コレステロール代謝に及ぼすトレーニング 期間の影響

広 田 公 一 (日本体育大学体育研究所)

坂 元 晃 史 (昭和大学薬学部)

武 井 信 子 (筑波大学基礎医学系)

東 恵 彦 (筑波大学基礎医学系)

(昭和59年11月30日受付)

Effect of physical training period on cholesterol metabolism

Koichi Hirota¹

Terufumi Sakamoto²

Nobuko Takei³

Tokuhiko Higashi³

Abstract

Male Wistar rats, 5—6 weeks of age and about 150 g of body weight, were trained for 3, 6 or 10 weeks according to a treadmill running program: 15 m/min, 1,000 m/day and 6 days/week.

Compared with sedentary control rats, the trained rats gave following results:

1. Remarkable decrease in body weight,
2. Significantly lower level of serum cholesterol,
3. Relative increase in lipids loaded on α -lipoproteins, and
4. Distinct enhancement of the incorporation of ^{14}C -acetate into liver cholesterol when assayed with slices.

These manifestations became more and more obvious as the training continued for longer periods, and the differences between the trained and the sedentary rats were statistically significant after 10-week exercise.

The present evidence has provided an additional support to our hypothesis that the physical exercise promotes the turnover of cholesterol in tissues.

(Koichi Hirota, Terufumi Sakamoto, Nobuko Takei and Tokuhiko Higashi, "Effect of physical training period on cholesterol metabolism", *Jap. J. Phys. Educ.*, 30—4 : 273—79, March, 1986)

1 Nippon College of Physical Education, Institute of Physical Education, Fukazawa, Setagaya-ku, Tokyo (158)

2 Showa University, School of Pharmaceutical Sciences, Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo (142)

3 University of Tsukuba, Institute of Basic Medical Sciences, Sakura-mura, Nihari-gun, Ibaraki-ken (305)

動脈硬化の予防につながるであろうとされている身体運動の効果のメカニズムを解明する一助に資せんとして、著者らはさきに Wistar 系雄ラットに 5—6 週の運動負荷の実験を行い、1) 血清コレステロール値の低下、2) 肝コレステロール量の減少、3) ^{14}C -酢酸の肝コレステロールへの *in vivo* での取りこみの増加、という成績をえてこれを報告し¹⁵⁾、このような肝におけるコレステロール代謝の亢進が、動脈硬化予防上有益な現象であろうと考察した。

このような身体運動のトレーニング効果が、運動が長期にわたるほど顕著になるかどうかを確認する目的で、本研究では前回よりやや強い運動をそれぞれ 3, 6, 10 週負荷したラットについて、それぞれ同期の非運動群対照ラットと比較しながらコレステロール代謝への影響を検討した。今回は前回の測定項目に加え、新たに、1) HDL コレステロール量 (High Density Lipoprotein-cholesterol)、2) 血清リポタンパク質の電気泳動像、3) 肝切片 (*in vitro*) でのコレステロール生合成を測定した。

実験方法

1. 実験条件

前報¹⁵⁾と同様に生後 5—6 週、体重 150g 前後の Wistar 系雄ラットに、treadmill を用いて毎分 15 m, 1 日 1,000m, 1 週 6 日間の運動を課し、3, 6, 10 週のトレーニング終了後以下の測定を行った。普通食同条件下で同じ期間飼育したラットを対照群とし、実験群と同時に測定に供した。

2. 測定

血清総および遊離コレステロールは Zak 法³⁵⁾の変法²³⁾で測定した。HDL コレステロールは、栄研化学の HDL コレステロール測定用キットを使用した。本法はリタングステン酸を含む沈澱試薬により HDL 以外のリポタンパクを沈澱させ⁵⁾、上清に残存する HDL のコレステロールを酵素法²⁾で測定するものであるが、ヒト血清用に開発された同キットがラットでも同様の分離効果を示すかどうかを予めチェックした¹³⁾。また同時に酵素法で総コレステロールを定量し、HDL コレ

ステロールの総コレステロールに対する百分率を計算した。

血清リポタンパクの電気泳動は Naito²⁴⁾の方法に従い、ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動法と、Sudan Black B による脂質の前染色法を組合せた。泳動後デンストメーター (富士理研, FDA IV 型) によって各リポタンパク分画の積分比を求めた。

in vitro におけす ^{14}C -酢酸の肝コレステロールへの取りこみは次のようにして測定した。すなわち、取り出した肝を、30mM ニコチンアミドと 4 mM MgCl_2 を含む 0.1M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) で洗浄し、肝切片を作り、その 1.5g を同緩衝液 15ml ($6\mu\text{Ci}$ の ^{14}C -酢酸を添加したもの) とともに、37°C, 90 分間、振盪しつつインキュベートした。終了後、氷浴中で冷却し、15% KOH (90% エタノール溶液) を 15ml 加え、70°C の温浴中で 30 分間ケン化し、放冷後 20ml 石油エーテルで 6 回抽出した。集めた石油エーテル層を蒸発乾固しエタノール 21ml に溶かし、アセトン 18ml を入れたフラスコ中に綿栓濾過した。濾液 5ml を取り、ジギトニンを加えて 37°C に一夜放置し、沈澱したコレステロールの放射能を液体シンチレーションカウンタで測定した。

なお、測定値の日内変動³⁾をさけるために、ラットを殺す時刻が午後 1 時前後になるように配慮した。

実験結果

1. 体重

測定時の両群ラットの体重を比較したのが Table 1 である。対照群は 3—10 週と日時の経過とともに体重が漸増したが、運動群ではその増加が微少で、6 週運動ラットと 10 週運動ラットの間には差がなく、どの時期においても運動群の体重は対照群に対して有意に小さかった。

2. 血清総および遊離コレステロール量

運動群および対照群各 5—9 例の血清コレステロール測定値を Table 2 に示す。

平均値は何れも運動群の方が低値で、6 週の遊離コレステロールと、10 週の総コレステロールお

Table 1. Body weight of rats (g).

Group	Period for exercise (weeks)			
	0	3	6	10
Exercise	201±10.5(21)	318±27.1(8)	388±28.2(8)	397±33.8(5)
Control	204±14.6(20)	353±23.4(6)	420±27.2(5)	516±21.3(9)
p	N.S.	<0.05	<0.05	<0.001

Figures are the average±standard deviation, and those in parentheses indicate the number of animals.

Table 2. Level of total and free cholesterol in serum (mg/100ml): Zak's Method.

Cholesterol		Group	Period for exercise (weeks)		
			3	6	10
Total (T)		Exercise	56.1±10.2(8)	66.1±8.0(8)	57.7±3.2(5)
		Control	66.5±7.3(6)	72.9±5.4(5)	83.1±7.3(9)
		p	N.S.	N.S.	<0.001
Free (F)		Exercise	16.3±2.1(8)	13.4±1.7(8)	11.1±1.1(5)
		Control	18.6±3.5(6)	17.2±2.0(5)	19.2±2.6(9)
		p	N.S.	<0.01	<0.001
Ester (T-F)		Exercise	39.8	52.7	46.6
		Control	47.9	55.7	63.9

N.S.: not significant.

よび遊離コレステロールの値に有意差が認められた。

エステル型コレステロールを総コレステロールと遊離コレステロールとの差として平均値から計算したが、何れも運動群が低値で、とくに10週運動群で対照群に比してかなり低い値を示した点が注目された。

対照群においては、総コレステロールが加齢に伴って増加する傾向がみられ、しかもそれがエステル型コレステロールの増加に起因している。これに対して運動群では、10週運動ラットの血清コレステロール量が6週運動ラットのそれよりも有意に低値を示し、とくにエステル型コレステロールの減少が明らかであった。

3. HDL コレステロール量

栄研キットを用いた酵素法による HDL コレステロールおよび総コレステロールの測定値ならびに両者の比の値を Table 3に示す。

総コレステロール値は、Table 2の Zak 変法に

よる測定値との間に多少の相違が認められるが、何れも運動群が低値で、10週運動群ではとくに対照群との差が大きかった。

HDL コレステロールは、6週まで、両群ともにあまり変動しなかったが、6—10週の間に対照群で増加し、運動群に比べて有意に高値となった。動脈硬化発症の1つの指標とされている HDL コレステロールの総コレステロールに対する割合をみると、運動群が実験期間を通じてほぼ60%前後を維持していたのに対し、対照群ではそれより低く50%前後で、特に6週から10週にかけては、対照群では HDL コレステロールの増加(4mg)よりも総コレステロールの増加(19.8mg)の方が大きく、この比率は50%を割った。

4. 血清リポタンパク質の脂質の百分率

電気泳動分析で分画した α -リポタンパク質と (pre β + β) リポタンパク質に含まれる脂質の百分率は Table 4のとおりで、対照群では実験期間を通じてほとんど変動がなかったのに対し、運動

Table 3. Level of HDL- and total cholesterol (mg/100ml serum) : enzymatic method.

Cholesterol	Group	Period for exercise (weeks)		
		3	6	10
HDL	Exercise	35.4±2.9(8)	36.1±3.1(8)	34.1±2.8(5)
	Control	36.9±3.7(6)	36.9±3.5(8)	40.9±2.9(9)
	p	N.S.	N.S.	<0.001
Total	Exercise	60.8±8.1(8)	60.2±7.1(8)	53.9±3.5(5)
	Control	70.9±7.2(6)	67.2±4.9(5)	87.0±7.8(9)
	p	<0.05	N.S.	<0.001
HDL/Total	Exercise	0.58±0.04(8)	0.60±0.03(8)	0.63±0.03(5)
	Control	0.52±0.03(6)	0.55±0.03(5)	0.47±0.03(9)
	p	<0.05	<0.05	<0.001

N.S.: not significant

Table 4. Relative concentration of lipids in α -lipoprotein to those in (pre β + β)-lipoprotein(%).

Group	Period for exercise (weeks)		
	3	6	10
Exercise	74.5/25.5±3.2(8)	74.6/25.4±5.5(8)	77.5/22.5±2.5(5)
Control	73.1/26.9±1.7(6)	73.4/26.6±5.8(5)	73.4/26.6±2.6(9)
p	N.S.	N.S.	<0.01

Lipoproteins were stained for their lipids with Sudan Black B and assayed densitometrically.

Figures are the percentage of α /(pre β + β) -lipoprotein to the sum of both.

N.S.: not significant.

Table 5. Incorporation of ^{14}C -acetate into liver cholesterol in vitro (cpm/mg cholesterol).

Group	Period for exercise (weeks)		
	3	6	10
Exercise	7,279±2,262(8)	14,532±3,278(7)	33,903±3,623(5)
Control	3,707± 941(8)	3,398± 786(5)	4,002± 924(9)
p	<0.001	<0.001	<0.001

Liver slices were incubated at 37° for 90 minutes with ^{14}C -acetate.

群では10週後に α -リポタンパク質の割合が増加し、同週令の対照群との間に有意差が認められた。

5. 肝切片のコレステロール合成能

肝切片を用い、 ^{14}C -酢酸のコレステロールへの取り込み(90分インキュベーション)を測定した結果を Table 5に示す。

対照ラットでは実験期間中加齢に伴う変動を示

さなかったが、運動群では3週ですでに対照の1.96倍の比放射能が観察され、さらに6週で4.28倍、10週では8.47倍に達し、運動が長期にわたる程著明な取りこみ増が認められた。

6. 統計的検定法

結果の数値に関し、運動群と対照群との間の有意性の統計的検定は Student の t-test 法により

行った。

考 察

前回の実験¹⁵⁾では、5—6週運動ラットが対照群との間に体重の差を示さなかったが、今回の実験では運動群が常に有意に軽量で、とくに10週運動群では対照群との間に歴然とした差が観察された。その後の著者らの実験(未発表)で同週齢ラットに同程度の運動を8週負荷した例でも、体重は有意に対照群より少ないことが確認されている。最近, Deshanies et al.⁸⁾も、強制的に泳がせた Wistar 系雌ラットで、同じ結果を報告している。飼料摂取量は体重の増減と深い関わりをもつ。本実験においては運動群にその摂取が大きかったが、粉食で食べちらかしがあったため摂取量は正しく計量することができなかった。ちなみにわれわれが7週齢の SHRSP ラットで同様の運動負荷を行った実験¹⁶⁾では、5週目で各5例の平均摂取量が運動群 146 ± 10 g/週、対照群 118 ± 12 g/週、10週目ではそれぞれ 128 ± 12 g/週と 120 ± 10 g/週であり、5週目の摂取量は運動群の方が有意に多かった。

前回の実験条件下では、血清総コレステロールについては有意の差がみられなかったが、今回は10週運動群が対照に比して有意に低値を示した。運動の強度と持続とが増加するにつれて、血清総コレステロール量低下の効果が出現するものと解される。上記 Deshanies et al.⁸⁾の実験では、1日2時間、1週5回、4週間の遊泳では血清総コレステロール値は不変であったという。しかし、Gollnick et al.¹²⁾によるラットの遊泳トレーニングでは血漿コレステロールの減少が観察されている。因みにヒトにおいて、運動のトレーニング効果として血清コレステロール値が低下したという報告は、Lopez-s, et al.²⁰⁾, Cooper et al.⁷⁾, Peltonen²⁷⁾, あるいは Dressendorfer⁹⁾などの論文が挙げられるが、他方影響がなかったという報告もかなりの数に見受けられる^{1), 11), 21), 28), 32), 33), 35)}。恐らくは、Campbell⁶⁾や、Papadopoulos et al.²⁶⁾が示唆しているように、運動の種類や強度が関与するのであろう。

血清遊離コレステロールは、前回同様、今回の実験でも、運動6週および10週のラットも対照群より有意に低いことが知られた。

HDL コレステロールの絶対値は本実験ではむしろ運動群で低い、動脈硬化発症の指標と目されている HDL コレステロール/総コレステロールの比の値は、平均値から計算したかぎりでは運動群の方が高く (Table 3), とくに10週運動群において著明であった。Deshanies⁸⁾の実験例でもこの比の値が15%増加したという。ヒトではトレーニングの結果として HDL コレステロールの増加や、HDL コレステロールの総コレステロールに対する比率の増加を報告した例^{1), 9), 10), 18), 21), 22), 25), 27), 28), 29), 31), 32), 33), 34)}が多いが、一方また HDL コレステロールが変化しないという Frey et al.¹¹⁾や Shephard³¹⁾の成績もあり、また Brownell⁴⁾によれば、27—57歳の男女の、70%HR max で1日15—25分、10週間のトレーニングの結果、男子では HDL コレステロールが増加したのが、女子ではむしろ低下したという、さらに Lehtonen¹⁹⁾の aerobic の練習をしたサッカーの選手では HDL コレステロールは高値を示したが anaerobic の練習をしたアイスホッケーの選手ではむしろ対照より低値であったとの報告もある。

Table 4の数値は、 α -リポタンパク質に含有される脂質と、 β -リポタンパク質に含有されている脂質との割合を示すものである。前者が HDL、後者が LDL にほぼ対応することと、両者の脂質の中でコレステロールの占める比率が高いことを考え合わせると、運動10週後のラットで、HDL コレステロール/LDL コレステロールの相対比が対照よりも上昇していることが示唆される。第3表で総コレステロールと HDL コレステロールの差を LDL コレステロールとすれば、10週運動群で19.8 同対照群で46.1mg/100ml 血清となり、明らかに前者が低い。ヒトのトレーニング効果に関する上掲の論文の中でも、LDL コレステロールが対照に比して低いという報告が多いが^{4), 27), 29), 32), 34)}, Adner¹⁾の実験では差が認められていない。

前回の実験¹⁵⁾において、運動群ラットにおいて肝コレステロール量が少い上に、in vivo での¹⁴C-

酢酸による標識速度が大きいことを報告したが、今回は肝切片を用いて *in vitro* で運動群ラットのコレステロール生合成能が極めて亢進していることを立証した。これはコレステロール生合成の鍵酵素である HMG-CoA reductase の活性増加に関連していることがその後の著者らの研究で明らかになっている(未発表)。従って前報で考察したように、運動群において肝のコレステロール代謝の亢進があることはほぼ確実であろう。Hebbelinck¹⁴⁾はマウスに運動を負荷し、6日以後にコレステロール代謝の亢進がみられたと報告しており、また Lampman et al.¹⁷⁾もランニング実験12週のラットで、肝コレステロールの減少と¹⁴C酢酸の取りこみ増加という、われわれと同じような成績を得ている。

以上を総合して「ラットに運動を負荷したトレーニング効果として、コレステロールの代謝回転が促進される」という前報の結論が本研究においてもさらに立証されるものと考えられるが、一方そのような効果が発現するためにはある程度、長期にわたる運動負荷が必要であることが改めて示唆された。すなわち今回の測定項目についても、3週間の運動負荷では体重と、肝切片でのコレステロール生合成の2項目だけしか有意差が認められず、6週間運動負荷ではこれらの他にわずかに血清遊離コレステロール量での有意差が加わるのみであるが、10週間運動負荷ではすべての測定項目において対照群との間に明らかな有意差が認められている。

結 論

運動が動脈硬化の予防の上にもつ効果のメカニズムを解明する一助に資せんとして、Wistar 系雄ラットにそれぞれ3, 6, 10週間の強制運動を負荷し、コレステロール代謝への影響を観察した。

その結果、運動負荷の期間が長くなればなる程、体重の減少、血清コレステロール値の低下、血清 α -リポタンパク脂質の相対的増加、肝のコレステロールへの¹⁴C-酢酸の取りこみ亢進(*in vitro*)が明瞭に認められるようになり、運動のトレーニング効果としてコレステロールの代謝回転の促進が

示唆された。

文 献

- 1) Adner, M.M. and Castelli, W.P., "Elevated high-density lipoprotein levels in marathon runner," J.A.M.A., 243: 534-36, 1980.
- 2) Allain, C.C., Poon, L.S., Chan, C.S.G., Richmond, W. and Fu, P.C., "Enzymatic determination of total serum cholesterol," Clin. Chem., 20: 470-75, 1974.
- 3) Bortz, W.M. and Steele, L.A., "Synchronization of hepatic cholesterol synthesis, cholesterol and bile acid content, fatty acid synthesis and plasma free fatty acid levels in the fed and fasted rat," Biochim. Biophys. Acta, 306: 85-94, 1973.
- 4) Brownell, K.D., Bachorik, P.S. and Ayerle, R.S., "Changes in plasma lipid and lipoprotein levels in man and woman after a program of moderate exercise," Circulation, 65: 477-84, 1982.
- 5) Burstein, M., Scholnick, H.R. and Morfin, R., "Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions," J. Lipid Res., 11: 583-95, 1970.
- 6) Campbell, D.E., "Influence of several physical activities on serum cholesterol concentrations in young men," J. Lipid Res., 6: 478-80, 1965.
- 7) Cooper, K.H., Pollock, M.L., Martin, R.P., White, S. R., Linnerud, A.C. and Jackson, A., "Physical fitness levels vs. selected coronary risk factors," J.A.M.A., 236: 244-49, 1977.
- 8) Deshanies, V., Leblanc, J. and Richard, D., "Influence of a palatable, high-fat diet, and exercise training on the high-density lipoprotein to total cholesterol ratio in the rat," Metabolism, 32: 62-65, 1983.
- 9) Dressendorfer, R.H., Wade, C.E., Hornick, C. and Timmis, C., "High-density lipoprotein-cholesterol in marathon runners during a 20-day road race," J.A.M.A., 247: 1715-17, 1982.
- 10) Erkelens, D.W., Albers, J.J., Hazzard, W.R., Frederick, R.C. and Bierman, E.L., "High-density lipoprotein-cholesterol in survivors of myocardial infarction," J.A.M.A., 242: 2185-89, 1979.
- 11) Frey, M.A., Doerr, B.M., Laubach, L.L., Mann, B.L. and Glueck, C.J., "Exercise does not change high-density lipoprotein cholesterol in woman after ten weeks of training," Metabolism, 31: 1142-46, 1982.
- 12) Gollnick, P.D. and Simmons, S.W., "Physical activity and liver cholesterol," Intern. Z. angew. Physiol. einschl. Arbeitsphysiol., 23: 322-30, 1967.
- 13) 浜登道子・坂元晃史・東 恵彦・国井修一・広田公一「実験的動脈硬化症におけるコレステロール代謝の研究」生物物理化学, 26: 235-42, 1982.

- 14) Hebbelinck, M. and Casier, H., "Effect of muscular exercise on the metabolism of 4-¹⁴C labelled cholesterol in mice," *Intern. Z. angew. Physiol. einsch. Arbeitsphysiol.*, 22 : 185—89, 1966.
- 15) 広田公一・東 恵彦・新木敏正・北 博正・井川正治「コレステロール代謝に及ぼす身体運動のトレーニング効果」*体育学研究*, 24 : 325—32, 1980.
- 16) 広田公一・坂元晃史・福田芳郎・東 恵彦・安部 孝「コレステロール代謝に及ぼす身体トレーニングおよび食塩負荷の影響(第二報). 脳卒中易発症ラット(SHRSP)の場合」*昭和59年度科研費補助金研究成果報告(#58380011)* 39—46, 1985.
- 17) Lampman, R.M., Foss, M.L., Block, W.D. and Flora, J.D., "Metabolic adaptation with physical training: ¹⁴C-acetate incorporation into tissue lipids," *Metabolism*, 25 : 1601—09, 1976.
- 18) Lehtonen, A., Viikari, J. and Ehnholm, C., "Effect of exercise on high-density lipoprotein apoproteins," *Acta Physiol. Scand.*, 106 : 487—88, 1979.
- 19) Lehtonen, A. and Viikari, J., "Serum lipids in soccer and icehockey players," *Metabolism*, 29 : 36—39, 1980.
- 20) Lopez-S.A., Viral, R., Balart, L. and Arroyave, G., "Effect of exercise and physical fitness on serum lipids and lipoproteins," *Atherosclerosis*, 20 : 1—9, 1974.
- 21) Marniemi, J., Dahlstrom, S., Kvist, M., Seppanen, A. and Hietanen, E., "Dependence of serum lipid and lecithin: cholesterol acyltransferase levels on physical training in young men," *Eur. J. Applied Physiol.*, 49 : 25—35, 1982.
- 22) Moore, C.E., Hartung, G.H., Mitchell, R.E., Kappus, C.M. and Hinderlitter, J., "The relationship of exercise and diet on high-density lipoprotein cholesterol levels in women," *Metabolism*, 32 : 189—96, 1983.
- 23) 茂手木皓喜・鈴木秀郎編, 標準臨床検査法, 医学書院, 1967. pp. 214—16.
- 24) Naito, H.K., Wada, M., Ehrhart, L.A. and Lewis, L. A., "Polyacrylamide-gel electrophoresis as a screening procedure for serum lipoprotein abnormalities," *Clin. Chem.*, 19 : 228—34, 1956.
- 25) Nikkila, E.A., Taskinen, M.-R., Rehunen, S. and Härkönen, M., "Lipoprotein lipase activity in adipose tissue and skeletal muscle of runners: Relation to serum lipoproteins," *Metabolism*, 27 : 1661—71, 1978.
- 26) Papadopoulos, N.M., Bloor, C.M. and Standefer, J. C., "Effect of exercise and training on plasma lipids and lipoproteins in the rat," *J. Applied Physiol.*, 26 : 760—63, 1969.
- 27) Peltonen, P., Marniemi, J., Hietanen, E., Vuoriand, I. and Ehnholm, C., "Changes in serum lipids, lipoproteins, and heparin releasable lipolytic enzymes during moderate physical training in man: A longitudinal study," *Metabolism*, 30 : 518—26, 1981.
- 28) Rotkis, T., Boyden, T.W., Pamerter, R.W., Stanforth, P. and Wilmore, J., "High density lipoprotein cholesterol and body composition of female runners," *Metabolism*, 30 : 994—95, 1981.
- 29) Schanabel, A. and Kinderman, W., "Effect of maximal oxygen uptake and different forms of physical training on serum lipoproteins," *J. Appl. Physiol.*, 48 : 263—77, 1982.
- 30) Shephard, R.J., Youldon, P.E., Cox, M. and West, C., "Effects of a 6-month industrial fitness programme on serum lipoproteins," *Atherosclerosis*, 35 : 277—86, 1980.
- 31) Strejā, D. and Mymin, D., "Moderate exercise and high-density lipoprotein-cholesterol," *J.A.M.A.*, 242 : 2190—92, 1979.
- 32) Sutherland, W.H., Woodhouse, S.P., Williamson, S. and Smith, B., "Decreased and continued physical activity and plasma lipoprotein lipids in previously trained man," *Atherosclerosis*, 39 : 307—11, 1981.
- 33) Wood, P.D., Haskell, W.L., Blair, S.N., Williams, P. T., Krauss, R.M., Lindgren, F.T., Albers, L.J., Ho, P. H. and Frarquhar, J.W., "Increased exercise level and plasma lipoprotein concentrations: A one-year, randomized, controlled study in sedentary, middle-aged man," *Metabolism*, 32 : 31—39, 1983.
- 34) Wood, P.D., Haskell, W., Klein, H., Lewis, S., Stern, M.P. and Frarquhar, J.W., "The distribution of plasma lipoproteins in middle-aged male runners," *Metabolism*, 25 : 1249—57, 1976.
- 35) Zlatkis, A., Zak, B., Boyle, A.J. and Mich, D., "A new method for direct determination of serum cholesterol," *J. Lab. Clin. Med.*, 41 : 486—92, 1953.