医学部保健学科
〒390-8621 長野県松本市旭3-1-1

²⁾ 松本市医師会医療センター
〒390-0875 長野県松本市城西2-2-7

¹⁾ Department of Biomedical Laboratory Sciences,
School of Health Sciences, Shinshu University School
of Medicine, 3-1-1 Asahi, Matsumoto, Nagano, 390-
8621, Japan

²⁾ Medical Center of Matsumoto City Medical
Association, 2-2-7 Shiuronishi, Matsumoto, Nagano,
390-0875, Japan

受付日：2017年3月26日

採択日：2017年5月16日

I. 緒言

脂質代謝異常症の発症原因の背景には、食生活や運動不足などの生活習慣の変化があり、成人に限らず子どもにおいても脂質代謝異常症の増加が懸念されている¹⁾。脂質代謝異常症は動脈硬化性疾患の危険因子とされ、心疾患や脳血管障害などの発症に係わっている²⁾。脂質代謝異常症として高LDL-コレステロール (LDL-C) 血症、低HDL-コレステロール (HDL-C) 血症、高トリグリセライド (TG) 血症があり、その診断基準が示されている³⁾。しかし、これらの代謝異常症の背景には、家族性因子、リポ蛋白代謝異常、栄養状態 (低栄養) などがあり、脂質濃度やアポリポ蛋白 (apo) 組成の正確な測定が、脂質代謝異常の判定に重要である。

動脈硬化性疾患の発症予防は、こどもの頃からの対策が必要であることから、学校健康診断検査が行われる。検査項目としてTC、TG、HDL-C、LDL-Cがあり、基準範囲からの増減による判定で評価される。これまで、動脈硬化性疾患の危険因子として、LDL-C、HDL-C、アポリポ蛋白濃度、またメタボリックシンドロームの指標としてTG濃度など、リポ蛋白中のコレステロール濃度やTG濃度が用いられてきた⁴⁾。さらに、LDL-C/HDL-C^{5,6)}、TG/HDL-C⁷⁾、LDL-C/apoB⁸⁾、HDL-C/apoA-I⁹⁾、apoB/apoA-I¹⁰⁻¹³⁾などの比率も指標として評価されてきた。しかし、コレステロールとTGは、カイロミクロン、VLDL、LDL、HDLなどのリポ蛋白粒子に含まれ、その濃度の増減や代謝は互いに関連しあっている。一方アポ蛋白は、apoA-IはHDLに含まれ、HDL組成を主に反映する。しかし、apoBは、コレステロールリッチリポ蛋白であるLDLの唯一のアポ蛋白であるが、カイロミクロン、VLDLにも含まれ、TGリッチリポ蛋白とコレステロールリッチリポ蛋白の両者の影響を受ける。脂質の増減だけでなく、組成の変動を捉えることは重要であるが、いずれの指標を取り扱うのがよいか明確でない。

二次性動脈硬化症として、2型糖尿病では、高トリグリセライド血症でHDL-C低下や動脈硬化の危険度が高いsmall dense LDL (sdLDL)の増加を伴うことが報告されている^{14,15)}。粒子サイズの分析としては電気泳動¹⁶⁾やHPLC法¹⁷⁾

がある。またリポ蛋白組成分析には、カラムクロマトグラフィーや超遠心分離法によりリポ蛋白を分取後の組成分析は、操作が煩雑で時間、労力が必要であり、一般的でない。そのため、自動生化学分析装置での脂質とアポ蛋白濃度を脂質代謝異常の判定に有効に使用することが重要である。

我々は、中学生の健康診断検査においての脂質検査の評価として、血清脂質濃度、アポ蛋白濃度、脂質分画中脂質濃度を用いてリポ蛋白組成を検討した。中学生では、成人に比べて、糖尿病、高血圧、心臓疾患、腎疾患などの二次性疾患の影響が少なく、正確な脂質代謝を把握することで、家族性因子や生活習慣による脂質代謝異常を取らえられることができると期待される。

II. 材料と方法

1. 材料

本研究は、信州大学医学部倫理委員会の承認を得て実施された。学校健康診断検査の際に、本人及び保護者のインフォームドコンセントが得られた長野県中部域の中学生計300名 (男子130名、女子170名)を対象とした。前日夜より絶食後、臨床化学用真空採血管 (分離材入り)にて採血を行った。3000回転10分遠心後、得られた上清 (血清)を材料とした。

2. 脂質およびアポ蛋白濃度の測定

血清中の脂質、アポ蛋白濃度の測定は、それぞれ以下に示した市販の試薬キットを用いて、日立7170型自動分析装置で測定した。脂質測定は、コレステストCHO、コレステストHDL-C、コレステストLDL-C、コレステストTG (積水メディカル、東京)、リン脂質 (PL) 測定: Lタイプワコーリン脂質 (和光純薬、大阪)、アポリポ蛋白測定はN-アッセイTIA Apo A-IおよびTIA ApoBニッターポー (ニッターポーメディカル、東京)を用いた。

HDL-PL、HDL-TG測定はHDL-コレステロール沈殿試薬 (和光純薬、大阪)を用い、リタングステン酸Mg沈殿法で行った。血清に等量のHDL-コレステロール沈殿試薬を加え混和し10分間室温に静置した後、3000rpm、10分間遠

心し、得た上清を上述の脂質濃度試薬を用いて測定した。測定値の2倍の値をHDL中脂質濃度とした。

Ⅲ. 結果

1. 脂質・アポ蛋白の検査

今回測定に用いた中学生300名の血清中TC、TG、PL、LDL-C、apoA-I、apoB濃度及びHDL中の脂質:HDL-C、HDL-TG、HDL-PLの平均(±標準偏差;SD)をTable 1に示した。

Table 1 Serum lipid and apolipoprotein levels

tests	n	mean ± SD
TC	300	158.7 ± 25.4
TG	300	75.7 ± 48.6
PL	236	184.7 ± 25.9
LDL-C	300	88.1 ± 22.0
HDL-C	300	56.2 ± 11.4
HDL-TG	236	12.7 ± 5.6
HDL-PL	236	120.7 ± 20.2
ApoAI	300	143.2 ± 16.4
ApoB	300	62.3 ± 12.7

(mg/dL)

2. HDL脂質組成と血清TG

動脈硬化症の抑制因子として働くと考えられるHDLの脂質組成がTGの影響を受けるかどうか検討するため、HDL中のコレステロール、PL及びTG(HDL-C、HDL-PL、HDL-TG)濃度間の相関およびHDL-C、HDL-TGとTG濃度の相関を検討した。

HDL-CとHDL-PLまたはHDL-TGの回帰式および相関係数(r)は、それぞれ $y = 1.3816x + 43.100$ ($r = 0.7781$)、 $y = 0.0494x + 9.8502$ ($r = 0.1000$)であった。HDL-Cは、HDL-PLとは強い正相関があるが、HDL-TGとは相関がなかった(Fig.1 A, B)。一方、HDL-Cと血清TGとの回帰式および相関係数(r)は、 $y = -0.0526x + 61.569$ ($r = 0.2070$)で、弱い負相関があった(Fig.1 C)。さらに、HDL-TGと血清TGは、 $y = 0.0904x + 5.7822$ ($r = 0.7824$)で、強い正相関があった(Fig.1 D)。

3. HDL、LDL組成と血清TG

HDLの主要構成アポリポ蛋白であるapoA-IとHDL組成比が、血清TGとどのような関係にあるか検討した。HDL-CとapoA-Iの回帰式およ

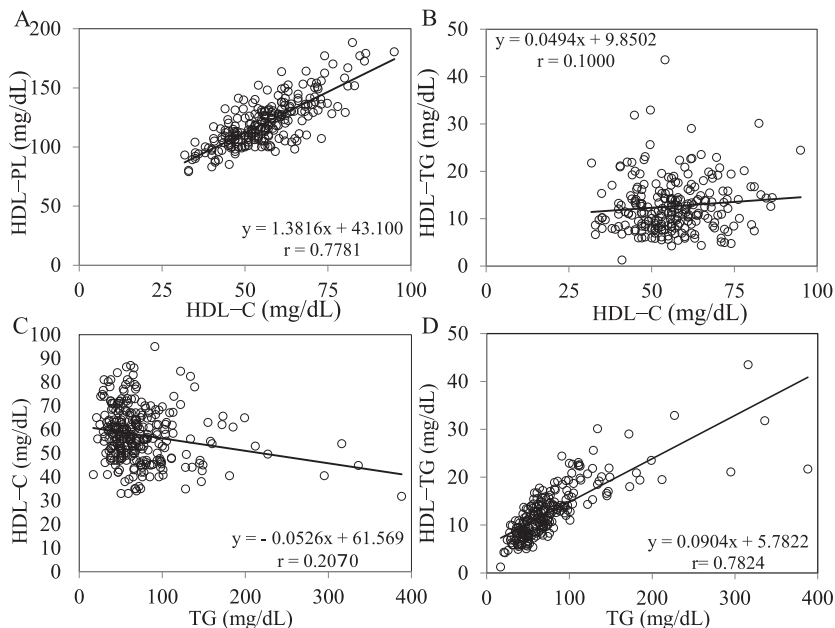


Fig.1 Correlation between HDL-lipid and serum TG levels

A: HDL-C vs. HDL-PL, B: HDL-C vs. HDL-TG, C: serum TG vs. HDL-C, D: serum TG vs. HDL-TG

び相関係数 (r) は、 $y = 1.1487x + 74.242$ ($r = 0.7435$) で強い相関関係にあった。apoA-IまたはHDL-C/apoA-Iと血清TG濃度の回帰式、相関は、それぞれ $y = -0.0005x + 142.91$ ($r = 0.0016$)、 $y = -0.0005x + 0.4772$ ($r = 0.5093$) であった (Fig.2 A, B)。apoA-Iは血清TGと相関がなかったが、HDL-C/apoA-Iとは負相関であった。

LDLの主要構成アポ蛋白であるapoBとLDL-Cは、TGリッチリポ蛋白の影響が少ないこどものTG正常域 (120 mg/dL未満) では、 $y = 0.5899x + 9.3884$ ($r = 0.9614$) であり、強い正相関にあった。一方、apoBと血清TGは、TG正常域 (120 mg/dL未満) では $y = 0.1676x + 50.595$ ($r = 0.2958$) で弱い正相関 (Fig.2 C) であった。またTGリッチリポ蛋白由来のapoB濃度の変化を推定するために、LDL-C濃度を一定に揃え、全検体中のLDL-C濃度の中間値 (LDL-C濃度の4分位の第II、III分位: LDL-C = 74~102 mg/dL) でのapoBと血清TGの回帰式と相関を検討したところ、 $y = 0.0637x + 56.587$ ($r = 0.3350$) であった (Fig.2 D)。

4. LDL-C/apoBと血清脂質

LDLの粒子組成を示す指標であるLDL-Cとapo Bの比率 (LDL-C/apoB) とLDL-Cおよび血清TGの関係について、こどものTG正常域 (120 mg/dL未満) とTG高値域 (120 mg/dL以上) について検討した。LDL-C/apoBとLDL-Cにおいて、TG正常域と高値域での回帰式および相関係数 (r) は、それぞれ $y = 0.0034x + 1.1168$ ($r = 0.5469$)、 $y = 0.0069x + 0.6917$ ($r = 0.7388$) と正相関があった (Fig.3 A, B)。TG正常域と高値域でのLDL-C/apoBとTGは、それぞれ $y = -0.0001x + 1.4261$ ($r = 0.0100$)、 $y = -0.0021x + 1.695$ ($r = 0.5813$) であった (Fig.3 C, D)。TG正常域では、ほとんど相関はなかったが、TG高値域では負相関があった。

5. アポリポ蛋白比とLDL、HDL組成

アポリポ蛋白の血中分布で、apoBはリポ蛋白のうちLDLに多く含まれ、LDLに含まれる唯一のアポリポ蛋白であり、apoA-IはHDLの主要構成アポリポ蛋白である。TG正常域でのapoBとapoA-Iの比率 (apoB/apoA-I) と、HDL、LDL

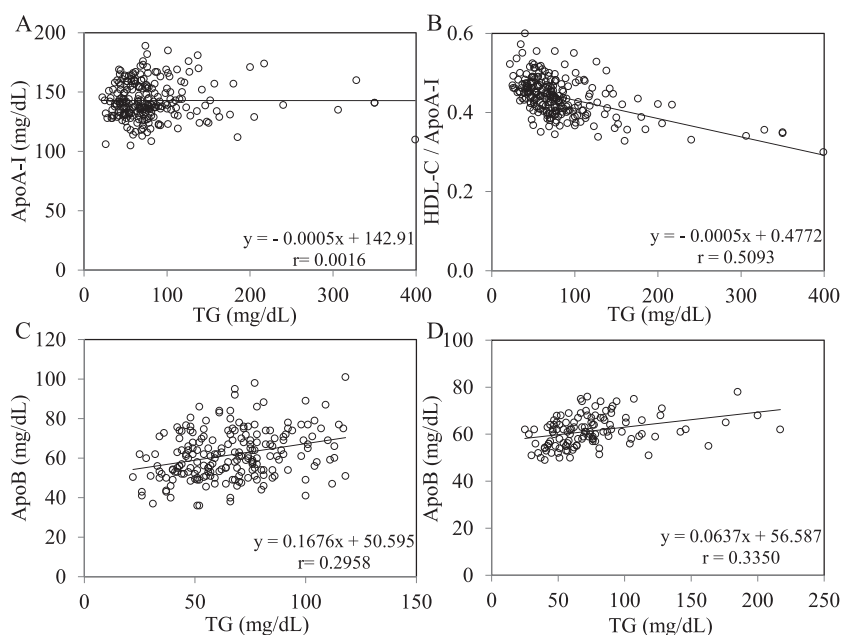


Fig.2 Correlation among apoA-I, HDL-C/apoA-I, apoB, and TG levels

A: TG vs. apoA-I, B: serum TG vs. HDL-C/apoA-I, C: TG vs. apoB (TG < 120 mg/dL), D: TG vs. apoB (LDL-C = 74-102 mg/dL)

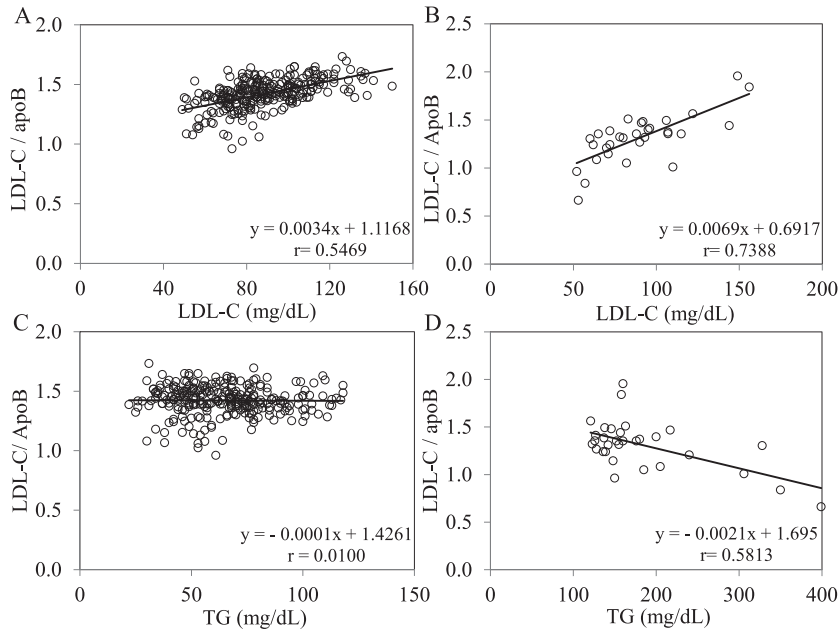


Fig.3 Correlation among LDL-C/apoB, LDL-C, and TG levels
 A, B: LDL-C vs. LDL-C/apoB, C, D: TG vs. LDL-C/apoB, A, C: normal serum TG range (<120 mg/dL), B, D: high serum TG range (≥120 mg/dL)

組成比の関連を検討した。apoB/apoA-IはLDL-C/HDL-Cと強い相関を示し (Fig.4 A)、HDL-C/apoA-Iとの回帰式と相関係数は $y = -0.1715x + 0.5205$ ($r=0.3592$) で弱い負の相関を示した (Fig.4 B)。一方、apoB/apoA-IはLDL-C/apoBとは、血清TG正常域では相関がなかったが ($r=0.1890$) (Fig.4 C)、TG高値域では、回帰式と相関係数は $y = -0.8029x + 1.6525$ ($r=0.4743$) の負相関を示した (Fig.4 D)。

Ⅳ. 考察

今回の研究は、中学生の健康診断検査における動脈硬化症検査の指標において、血清TG濃度がHDLおよびLDLの脂質組成に強く影響を及ぼすため、HDLおよびLDLの主要構成アポリポ蛋白のapoA-IおよびapoBを利用することの必要性を明らかにした。HDL粒子のコレステロール含有率は血清TG濃度が高値になるとともに減少し、HDL粒子中のTG含有量が増加した。そのため血清TG高値域では、TC/HDL-C、TG/

HDL-C、LDL-C/HDL-Cなどの動脈硬化症検査指標は、血清TG濃度により影響を受けると推測された。一方、apoA-Iは血清TG濃度によってほとんど影響を受けず、apoBは血清TG濃度に比例的に変化した。それ故にコレステロール代謝の評価では、正常血清TG値域では、LDL-C/apoB、HDL-C/apoAI、apoB/apoA-Iなどの指標を用いることは有用であったが、高TG値域ではTG濃度の影響を考慮して評価する必要があった。

LDL-C、HDL-Cは、動脈硬化症のリスク因子と抗リスク因子である²⁾。そのため、動脈硬化症検査の指標として各脂質濃度の他に、脂質間の比率が指標に用いられている。しかし、HDL粒子やLDL粒子中のコレステロールエステルは血清TGリッチリポ蛋白 (VLDL、CMレムナント) との間で、コレステロールエステル転送蛋白 (CETP) によるTGの交換が行われる¹⁸⁾。LDL-Cは血清TG正常域では、TGとほとんど相関しないが、TG高値ではLDL-Cは低値傾向にある。LDL粒子についてもHDL粒子同様に、TG高値血清ではLDL-TGが増加しLDL-Cが減少

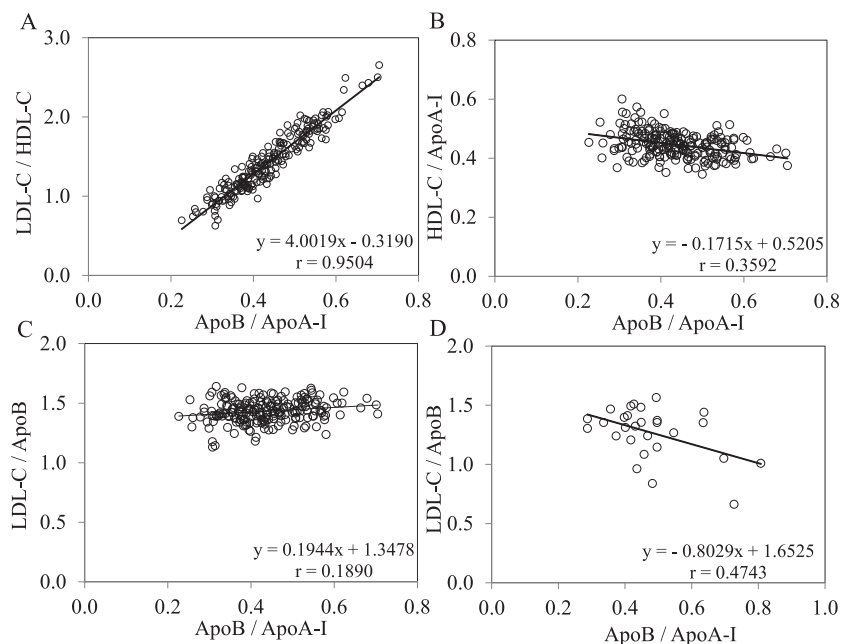


Fig.4 Correlation between apoB/apoA-I and LDL/HDL levels
 A: apoB/apoA-I vs. LDL-C/HDL-C, B: apoB/apoA-I vs. HDL-C/apoA-I, C, D: apoB/apoA-I vs. LDL-C/apoB, A, C: normal TG range (<120 mg/dL), C: normal and high TG range, D: high TG range (≥ 120 mg/dL)

する脂質含量の変化が起こっていると考えられた¹⁹⁾。メタボリックシンドロームではCETPが増加し、HDL-Cの低下につながると報告されている²⁰⁾。HDL粒子及びLDL粒子脂質組成は、血清TG濃度の影響を受けるため、高TG値での指標としての精度は低くなる。

動脈硬化症検査の指標として、LDLとHDLの主要構成アポ蛋白であるアポ蛋白Bとアポ蛋白A-Iの比LDL-C/apoB、HDL-C/apoA-I、apoB/apoA-Iなどが用いられる¹⁰⁻¹³⁾。今回の研究では、TG濃度に関係なくapoA-IとHDL-PLはほぼ一定の比率を示すことから、両者はHDL粒子の評価には適切であると考えられた。LDL-Cのみの変動は、正常なLDL組成をもつ粒子数の変動と推定されている²¹⁾。今回、LDL-C/apoBは、血清TGの正常域では血清TG濃度の影響を受けなかったが、高TG値域では比例的に低値傾向になった。そのため、TG高値では、LDL-C/apoBはやや低めに見積もられるので、評価に注意が必要である。また、LDL-Cの平均値付近(74~102 mg/dL)でのapoBの変動は、TGリッチリポ蛋

白由来のapoBの変動を反映していると考えられた。

正常のLDLに比べて、小型で比重の重いsmall dense LDLは、LDL-receptorへの結合親和性が低く、さらに酸化変性され易いため酸化LDLとなり、動脈硬化形成に係わる²²⁾。small dense LDLは、血清TG高値で出現頻度が高いことが知られている²³⁾。また、顕性糖尿病性腎症や微量アルブミン尿を示す早期腎症で、small dense LDLの出現が確認されている²⁴⁾。Simabukuroらは、小児の肥満患者で血清TG濃度とLDL粒子サイズは負の相関を示すことを報告している²⁵⁾。Kazumiらは、青年でLDLの小粒子化は血清TG濃度とは独立してアディポネクチンや肥満と関連があると述べている²⁶⁾。LDL粒子サイズの測定は、電気泳動やHPLCによる分析は、健康診断検査などでは困難である。LDL-C/apoBは、前述の高TG値でLDL-Cが低値傾向になるが、小型粒子の存在を推定することは可能である。確定には、nativeポリアクリルアミドゲル電気泳動検査と家族の脂質代謝検査

を追加することが必要である。

最近のヨーロッパでの研究では、家族性高コレステロール血症 (FH) の頻度は、ヘテロ型が200人に1人と報告されている²⁷⁾。太田らは、高コレステロール血漿幼児の14%がFHであったことを報告している²⁸⁾。小児の高コレステロール血症はIIa型の高脂血症病型を示すが、非肥満や血糖値、インスリンなどの糖代謝は正脂血症者と類似している。また、最近では、ヤセの小児も多く、栄養摂取の問題もコレステロール代謝に影響するため、家族性因子と生活習慣因子と分けて判断が必要である。スクリーニング検査からHDL、LDLの脂質濃度とアポ蛋白濃度から、脂質代謝状態を把握することは重要であり、異常値を示す場合には、健診システムに栄養指標検査や家族の脂質代謝検査を加え、必要ならば電気泳動やHPLCなどによる精査を組み込むことが必要である。

血清TG濃度の高値は、リポ蛋白粒子間のコレステロールとTGの置換を引き起こし、HDLやLDL粒子中の脂質組成に影響を及ぼすと考えられ、脂質代謝の評価には、アポ蛋白を用いたリポ蛋白組成の変化を捉えることは有用である。しかし、血清TG値の場合は、脂質代謝状態の的確な評価が必要であり、精密分析検査を追加検査として組み込む必要がある。またコレステロール代謝は、家族性因子と生活習慣因子と分けて判断が必要であり、家族の脂質代謝検査も行う必要がある。

V. 謝辞

本研究は、独立行政法人日本学術振興会科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成、基盤（C）課題番号24500813）の支援により行ったものである。

VI. 参考文献

- 1) Li S, Chen W, Srinivasan SR, Bond MG, Tang R, Urbina EM, Berenson GS: Childhood cardiovascular risk factors and carotid vascular changes in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *JAMA*, 290: 2271-2276, 2003.
- 2) Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP 3rd, Tracy RE, Wattigney WA: Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. *N Engl J Med*, 338: 1650-1656, 1998.
- 3) Japan atherosclerosis society (JAS) guidelines for prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases 2012. Japan atherosclerosis society, p.p. 1-p.p.182, Tokyo, 2012.
- 4) Okada T, Murata M, Yamauchi K, Harada K: New criteria of normal serum lipid levels in Japanese children: the nationwide study. *Pediatr Int*, 44: 596-601, 2002.
- 5) Lemieux I, Lamarche B, Couillard C, Pascot A, Cantin B, Bergeron J, Dagenais GR, Després JP: Total cholesterol/HDL cholesterol ratio vs LDL cholesterol/HDL cholesterol ratio as indices of ischemic heart disease risk in men: the Quebec Cardiovascular Study. *Arch Intern Med*, 161: 2685-2692, 2001.
- 6) Green MS, Heiss G, Rifkind BM, Cooper GR, Williams OD, Tyroler HA: The ratio of plasma high-density lipoprotein cholesterol to total and low-density lipoprotein cholesterol: age-related changes and race and sex differences in selected North American populations. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation*, 72: 93-104, 1985.
- 7) Manco M, Grugni G, Di Pietro M, Balsamo A, Di Candia S, Morino GS, Franzese A, Di Bonito P, Maffei C, Valerio G: Triglycerides-to-HDL cholesterol ratio as screening tool for impaired glucose tolerance in obese children and adolescents. *Acta Diabetol*, 53: 493-498, 2016.
- 8) Bjornstad P, Nguyen N, Reinick C, Maahs DM, Bishop FK, Clements SA, Snell-Bergeon JK, Lieberman R, Pyle L, Daniels SR, Paul Wadwa R: Association of apolipoprotein B, LDL-C and vascular stiffness in adolescents with type 1 diabetes. *Acta Diabetol*, 52: 611-619, 2015.
- 9) Bae JC, Han JM, Kwon S, Jee JH, Yu TY, Lee MK, Kim JH: LDL-C/apoB and HDL-C/apoA-I ratios predict incident chronic kidney disease in a large apparently healthy cohort. *Atherosclerosis*, 251: 170-176, 2016.
- 10) Sniderman AD, Holme I, Aastveit A, Furberg C, Walldius G, Jungner I: Relation of age, the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio, and the risk of fatal myocardial infarction and implications for the primary prevention of cardiovascular disease. *Am J Cardiol*, 100: 217-221, 2007.
- 11) Juonala M, Viikari JS, Kähönen M, Solakivi T, Helenius H, Jula A, Marniemi J, Taittonen L, Laitinen T, Nikkari T, Raitakari OT: Childhood levels of serum apolipoproteins B and A-I predict carotid intima-me-

- dia thickness and brachial endothelial function in adulthood: the cardiovascular risk in young Finns study. *J Am Coll Cardiol*, 52: 293-299, 2008.
- 12) Savas Erdeve S, Simsek E, Dallar Y, Biyikli Z: Utility of ApoB/ApoA1 ratio for the prediction of cardiovascular risk in children with metabolic syndrome. *Indian J Pediatr*, 77: 1261-1265, 2010.
 - 13) Ben Ounis O, Elloumi M, Makni E, Zouhal H, Amri M, Tabka Z, Lac G: Exercise improves the ApoB/ApoA-I ratio, a marker of the metabolic syndrome in obese children. *Acta Paediatr*, 99: 1679-1685, 2010.
 - 14) Kazumi T, Kawaguchi A, Hozumi T, Nagao M, Iwahashi M, Hayakawa M, Ishihara K, Yoshino G: Low density lipoprotein particle diameter in young, non-obese, normolipidemic Japanese men. *Atherosclerosis*, 142: 113-119, 1999.
 - 15) Shimabukuro T, Sunagawa M, Ohta: Low-density lipoprotein particle size and its regulatory factors in school children. *J Clin Endocrinol Metab*, 89: 2923-2927, 2004.
 - 16) Tani S, Matsumoto M, Nagao K, Hirayama A: Association of triglyceride-rich lipoproteins-related markers and low-density lipoprotein heterogeneity with cardiovascular risk: effectiveness of polyacrylamide-gel electrophoresis as a method of determining low-density lipoprotein particle size. *J Cardiol*, 63: 60-68, 2014.
 - 17) Tsubakio-Yamamoto K, Sugimoto T, Nishida M, Okano R, Monden Y, Kitazume-Taneike R, Yamashita T, Nakaoka H, Kawase R, Yuasa-Kawase M, Inagaki M, Nakatani K, Masuda D, Ohama T, Matsuyama A, Nakagawa-Toyama Y, Ishigami M, Komuro I, Yamashita S: Serum adiponectin level is correlated with the size of HDL and LDL particles determined by high performance liquid chromatography. *Metabolism*, 61: 1763-1770, 2012.
 - 18) Sandhofer A, Kaser S, Ritsch A, Laimer M, Engl J, Paulweber B, Patsch JR, Ebenbichler F: Cholesteryl ester transfer protein in metabolic syndrome. *Obesity*, 14: 812-818, 2006.
 - 19) Hidaka H, Tozuka M, Meyer B, Yamauchi K, Sugano M, Nakabayashi T, Katsuyama T. Characterization of triglyceride rich lipoproteins with very light density by ultracentrifugation and agarose gel electrophoresis using triglyceride- and cholesterol-staining. *Ann Clin Lab Sci*, 33: 167-78, 2003.
 - 20) Ginsberg HN, Zhang YL, Hernandez-Ono A. Metabolic Syndrome: Focus on dyslipidemia. *Obesity* 14: 41s-49s, 2006.
 - 21) Hirano T, Ito Y, Yoshino G: Measurement of small dense low-density lipoprotein particles. *J Atheroscler Thromb*, 12: 67-72, 2005.
 - 22) Tribble DL, van den Berg JJ, Motchnik PA, Ames BN, Lewis DM, Chait A, Krauss RM: Oxidative susceptibility of low density lipoprotein subfractions is related to their ubiquinol-10 and alpha-tocopherol content. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91: 1183-1187, 1994.
 - 23) Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM: Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*, 260: 1917-1921, 1988.
 - 24) Hirano T, Naito H, Kurokawa M, Ebara T, Nagano S, Adachi M, Yoshino G: High prevalence of small LDL particles in non-insulin-dependent diabetic patients with nephropathy. *Atherosclerosis*, 123: 57-72, 1996.
 - 25) Shimabukuro T, Sunagawa M, Ohta: Low-density lipoprotein particle size and its regulatory factors in school children. *J Clin Endocrinol Metab*, 89: 2923-2927, 2004.
 - 26) Kazumi T, Kawaguchi A, Hozumi T, Nagao M, Iwahashi M, Hayakawa M, Ishihara K, Yoshino G: Low density lipoprotein particle diameter in young, non-obese, normolipidemic Japanese men. *Atherosclerosis*, 142: 113-119, 1999.
 - 27) Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, Wiklund O, Hegele RA, Raal FJ, Defesche JC, Wiegman A, Santos RD, Watts GF, Parhofer KG, Hovingh GK, Kovanen PT, Boileau C, Aversa M, Borén J, Bruckert E, Catapano AL, Kuivenhoven JA, Pajukanta P, Ray K, Stalenhoef AF, Stroes E, Taskinen MR, Tybjaerg-Hansen A; European Atherosclerosis Society Consensus Panel: Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J*, 34: 3478-90a, 2013.
 - 28) Ohta T, Kiwaki K, Endo F, Umehashi H, Matsuda I: Dyslipidemia in young Japanese children: its relation to familial hypercholesterolemia and familial combined hyperlipidemia. *Pediatr Int*, 44: 602-607, 2002.