

*Association of CYP19 Gene Polymorphism
with Vertebral Fractures in Japanese
Postmenopausal Women*

Yasuko Koudu, Tsuneko Onouchi,
Takayuki Hosoi & Toshiyuki Horiuchi

Biochemical Genetics

ISSN 0006-2928

Biochem Genet

DOI 10.1007/s10528-011-9483-z

Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer Science+Business Media, LLC. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your work, please use the accepted author's version for posting to your own website or your institution's repository. You may further deposit the accepted author's version on a funder's repository at a funder's request, provided it is not made publicly available until 12 months after publication.

Association of *CYP19* Gene Polymorphism with Vertebral Fractures in Japanese Postmenopausal Women

Yasuko Koudu · Tsuneko Onouchi ·
Takayuki Hosoi · Toshiyuki Horiuchi

Received: 18 March 2011 / Accepted: 17 November 2011
© Springer Science+Business Media, LLC 2011

Abstract This study investigates aromatase gene polymorphism, which might influence bone strength in terms of mineral density and quality. We explored the relationship between *CYP19* polymorphisms and vertebral fractures in postmenopausal Japanese women. In addition, we compared estrogen and testosterone levels in Japanese postmenopausal women with and without fractures. Osteoporotic postmenopausal women showed higher incidences of vertebral fractures than osteopenic women or women with normal lumbar bone mineral density (L2-4 BMD). Estrogen concentrations in postmenopausal women were associated with BMD; however, no association was found between sex hormone levels and the presence of fractures. The C allele rs2470152 was significantly associated with increased risk of vertebral fractures ($P = 0.04$), whereas none of the *CYP19* polymorphisms showed differences in sex steroid levels between subjects with and without fractures. Allelic variants of aromatase genes appear to interact to influence the risk of vertebral fractures in postmenopausal Japanese women.

Keywords Aromatase gene polymorphisms · Vertebral fractures · Postmenopausal women

Y. Koudu · T. Horiuchi (✉)
Department of Endocrinology and Metabolism, Tokyo Metropolitan Toshima Hospital,
33-1 Sakaecho Itabashiku, Tokyo 173-0015, Japan
e-mail: t-horiuchi@toshima-hp.jp

T. Onouchi
Department of Collaborative Research, Teikyo University School of Medicine, Tokyo, Japan

T. Hosoi
Department of Advanced Medicine, National Center of Geriatrics and Gerontology, Obu, Japan

Introduction

Osteoporosis is caused by multiple factors, including environmental factors (such as calcium intake), exercise, and estrogen levels. The main source of estrogen in postmenopausal women is the aromatization of androgenic precursors, a reaction catalyzed by the cytochrome P450 (CYP) aromatase enzyme, encoded by *CYP19* located on chromosome 15q21.1. It has recently been reported that estrogen levels are genetically determined by aromatase activity (Olson et al. 2007; Haiman et al. 2007; Sowers et al. 2006). In addition, allelic variants of the aromatase gene have been associated with bone mineral density (BMD) and bone fractures (Hong et al. 2007; Masi et al. 2001; Somner et al. 2004). A/G polymorphisms in the 3' untranslated region (UTR) and the I.2 promoter (rs10046 and rs1062033; Rinancho et al. 2005) and an A/G polymorphism in the I.6 promoter rs4775936 (Enjuanes et al. 2006) of the aromatase gene have been studied in relation to osteoporosis and BMD, but the results remain controversial. In addition, an rs2470152 polymorphism in the aromatase gene has been shown to affect serum estrogen levels in Swedish men (Eriksson et al. 2009). Therefore, in order to analyze the association with the risk of vertebral fractures in postmenopausal women, we conducted a cross-sectional study of the interaction between *CYP19* gene polymorphisms and sex steroid hormone levels or risk of vertebral fractures in Japanese postmenopausal women. In this study, we focused on four markers (rs2470152, rs4775936, rs1062033, and rs10046) to clarify the association between polymorphisms in aromatase genes and vertebral fractures.

Materials and Methods

Study Subjects

Three hundred sets of genomic DNA and serum samples were provided from the collected samples of the Institute of Medical Sciences, Tokyo University, obtained for tailor-made medicine realization projects. These samples were collected from the various institutions that were members of these projects following the approval of the individual ethics committees. Ethical approval was obtained from the Ethics Committee of the Leading Project for Personalized Medicine in the Institute of Medical Science, University of Tokyo, and the Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital. Another 300 DNA samples were collected from women for the purpose of analyzing the relationship between polymorphisms and the etiology of disease in the Japanese population. The samples were provided by the Leading Project for Personalized Medicine of the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan.

The samples were divided into three categories according to the *T* score of the measurement of lumbar spine BMD (L2-4 BMD) by dual energy X-ray absorptiometry (DXA) as defined by the World Health Organization: *T* scores of -1.0 and above were classified as normal BMD, scores of -2.5 to -1.0 were considered osteopenia, and scores below -2.5 were considered osteoporotic.

For assessment of vertebral fractures, anteroposterior and lateral X-ray examinations of the thoracic and lumbar spine were performed. Morphometrically,

a vertebral fracture was defined in terms of the ratio of the anterior height of vertebral body to the posterior height (below 0.75) or the ratio of the center height to the anterior or posterior height (below 0.8). In all cases, the vertebral fractures were evaluated by two groups of radiologists and geriatricians in each institute.

Sex Steroid Assay

The serum levels of testosterone (*T*) and estradiol (*E*₂) were measured by mass spectrophotometry (LC-MS/MS). Bioavailable testosterone and estrogen, which includes the free form and the albumin-binding form, were measured by LC-MS/MS (Arai et al. 2010). Serum samples were stored at -70°C until analyzed. For statistical analysis, the values were transformed into logarithmic form, since the values are exponential and the distributions of *T* and *E*₂ levels were skewed using the raw data.

Genotype Analysis

We examined four polymorphisms of *CYP19*: rs1062033, a G/C SNP located at around exon 1.2 (at position chromosome 15, 49335230); rs10046, a T/C SNP located in the 3' UTR (at position chr.15, 49290276); rs4775936, a C/T SNP located in the vicinity of exon 1.6 (at position chr.15, 49323314); and rs2470152, a T/C SNP located in intron 1 (at position chr.15, 49382254). These SNPs were identified by searching the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database because they are analyzable by the readily available TaqMan assays used for disease association studies (Applied Biosystems). Polymorphisms in genomic DNA were measured by the TaqMan assay. Age, body mass index, and years since menopause were examined in three SNP genotypes among four *CYP19* markers.

Statistical Analyses

Chi-square analysis was used to compare the numbers of osteoporosis, osteopenia, and normal patients by *T* scores of L2-4 BMD with and without fractures. Similarly, each parameter was compared among the three genotypes in four *CYP19* markers using ANOVA. The correlation between estradiol levels and L2-4 BMD was shown using Pearson's coefficients. The associations between aromatase gene polymorphisms and vertebral fracture risk were compared by Chi-square analysis using SPSS software.

Results

Bone Density Data

There were significantly more women with fractures than without among patients with osteoporosis ($T < -2.5$; $P < 0.05$), and there was no significant increase in fractures among normal patients or those with osteopenia. There were no differences

in the log estradiol (Log E_2) or log testosterone (Log T) values between women with fractures and those without fractures (Table 1).

Relationship Between L2-4 BMD and Estrogen level

Log E_2 levels in postmenopausal women were significantly associated with L2-4 BMD ($r = 0.21$, $p = 0.03$; Fig. 1), whereas log T levels showed no association (data not shown).

Genotype Analysis

When we examined the correlation between the four polymorphisms (rs2470152, rs1062033, rs4775963, and rs10046) and vertebral fractures in postmenopausal women, we found a significant correlation for rs2470152 ($P = 0.04$) but not for the

Table 1 Bone mineral density of postmenopausal women with and without fractures

T score ^a & sex steroids	Women without fractures (137)	Women with fractures (138)	P
$T < -2.5$	18	37	0.015
$-2.5 \leq T < 1.0$	12	13	NS
$-1.0 \leq T$	4	5	NS
Log E_2 (pg/ml)	0.335 ± 0.383	0.327 ± 0.330	NS
Log T (ng/dl)	2.033 ± 0.367	2.067 ± 0.247	NS

^a Bone mineral density was measured in 89 of the 275 subjects

NS not significant

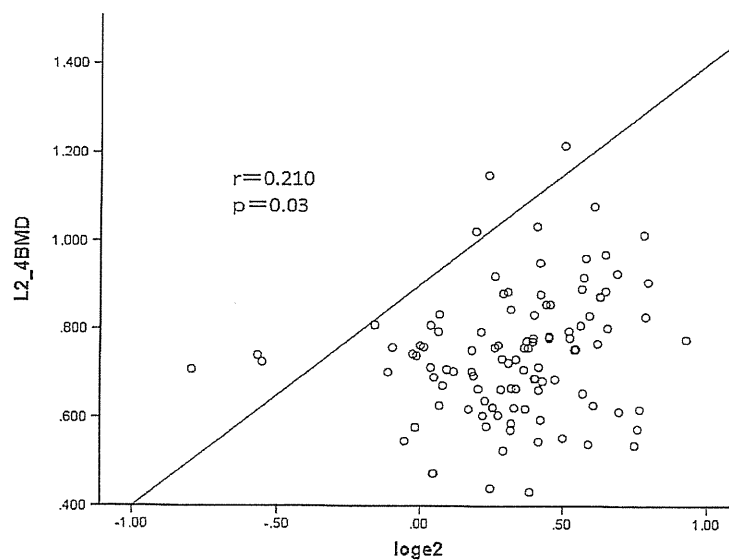


Fig. 1 Correlation between log E_2 and L2-4 BMD in postmenopausal women. Estrogen levels were significantly correlated with L2-4 BMD ($r = 0.21$, $p = 0.03$)

Table 2 Correlation of four *CYP19* SNPs with vertebral fractures

SNP	Genotype	Premenopause		<i>P</i>	Postmenopause		<i>P</i>
		Control (<i>n</i> = 19)	Case (<i>n</i> = 6)		Control (<i>n</i> = 136)	Case (<i>n</i> = 138)	
rs2470152	CC	9	1	0.408	44	47	0.040 ^a
	TC	8	4		56	71	
	TT	2	1		36	20	
rs4775936	CC	5	1	0.712	48	59	0.416
	CT	9	4		68	59	
	TT	5	1		20	20	
rs1062033	CC	4	1	0.693	47	56	0.507
	CG	9	4		64	62	
	GG	6	1		25	20	
rs10046	TT	7	1	0.550	31	26	0.324
	TC	8	4		67	62	
	CC	4	1		38	50	

^a Only rs2740152 polymorphisms of the aromatase gene showed a significant correlation with vertebral fractures (*P* = 0.04)

Table 3 Characteristics of postmenopausal Japanese women and three SNPs of rs2470152

Characteristic	Genotype			<i>P</i>
	CC	CT	TT	
Age (years)	72.8 ± 9.3	73.6 ± 8.3	74.3 ± 6.8	NS
Body mass index (kg/m ²)	22.4 ± 4.6	21.8 ± 4.5	21.1 ± 4.3	NS
Years since menopause	24.2 ± 9.5	24.3 ± 10.3	25.4 ± 11.6	NS
Log <i>E</i> ₂ (pg/ml)	0.302 ± 0.319	0.330 ± 0.280	0.307 ± 0.357	NS
Log <i>T</i> (ng/dl)	2.001 ± 0.347	2.067 ± 0.269	2.050 ± 0.313	NS
L2-4BMD (110)	0.753 ± 0.135	0.739 ± 0.157	0.729 ± 0.118	NS
LT score (89)	-2.6 ± 1.2	-2.6 ± 1.3	-3.3 ± 0.8	NS

NS not significant

other three polymorphisms (Table 2). There were no differences in age, body mass index, or years since menopause among the three SNP types in the four *CYP19* markers (Table 3).

Discussion

We examined the relationship between aromatase-related genes and vertebral fractures by analyzing *CYP19* gene polymorphisms in Japanese women. Among four markers, no differences were found in serum *T* and *E*₂ concentrations in the Japanese postmenopausal women. It is possible that local *E*₂ concentrations are

more important in local tissues rather than serum levels. Bone cells are able to express aromatase and other enzymes required for estrogen synthesis locally (Janssen et al. 1999; Shouzu and Simpson 1998; Watanabe et al. 2004), and aromatase activity in cultured osteoblasts is quantitatively similar to that in adipose stromal cells (Shouzu and Simpson 1998). Thus, estrogen synthesized in bone cells might be important in postmenopausal bone metabolism.

Eriksson et al. (2009) found that genetic variants of rs2470152 in aromatase are associated with E_2 levels, showing that G alleles were correlated with higher serum E_2 levels and BMD in Swedish men than other alleles. Our results, however, showed that the C allele of rs2470152 is associated with vertebral fractures, a finding that suggests that ethnicity, race, and sex differences might influence the results of SNP studies in osteoporosis. The SNP rs2470152 is located in the region of the I.4 promoter (Bulun and Simpson 1994), and it is interesting that the G→A transition of rs2470152 is likely to alter a potential binding site for the binding protein of the transcription factor cAMP response element. The major reason for the discrepancy between our results and those of the Swedish study may be gender differences. The Swedish study focused only on male cohorts. We could not detect any disequilibrium between rs2470152 and the other three markers viewed in HapMap.

CYP19 SNPs (rs10046) were found to be associated with differences in E_2 levels in the European Prospective Investigation of Cancer-Norfolk (EPIC-Norfolk) cohort study (Dunning et al. 2004). SNP rs10046 explains 1.6% of the variance in the $E_2:T$ ratio; however, this SNP is not associated with breast cancer risk (Dunning et al. 2004). The rs10046, a T/C SNP located in the 3' UTR, 19 nucleotides downstream from the translation terminus, has been reported to be associated with increased levels of aromatase mRNA expression in tumors (Gruber et al. 2002). In our study, rs10046 was correlated with neither serum E_2 levels nor vertebral fractures. The *CYP19* genotypes demonstrated higher mRNA levels at the rs1062033 locus in postmenopausal osteoporosis. *CYP19* is regulated in a different manner and in different tissues by a hormonally controlled promoter or adipose stromal cell promoter (Mahendroo et al. 1993; Harada et al. 1993). Genetic polymorphisms of *CYP19* might be involved in other processes, such as mRNA stabilization, transcription enhancement, or the post-translational regulation of expression. Neither SNP 1062033 nor rs4775936 was significantly correlated with either serum E_2 levels or vertebral fractures.

We could not detect lower levels of bioavailable serum E_2 by LC-MS/MS in rs2470152; however, another group has shown differences in E_2 levels as measured by RIA according to *CYP19* genotype in a study that included both premenopausal and postmenopausal women (Somner et al. 2004). The discrepancy between the two studies seems to be due to the assay systems used. Bioavailable estrogen levels in postmenopausal women are more relevant than total estrogen levels, which include E_2 bound by sex hormone-binding globulin (SHBG), for bone metabolism. Despite the absence of differences in estrogen levels among the various genotypes, we found that vertebral fracture rates are associated with the *CYP19* genotype in postmenopausal Japanese women in this study. There is much evidence for the role of aromatase activity in bone homeostasis (Miyaura et al. 2001; Oz et al. 2000), and, as previously described, the pharmacological inhibition of aromatase is also associated

with a decrease in BMD and increased risk of fractures (Eastell and Hannon 2005). This indicates that aromatase in local tissues plays roles, both physiologically and pathologically, in bone metabolism.

In conclusion, we provide statistical evidence that the C allele in rs2470152 of the *CYP19* gene is associated with an increased risk of vertebral fractures in postmenopausal Japanese women. Further studies are necessary to detect functional SNPs that induce differences in bone metabolism. Furthermore, we need more participants to detect differences in E_2 levels based on the *CYP19* SNPs of aromatase genes.

Acknowledgment This work was supported by the Japanese Osteoporotic Foundation with funds donated by Eli Lilly, Japan, in 2008.

References

- Arai S, Miyashiro Y, Shibata Y, Kashiwagi B, Tomaru Y, Kobayashi M, Watanabe Y, Honma S, Suzuki K (2010) New quantification method for estradiol in the prostatic tissues of benign prostatic hyperplasia using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Steroids* 75:13–19
- Bulun SE, Simpson ER (1994) Competitive reverse transcription polymerase chain reaction analysis indicates that levels of aromatase cytochrome P450 transcripts in adipose tissue of buttocks, thigh and abdomen of women increase with advantage age. *J Clin Endocrinol Metab* 78:428–432
- Dunning AM, Dowsett M, Healey CS, Tee L, Luben NL, Folkard E, Novik KL, Kelemen L, Ogata S, Pharoah PDP, Easton DF, Day NE, Ponder BAJ (2004) Polymorphism associated with circulating sex hormone levels in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 96:936–945
- Eastell R, Hannon R (2005) Long-term effects of aromatase inhibitors on bone. *J Steroid Biochem Mol Biol* 95:151–154
- Enjuanes A, Garcia-Giral N, Supervia A, Nogues X, Ruiz-Gaspars S, Bustamante M, Mellibovsky L, Grinverg D, Balcells S, Diez-Perez A (2006) A new SNP in a negative regulatory region of the *CYP19A1* gene is associated with lumbar spine BMD in postmenopausal women. *Bone* 38:738–743
- Eriksson AL, Lorentzon M, Vandenput L, Labrie F, Linderson M, Syvanen A, Orwoll ES, Cummings SR, Zmuda JM, Ljunggren O, Karlsson MK, Mellstrom D, Ohlsson C (2009) Genetic variations in sex steroid-related genes as predictors of serum estrogen levels in men. *J Clin Endocrinol Metab* 94:1033–1041
- Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC (2002) Mechanisms of disease: production and actions of estrogens. *N Engl J Med* 346:340–352
- Haïman CH, Dossus L, Setiawan VW, Stram DO, Dunning AM, Thomas G, Thun MJ, Albanes D, Altshuler D, Ardanaz E, Boeing H, Buring J, Burt N, Calle EE, Chanock S, Clavel-Chapelon F, Colditz GA, Cox DG, Freigelson HS, Hankinson SE, Hayes RB, Henderson BE, Hirshhorn JN, Hoover R, Hunter DJ, Kaaks R, Kolonel LN, Marchand LL, Lerner P, Lund E, Panico S, Peeters PH, Pike MC, Riboli E, Tjonnelland A, Travis R, Trichopoulos D, Wacholder S, Ziegler (2007) Genetic variation at the *CYP19A1* locus predicts circulating estrogen levels but not breast cancer risk in postmenopausal women. 67:1893–1897
- Harada N, Utsumi T, Takagi Y (1993) Tissue-specific expression of the human aromatase cytochrome P-450 gene by alternative use of multiple exons 1 and promoters, and switching of tissue-specific exons 1 in carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:11312–11316
- Hong X, Hsu Y, Terwedow H, Arguelles LM, Tang G, Liu X, Zhang S, Xu X (2007) *CYP19A1* polymorphisms are associated with bone mineral density in Chinese men. *Hum Genet* 121:491–500
- Janssen JMMF, Bland R, Hewison M, Coughtrie MWH, Sharp S, Arts J, Pols HAP, van Leeuwen JPTM (1999) Estradiol formation by human osteoblasts via multiple pathways: Relation with osteoblast function. *J Cell Biochem* 75:528–537
- Mahendroo MS, Mendelson CR, Simpson ER (1993) Tissue-specific and hormonally controlled alternative promoters regulate aromatase cytochrome P450 gene expression in human adipose tissue. *J Biol Chem* 268:19463–19470

- Masi L, Becherini L, Gennari L, Amedei A, Colli E, Falchetti A, Farci M, Silvestri S, Gonnelli S, Brandi ML (2001) Polymorphism of the aromatase gene in postmenopausal Italian women: distribution and correlation with bone mass and fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab* 86:2263–2269
- Miyaura C, Toda K, Inada M, Ohshiba T, Matsumoto C, Okada T, Ito M, Shizuta Y, Ito A (2001) Sex and age-related response to aromatase deficiency in bone. *Biochem Biophys Res Commun* 280:1062–1068
- Olson SH, Bandera EV, Orlov I (2007) Variants in estrogen biosynthesis genes, sex steroid hormone levels, and endometrial cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 165:235–245
- Oz OK, Zerwekh JE, Fisher C, Graves K, Nanu L, Millsaps R, Simpson ER (2000) Bone has a sexually dimorphic response to aromatase deficiency. *J Bone Miner Res* 15:507–514
- Rinanco JA, Zarrabeitia MT, Valero C, Sanudo C, Hernandez JL, Amado JA, Zarabeitia A, Gonzalez-Macias J (2005) Aromatase gene and osteoporosis relationship of ten polymorphic loci with bone mineral density. *Bone* 36:917–925
- Shouzu M, Simpson ER (1998) Aromatase expression of human osteoblast-like cells. *Mol Cell Endocrinol* 139:117–129
- Somner J, McLellan S, Cheung J, Mak YT, Frost ML, Knapp KM, Wierzbicki AS, Wheeler M, Fogelman I, Ralston SH, Hampson GN (2004) Polymorphisms in the P450c17 (17-hydroxylase/17, 20-Lyase) and P450 c19 (aromatase) genes: association with serum sex steroid concentrations and bone mineral density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 89:344–351
- Sowers MR, Wilson AL, Kardis SR, Chu J, Ferrell R (2006) Aromatase gene (*CYP19*) polymorphisms and endogenous androgen concentrations in a multiracial/multiethnic, multisite study of women at midlife. *Am J Med* 119:S23–S30
- Watanabe M, Simpson ER, Pathirage N, Nakajin S, Clyne CD (2004) Aromatase expression in the human fetal osteoblastic cell line SV-HFO. *J Mol Endocrinol* 32:533–545

牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームに
関する横断的研究

上 西 一 弘, 田 中 司 朗, 石 田 裕 美
細 井 孝 之, 大 橋 靖 雄, 門 脇 孝
折 茂 肇

日本栄養・食糧学会誌
第63巻 第4号 (2010)
別 刷

牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームに関する横断的研究

上 西 一 弘^{*1}, 田 中 司 朗², 石 田 裕 美³
 細 井 孝 之⁴, 大 橋 靖 雄⁵, 門 脇 孝⁶
 折 茂 肇⁷

(2009年10月11日受付; 2010年5月28日受理)

要旨: 日本人成人の牛乳・乳製品摂取状況とメタボリックシンドロームの関係について検討を行うため横断的な調査を行った。対象者は乳業メーカー4企業グループに勤務する従業員とその家族(20-69歳)とした。自記式のアンケートを郵送し記入を依頼した。解析対象者数は非喫煙男性3,252人, 非喫煙女性3,296人, 喫煙男性2,111名である。メタボリックシンドロームの判定では, 非喫煙男性で積極的支援と判定された者が18%であった。非喫煙女性では腹囲の基準を80cmとした場合には, 積極的支援と判定された者が10%であった。牛乳・乳製品摂取量により対象者を四分位にわけ, 最も摂取量が少ないグループを基準としたときの, 他のグループのオッズ比をみると, 非喫煙女性では牛乳・乳製品摂取量が増えるにしたがい, 有意に低下していた。非喫煙男性でも同様の傾向がみられた。本研究の結果, 非喫煙者ではメタボリックシンドロームの予防に牛乳・乳製品の摂取が有効である可能性が示された。

キーワード: 牛乳・乳製品, メタボリックシンドローム, 日本人, 横断研究

メタボリックシンドロームは内臓脂肪の蓄積に, 糖代謝異常, 脂質代謝異常, 高血圧などの状態がプラスされることにより, 動脈硬化性疾患の発症リスクが高まる状態である¹⁾。メタボリックシンドロームは特に先進諸国では摂取エネルギー量の増加, 脂肪エネルギー比率の増加, 身体活動レベルの低下による消費エネルギー量の低下などにより大きな問題となっている。わが国でも2008年4月から特定健康診査, 特定保健指導制度が始まり, 現在, その予防と改善に向けてさまざまな試みがスタートしているところである²⁾。

牛乳・乳製品はカルシウムの供給源として非常に優れた食品であり, 日本人の食生活には欠かすことのできない食品のひとつである。牛乳・乳製品摂取はメタボリックシンドロームに対してどのような影響を与えているのであろうか。近年, 海外から牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームについて検討した研究が報告されてきている。2005年に, Liu *et al.* は Women's Health

Studyに参加した45歳以上のアメリカ女性10,066名を対象に乳製品, カルシウム, ビタミンD摂取量とメタボリックシンドロームの関係を発表している³⁾。乳製品摂取状況を1日あたりのサービングサイズで示し, メタボリックシンドロームの関係について検討した結果を見ると, 乳製品の摂取量が増えるにしたがって, メタボリックシンドローム発症リスクのオッズ比は減少している。Azadbakht *et al.* は, テヘラン在住の成人827名(男性357名, 女性470名, 年齢18-74歳)を対象とした, 乳製品摂取状況とメタボリックシンドロームの関係について報告している⁴⁾。それによると, メタボリックシンドロームに該当する者の割合は, 乳製品の摂取量が多くなるにしたがって, 有意に減少している。

これらの報告以降も同様の多くの研究結果が報告されてきている⁵⁻⁸⁾。しかし, これら海外の報告は, 日本人とは食生活, 特に牛乳・乳製品摂取量が異なることもあり, そのまま日本人に当てはめることには問題も多い。

* 連絡者・別刷請求先 (E-mail: uenishi@eiyo.ac.jp)

1 女子栄養大学栄養生理学研究室 (350-0288 埼玉県坂戸市千代田3-9-21)

2 京都大学医学部附属病院探索医療センター検証部 (606-8507 京都市左京区聖護院川原町54)

3 女子栄養大学給食・栄養管理研究室 (350-0288 埼玉県坂戸市千代田3-9-21)

4 国立長寿医療研究センター臨床研究・治験推進部 (474-8511 愛知県大府市森岡町源吾35)

5 東京大学大学院医学系研究科公共健康医学専攻生物統計学 (113-0033 東京都文京区本郷7-3-1)

6 東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科 (113-8655 東京都文京区本郷7-3-1)

7 健康科学大学 (401-0380 山梨県南都留郡富士河口湖町小立7187)

そこで本研究では、日本人成人の牛乳・乳製品摂取状況とメタボリックシンドロームの関係について検討を行うため横断的な調査を行った。

調査方法

1. 研究デザイン

本研究は、日本の乳業メーカー4グループ（以下乳業4社）を対象とした職業コホートベースの横断調査である。調査は、2008年10月から2009年3月に、適格基準を満たす乳業4社全従業員への自記式アンケートの郵送により行われた。適格基準は20歳以上70歳未満であることである。女性対象者の不足を補うため、従業員本人以外に家族への調査を追加した。すなわち、従業員に本人と家族1名分、計2名分のアンケート用紙を配布し、同封の返送用封筒を用いてデータセンターへの返送を依頼した。個人情報への配慮および選択バイアスを減らすために、アンケートは個人名はもちろん、企業名を含めてすべて無記名で調査を行った。バイアス排除の工夫として、アンケートテーマについて「食生活、生活習慣と健康に関するアンケート調査」とし、牛乳・乳製品やメタボリックシンドロームに偏向した内容にならないように配慮した。今回のアンケートは64項目からなり、その内訳は、食生活に関する質問が45項目、うち牛乳・乳製品に関する質問は8項目、その他の食習慣に関する質問が37項目、ふだんの運動と日常生活に関する質問が18項目、健診結果の自己申告1項目である。アンケートの返送をもって、研究への同意が得られたものとした。

本研究はヘルシンキ宣言の精神に則るとともに、「疫学研究に関する倫理指針」に従い、香川栄養学園倫理委員会の承認を得て実施した。本研究は、乳業4社の協力の下で、研究者の責任により行われた。調査、データマネジメントおよび統計解析は、乳業4社とは独立したデータセンターおよび統計家が行った。

2. アンケート

本研究で用いたアンケートは、2008年度の健康診断の結果、半定量食物摂取頻度調査 (FFQPOP)⁹⁾、喫煙、運動、睡眠などの生活習慣など、64項目からなる。健康診断の結果に関しては、メタボリックシンドローム関連項目（身長、体重、腹囲、血圧、空腹時血糖、HbA1c、中性脂肪、HDLコレステロール）について、転記するように依頼した。40歳未満で健康診断時に腹囲の測定が実施されていない場合には、メジャーを用いての測定を依頼した。その際、測定方法を記載した依頼状とメジャーはアンケートに同封しておいた。腹囲以外のメタボリックシンドローム関連項目の検査が実施されていない場合には、その欄は空欄にするように依頼した。BMI (body mass index) は身長と体重から算出した。

記入されたメタボリックシンドローム関連項目の数値に関しては、一人の医師が医学的見地に基づいてレビューを行い、明らかに誤りと思われる数値は欠測値と

した。

3. 牛乳・乳製品摂取量の把握

カルシウム摂取量は、アンケートに食物摂取頻度調査 (FFQPOP)⁹⁾を取り入れることによって推定した。牛乳・乳製品からのカルシウム摂取量 (mg) を牛乳・乳製品の摂取量として解析に用いた。本解析では、牛乳・乳製品から供給されるカルシウム量を量的な指標として用いているが、指標の選択に依存しない一般的な解析結果を得るために、対象者を牛乳・乳製品摂取量で四分位に分類して比較を行った。牛乳・乳製品の摂取量については、牛乳、ヨーグルト、チーズなど種類別に検討することもあるが、わが国ではチーズやヨーグルトの摂取は少ないため、その効果を検討することは難しい。サービングサイズで検討することも行われているが、1サービングのサイズの統一ができておらず評価が難しい。食物摂取頻度調査からはエネルギー摂取量も推定した。

4. 運動量の把握

運動量に関しては、運動の種類ごとに、週あたりの頻度と1回あたりの運動時間を質問した。解析には、週あたりの「METs×時間」を用いた。METs値は、「身体活動のメッツ (METs) 表」¹⁰⁾の値を用いた。

5. メタボリックシンドロームの判定基準

本研究の主たるエンドポイントはメタボリックシンドロームの有病である。メタボリックシンドロームの基準は、厚生労働省の特定健康診査の階層化基準により積極的支援に該当することとした²⁾。ただし、女性の腹囲について、海外では2005年のNCEP (National Cholesterol Education Program: 米国コレステロール教育プログラム)¹¹⁾、2005年のIDF (国際糖尿病連合)¹²⁾ではともに80cmが採用されていることを考慮し、80cm以上を用いた解析を追加した。また、喫煙に関しては、それ自体がメタボリックシンドロームの発症に大きく寄与する可能性があり、交絡因子となる可能性があることから、今回は喫煙者と非喫煙者を分けて解析を行った。女性の場合には、喫煙者が少ないため、喫煙者の解析は男性のみで行った。なお、本調査では、過去の喫煙歴について調査は行っていない。その他、分類の基準は以下のとおりである。まずは、腹囲、男性85cm以上、女性90cm (80cm) 以上、またはBMI、男女とも25 kg/m²以上を必須項目とした。次いで、①糖代謝異常: 空腹時血糖値: 100 mg/dL以上、またはHbA1c: 5.2%以上。②高血圧: 収縮期血圧: 130 mmHg以上、あるいは拡張期血圧: 85 mmHg以上。③脂質異常: 中性脂肪: 150 mg/dL以上、あるいはHDLコレステロール: 40 mg/dL未満。また、糖代謝異常、高血圧、脂質異常の既往歴あるいはそれらに関する薬剤を服用している場合には、それぞれの項目のリスクがあるとした。65-69歳の対象者については、今回はそれ以下の年代と同様の基準でメタボリックシンドローム該当者を分類した。動脈硬化性の疾患 (心筋梗塞、狭心症、脳卒中、閉塞性動

脈硬化症など)の病歴のある者はメタボリックシンドローム該当者に分類した。今回は積極的支援に分類された者をメタボリックシンドロームの該当者として解析した。

6. 統計解析

本研究の主たる仮説は、牛乳・乳製品摂取量とメタボリックシンドローム有病率との関連性である。この仮説について、牛乳・乳製品摂取量を四分位に分類し、Mantel-Haenszelの両側傾向性検定とロジスティック回帰を用いて解析を行った。交絡の調整のため、すべての解析は男女別に行った。また、ロジスティック回帰においては、年齢、エネルギー摂取量、アルコール摂取量、運動量で調整を行い、牛乳・乳製品摂取量の第一四分位を基準カテゴリーとしたオッズ比、95%信頼区間および個々のオッズ比に関するWald検定の結果を示した。調査対象者数は、第一四分位と第四四分位の間のオッズ比が0.5という仮定の下で、有意水準5%の傾向性検定で99%の検出力を保證できることを根拠に、20代から60代まで男女別に各層1,000人を設定した。検出力を高く(対象者数を多く)設定したのは、層別解析を行った場合の検出力低下の可能性を考慮してのものである。

副次的解析として、牛乳・乳製品摂取量と個々の項目(腹囲、血圧、BMI、空腹時血糖、HbA1c、中性脂肪、HDLコレステロール)との関連性について、一元配置分散分析とMantel-Haenszelの両側傾向性検定により検討した。一元配置分散分析では、最小二乗平均とその標準誤差、F検定の結果を示した。傾向性検定では、特定健康診査の階層化基準をカットオフ値として用いた。

すべての仮説検定は、有意水準5%であり多重性の調整を行っていない。統計解析にはSAS 9.1(SAS Institute Japan)を使用した。

調査結果

1. アンケート回収率

今回対象とした乳業4社の調査時の健診受診済み従業員数は21,355名であった。従業員のみでの回収数は7,650名分であり、これは35.8%の回収率となる。回収状況と対象者の内訳を図1に示した。

2. 解析対象者の身体状況

解析対象者の性別、年代別の身体状況を表1に示す。対象者の平均年齢は非喫煙男性44.4±12.6歳、女性は43.9±12.1歳、喫煙男性は43.9±11.7歳であり、同水準であった。また、牛乳・乳製品摂取量と他の変数の相関については、エネルギー摂取量、運動量とは有意な相関がみられたが(Spearman相関係数は0.16と0.13、 $p < 0.01$)、年齢、アルコール摂取量との関連性はみられなかった(Spearman相関係数はともに0.02、 p 値はそれぞれ $p = 0.09$ と $p = 0.08$)。

喫煙男性と非喫煙男性の間では、中性脂肪、エネルギー摂取量、アルコール摂取量いずれにおいても非喫煙男性が低く、HDLコレステロール、カルシウム摂取量においては高く、生活習慣病予防の観点からは非喫煙者が良好な傾向がみられた。

3. 対象者の牛乳・乳製品摂取状況

対象者の1日あたりの牛乳・乳製品摂取量をカルシウム換算した値を表2に示す。ほとんど飲まないと回答し

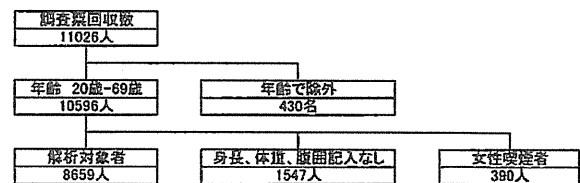


図1 回収状況と対象者の内訳

表1 解析対象者の身体状況

	非喫煙男性(N=3252)	非喫煙女性(N=3296)	喫煙男性(N=2111)	p値*
年齢 (歳)	44.4±12.6	43.9±12.1	43.9±11.7	0.08
身長 (cm)	170.1±6.1	157.1±5.4	170.4±5.9	0.20
体重 (kg)	68.2±10.1	52.8±8.2	68.1±10.8	0.59
BMI (kg/m ²)	23.6±3.2	21.4±3.2	23.4±3.3	0.16
腹囲 (cm)	83.9±8.9	75.1±9.8	84.0±8.8	0.79
収縮期血圧 (mmHg)	123.9±14.0	115.6±15.6	123.0±14.0	0.03
拡張期血圧 (mmHg)	76.9±10.9	70.6±10.9	75.9±10.7	<0.01
空腹時血糖 (mg/dL)	98.0±16.4	91.3±11.5	97.2±17.4	0.29
HbA1C (%)	5.4±1.2	5.4±1.4	5.4±1.1	0.66
中性脂肪 (mg/dL)	98.0 [68.0-140.0]	69.0 [50.0-96.0]	113.0 [82.0-166.0]	<0.01
HDLコレステロール (mg/dL)	60.4±14.7	71.2±16.3	55.8±14.1	<0.01
カルシウム摂取量 (mg/day)	482.4±251.2	488.7±210.3	407.4±209.0	<0.01
エネルギー摂取量 (kcal/day)	2306.7±609.5	1948.9±426.1	2349.5±649.5	0.02
アルコール摂取量 (kcal/day)	342.9±448.9	125.8±256.5	393.0±477.7	<0.01
運動量 (METs・時/週)	0.0 [0.0-14.0]	0.0 [0.0-6.5]	0.0 [0.0-6.0]	0.73

平均値±標準偏差、中性脂肪と運動量は中央値[25-75パーセンタイル]。*分散分析による非喫煙男性と喫煙男性の比較、中性脂肪と運動量は対数変換し、年齢以外はすべて年齢で調整した。

表2 牛乳・乳製品摂取状況

牛乳・乳製品摂取状況 (Ca 換算値)	非喫煙男性 (N=3252)		非喫煙女性 (N=3296)		喫煙男性 (N=2111)		p 値*
	人数(人)	割合 (%)	人数(人)	割合 (%)	人数(人)	割合 (%)	
0 mg	162	5	147	5	204	10	<0.01
0-100 mg 未満	613	19	648	20	540	26	
100-200 mg 未満	702	22	793	25	497	24	
200-400 mg 未満	1123	35	1173	36	610	29	
400 mg 以上	602	19	462	14	232	11	
欠測	50	—	73	—	28	—	

* Mantel-Haenszel の傾向性検定による非喫煙男性と喫煙男性の比較。年齢で調整。

表3 メタボリックシンドロームの判定結果

	非喫煙男性 (N=3252)		非喫煙女性 (N=3296)		喫煙男性 (N=2111)	
	人数(人)	割合 (%)	人数(人)	割合 (%)	人数(人)	割合 (%)
総合判定の結果 (女性の腹囲基準 90 cm)						
正常	2100	65	2958	90	1400	66
動機付け支援	559	17	192	6	18	1
積極的支援	593	18	146	4	693	33
総合判定の結果 (女性の腹囲基準 80 cm)						
正常	2100	65	2658	81	1400	66
動機付け支援	559	17	322	10	18	1
積極的支援	593	18	316	10	693	33
個別項目の判定結果						
腹囲基準値超 (女性の基準 90 cm)	1436	44	242	7	926	44
腹囲基準値超 (女性の基準 80 cm)	1436	44	966	29	926	44
BMI 25 kg/m ² 以上	929	29	396	12	582	26
血糖値	944	29	733	22	590	28
血圧	1291	40	721	22	774	37
血清脂質	743	23	422	13	608	29
現在喫煙 あり	0	0	0	0	2111	100

判定基準

血糖値 空腹時血糖：100 mg/dL 以上。

血圧 収縮期血圧：130 mmHg 以上、あるいは拡張期血圧：85 mmHg 以上。

血清脂質 中性脂肪：150 mg/dL 以上、あるいは HDL-コレステロール：40 mg/dL 未満。

た者は、非喫煙男性 5%、女性 5%であり、男女ともに 200-400 mg の摂取範囲の者が約 3 分の 1 と多かった。喫煙男性ではほとんど飲まないと回答したものが 10% と多くなっていた。喫煙男性と非喫煙男性間の摂取量の差は統計的に有意であった (Mantel 検定, $p < 0.01$)。

4. メタボリックシンドロームの判定結果

メタボリックシンドロームの判定結果を表 3 に示す。非喫煙男性では正常と判定された者が 65%、動機付け支援と判定された者が 17%、積極的支援と判定された者が 18%であった。女性では腹囲の基準を 90 cm とした場合には、動機付け支援と判定された者が 6%、積極的支援と判定された者が 4%しか存在しない。腹囲の基準を 80 cm とした場合には、動機付け支援と判定された者、積極的支援と判定された者がそれぞれ 10%であった。今回は女性の場合には腹囲の基準を 80 cm とし、以下の検討を行った。

喫煙男性では積極的支援と判定された者が 33% と多くなっていた。

5. 牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームの関係

牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームの関係について検討した結果を表 4 および表 5 に示した。積極的支援と判定された者をメタボリックシンドローム該当者とした。メタボリックシンドロームの発症に関係があると考えられる、年齢とエネルギー摂取量、アルコール摂取量、運動量で調整を行った。牛乳・乳製品摂取量により対象者を四分位に分け、各グループのオッズ比を比較したとき、摂取量が最小のグループを基準とした場合の他のグループのオッズ比をみると、女性では牛乳・乳製品摂取量が増えるにしたがい、有意に低下していた。非喫煙男性でも同様の傾向がみられた。傾向性検定の結果も女性では有意に低下していた。喫煙男性ではこのような関係はみられなかった (表 6)。

6. 牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドローム判定基準項目との関係

メタボリックシンドローム判定基準各項目との関係を表 7 に示す。一元配置分散分析で 4 グループ間に有意差

表4 牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームの関係 【非喫煙男性】

牛乳・乳製品摂取量	オッズ比	95%信頼区間		p値	傾向性検定p値	傾向性検定(METS調整)p値
Q1 0-100 mg 未満	1.00	—	—	—	0.19	0.13
Q2 100-202 mg 未満	0.87	0.66	1.14	0.31		
Q3 202-334 mg 未満	0.84	0.64	1.11	0.22		
Q4 334 mg 以上	0.80	0.60	1.06	0.12		
年齢 (+10歳)	2.17	1.97	2.39	<0.01		
エネルギー摂取量	1.01	0.98	1.03	0.67		
アルコール摂取量	1.05	1.01	1.08	<0.01		
運動量 (+10METs・時/週)	1.01	0.98	1.04	0.68		

表5 牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームの関係 【非喫煙女性】

牛乳・乳製品摂取量	オッズ比	95%信頼区間		p値	傾向性検定p値	傾向性検定(METS調整)p値
Q1 0-100 mg 未満	1.00	—	—	—	0.01	0.02
Q2 100-200 mg 未満	0.57	0.39	0.83	<0.01		
Q3 200-303 mg 未満	0.63	0.44	0.91	0.01		
Q4 303 mg 以上	0.60	0.41	0.87	0.01		
年齢 (+10歳)	3.29	2.78	3.88	<0.01		
エネルギー摂取量	1.01	0.97	1.05	0.54		
アルコール摂取量	0.95	0.88	1.03	0.20		
運動量 (+10METs・時/週)	0.96	0.91	1.02	0.19		

表6 牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームの関係 【喫煙男性】

牛乳・乳製品摂取量	オッズ比	95%信頼区間		p値	傾向性検定p値	傾向性検定(METS調整)p値
Q1 0-51 mg 未満	1.00	—	—	—	0.37	0.40
Q2 51-151 mg 未満	0.96	0.72	1.28	0.77		
Q3 151-260 mg 未満	0.94	0.71	1.26	0.68		
Q4 260 mg 以上	1.13	0.85	1.51	0.39		
年齢 (+10歳)	1.59	1.46	1.74	<0.01		
エネルギー摂取量	1.01	0.99	1.04	0.17		
アルコール摂取量	1.01	0.98	1.03	0.67		
運動量 (+10METs・時/週)	1.00	1.00	1.00	0.75		

がみられたのは、男性では血圧、女性では腹囲、BMI、収縮期血圧、中性脂肪、HDLコレステロールであった。いずれも牛乳・乳製品摂取が多いほど生活習慣病予防の観点からは良好な傾向がみられた。

喫煙男性では腹囲、BMIが牛乳・乳製品摂取が多いほど高値となる傾向、および血圧が低値となる傾向がみられた。

考 察

喫煙者が多い男性においては、表1に示したように、非喫煙者は喫煙者に比べ生活習慣病予防の観点からは明らかに良好な傾向がみられた。また男性においては喫煙の有無と牛乳・乳製品摂取の間には統計的に有意な関連(表2)があり、牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームの間の解析においては喫煙が明らかな交絡要因となっている。いずれもが生活習慣であり、表1にみられる差が喫煙に由来するのか牛乳・乳製品を摂取する食事習慣に由来するのかを分離することは本研究からはほぼ不可能であるが、牛乳・乳製品を多く摂取する食事習慣が生活習慣病予防の観点からは良好なプロフィールと関

連することは事実である。ここでは上記の交絡を排除するために、喫煙者を非喫煙者と分けて解析を行った。以下、非喫煙者について考察する。

表4および表5に示したように、牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームの関係については、女性では摂取量が多いグループほど該当者が有意に少なく、男性でも同様の傾向がみられた。女性ではカルシウム換算した牛乳・乳製品摂取量が0-100 mg 未満のグループに対して、100-200 mg 未満のグループでは43%、200-303 mg 未満のグループでは37%、303 mg 以上のグループでは40%のリスクの低下が予想される。

女性の腹囲の基準値としては、海外では2005年のNCEP (National Cholesterol Education Program: 米国コレステロール教育プログラム)¹¹⁾、2005年のIDF (国際糖尿病連合)¹²⁾ではともに80 cmが採用されている。今回の対象者では、腹囲の基準を90 cmとして判定した場合の、メタボリックシンドロームの該当者は4%しかおらず、十分な解析ができない。そこで、今回は80 cmを基準とした。

牛乳・乳製品と血圧の関係については、牛乳に含まれ

表7 牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドローム判定基準各項目との関係

【非喫煙男性】	牛乳・乳製品摂取 量 0 mg 以上, 100 mg より下	牛乳・乳製品摂取 量 100 mg 以上, 202 mg より下	牛乳・乳製品摂取 量 202 mg 以上, 334 mg より下	牛乳・乳製品摂取量 334 mg 以上	p 値*1	p 値*2
	腹囲 (cm)	84.2±0.3 (44%)	83.9±0.3 (44%)	84.0±0.3 (46%)		
BMI (kg/m ²)	23.5±0.1 (28%) — — (4%)	23.4±0.1 (28%) — — (3%)	23.6±0.1 (32%) — — (3%)	23.6±0.1 (26%) — — (2%)	0.70	0.73 — 0.05
収縮期血圧 (mmHg)	124.8±0.5 (36%)	124.4±0.5 (33%)	123.9±0.5 (34%)	122.9±0.5 (29%)	0.04	0.01
拡張期血圧 (mmHg)	77.7±0.4 (26%)	77.2±0.4 (22%)	76.7±0.4 (23%)	76.2±0.4 (20%)	0.03	0.01
空腹時血糖 (mg/dL)	96.6±0.8 (34%)	96.0±0.7 (33%)	96.6±0.7 (33%)	96.4±0.7 (35%)	0.92	0.60
HbA1C (%)	5.3±0.1 (45%)	5.2±0.1 (39%)	5.2±0.1 (46%)	5.3±0.1 (46%)	0.10	0.58
中性脂肪 (mg/dL)	121.2±3.3 (29%)	116.1±3.1 (26%)	112.8±3.1 (26%)	116.5±3.2 (25%)	0.32	0.05
HDLコレステロール (mg/dL)	59.4±0.7 (13%)	59.8±0.6 (13%)	60.4±0.6 (12%)	59.9±0.6 (12%)	0.72	0.70
【非喫煙女性】	牛乳・乳製品摂取 量 0 mg 以上, 100 mg より下	牛乳・乳製品摂取 量 100 mg 以上, 200 mg より下	牛乳・乳製品摂取 量 200 mg 以上, 303 mg より下	牛乳・乳製品摂取 量 303 mg 以上	p 値*1	p 値*2
	腹囲 (cm)	76.6±0.3 (34%)	74.5±0.3 (25%)	74.9±0.3 (30%)		
BMI (kg/m ²)	21.8±0.1 (15%) — — (16%)	21.3±0.1 (10%) — — (15%)	21.3±0.1 (11%) — — (14%)	21.4±0.1 (12%) — — (15%)	<0.01	0.02 — 0.77
収縮期血圧 (mmHg)	117.2±0.6 (20%)	115.4±0.6 (18%)	114.8±0.5 (19%)	114.5±0.5 (16%)	<0.01	0.01
拡張期血圧 (mmHg)	71.0±0.4 (10%)	70.2±0.4 (9%)	70.4±0.4 (11%)	70.1±0.4 (10%)	0.32	0.79
空腹時血糖 (mg/dL)	90.7±0.6 (18%)	90.2±0.5 (15%)	90.9±0.5 (17%)	90.3±0.5 (16%)	0.79	0.31
HbA1C (%)	5.3±0.1 (45%)	5.3±0.1 (43%)	5.3±0.1 (45%)	5.2±0.1 (41%)	0.71	0.17
中性脂肪 (mg/dL)	83.8±2.1 (15%)	78.4±2.0 (13%)	75.3±2.0 (14%)	71.8±2.0 (14%)	<0.01	0.05
HDLコレステロール (mg/dL)	68.2±0.8 (10%)	71.4±0.7 (8%)	71.7±0.7 (9%)	73.4±0.7 (9%)	<0.01	0.38
【喫煙男性】	牛乳・乳製品摂取 量 0 mg 以上, 51 mg より下	牛乳・乳製品摂取 量 51 mg 以上, 151 mg より下	牛乳・乳製品摂取 量 151 mg 以上, 260 mg より下	牛乳・乳製品摂取 量 260 mg 以上	p 値*1	p 値*2
	腹囲 (cm)	83.4±0.4 (39%)	83.3±0.4 (40%)	84.0±0.4 (41%)		
BMI (kg/m ²)	23.0±0.2 (25%) — — (8%)	23.2±0.1 (25%) — — (6%)	23.4±0.1 (23%) — — (6%)	23.9±0.2 (30%) — — (4%)	<0.01	0.10 — 0.01
収縮期血圧 (mmHg)	124.3±0.7 (34%)	122.4±0.6 (26%)	122.1±0.6 (27%)	122.3±0.6 (30%)	0.07	0.07
拡張期血圧 (mmHg)	76.5±0.5 (22%)	75.1±0.5 (16%)	75.3±0.5 (19%)	75.9±0.5 (18%)	0.18	0.17
空腹時血糖 (mg/dL)	93.9±1.1 (25%)	95.1±1.0 (27%)	96.3±1.0 (29%)	96.3±1.0 (34%)	0.31	0.05
HbA1C (%)	5.2±0.1 (46%)	5.3±0.1 (43%)	5.3±0.1 (43%)	5.2±0.1 (51%)	0.58	0.68
中性脂肪 (mg/dL)	140.0±6.6 (30%)	144.9±5.8 (33%)	141.8±5.9 (31%)	142.0±6.1 (32%)	0.95	0.75
HDLコレステロール (mg/dL)	56.3±0.8 (13%)	55.1±0.7 (17%)	54.7±0.7 (16%)	55.4±0.8 (16%)	0.54	0.42

*1 F検定。*2 Mantel-Haenszelの傾向性検定。牛乳・乳製品摂取量により四分位に分類し、それぞれの最小二乗平均と標準誤差を示す(年齢, エネルギー摂取量, アルコール摂取量, 運動量で調整)。()内は基準値を外れる者の割合を示す。BMIについては25以上(上段)と18.5未満(下段)の割合を示した。

るカゼインやホエイタンパク質が消化管で分解される際に生成するペプチドには降圧作用を有するものがあることが知られており、これらのペプチドは主にアンジオテンシン変換酵素の作用を阻害することで、降圧作用を有することが報告されている¹³⁻¹⁵⁾。海外の報告ではフラミンガム研究¹⁶⁾、CARDIA研究¹⁷⁾、ホノルル心臓研究¹⁸⁾などで、乳製品摂取量と血圧の間には負の相関関係が報告されている。今回、男性では収縮期血圧、拡張期血圧ともに牛乳・乳製品による有意な降圧効果が観察された(表7)。一方、女性では収縮期血圧のみ有意な降圧効果がみられた。血圧の低下については、元の血圧が高いほど、その効果は出やすいと考えられる。今回の対象女性の場合には拡張期血圧の値は低く、この値をさらに低下させることは難しいと考えられる。女性では血圧の値が男性よりも低値であることが、拡張期には降圧効果がみられなかった要因と考えられる。

牛乳・乳製品摂取と体脂肪、体重、BMIの関係については、近年多くの研究が発表されてきている。Heaney & Raffertyはそれらをまとめて総説として報告している¹⁹⁾。それによると、これまでにヒトを対象とした乳製品やカルシウム摂取と身体組成との関係の研究が約80件報告されている。31研究は無作為割付コントロール試験(RCT)あるいは比較対照代謝試験であり、その他が観察研究あるいは疫学研究である。31の無作為割付コントロール試験(RCT)あるいは比較対照代謝試験の結果、カルシウム摂取による有意な抗肥満効果がみられたものが16研究、有意ではないが効果がみられたものが6研究、影響なしが9研究であった。観察研究、疫学研究では45研究(74%)が有意な抗肥満効果がみられたと報告されている。

カルシウムあるいは乳製品摂取による抗肥満効果のメカニズムについては、現在多くの研究者が解明に取り組

んでいるが、証明はされていない。一つの仮説としてカルシウム摂取が増えることにより、副甲状腺ホルモンの分泌が抑制され、また $1,25(\text{OH})_2$ ビタミンDの濃度も低下する。これらのホルモンの影響により脂肪細胞での脂肪合成が抑えられるとともに、脂肪が分解される方向にシフトするという説がある²⁰⁾。また、カルシウムが脱共役タンパク質UCPの発現を促進し、そのため体温が上昇、代謝が亢進し、エネルギーが消費される方向にシフトするという説もある²¹⁾。しかしこれらはまだ仮説の段階である。カルシウムや乳製品が直接抗肥満効果を有する可能性とともに、食生活、ライフスタイル全体が、抗肥満効果に有効である可能性があり、牛乳・乳製品の摂取と他の食品群の摂取との関係、運動や喫煙などのライフスタイルとの関係など、牛乳・乳製品以外の影響についても十分に考慮する必要がある。

牛乳・乳製品にはさまざまな機能性ペプチドが含まれていることが報告されている。たとえば先に示した血圧低下作用を有するペプチドのほかにカルシウム吸収促進ペプチド(CPP)などが存在する²²⁾。CPPの存在は牛乳・乳製品に含まれるカルシウムをより効率よく体内に吸収させることになり、カルシウムの効果をより高めている可能性が考えられる。牛乳・乳製品はカルシウムの供給源として非常に有用な食品である。今回の対象者でも牛乳・乳製品の摂取量が多い者は、カルシウム摂取量も多くなっており、カルシウム摂取量全体に占める牛乳・乳製品の寄与率も高くなっている。したがって、カルシウムによる効果の一部は牛乳・乳製品によって説明できると考えられる。

近年、海外では牛乳・乳製品がメタボリックシンドロームを抑制するという研究が発表されてきている。しかし、日本では牛乳・乳製品の摂取量、カルシウムの摂取量が少なく、海外の結果をそのままあてはめることには問題も多い。今回日本人成人を対象として同様の検討を行ったところ、非喫煙女性では牛乳・乳製品の摂取量が増えるにしたがい、メタボリックシンドロームのリスクは有意に減少していた。非喫煙男性でも同様の傾向がみられた。

なお、健診で肥満やメタボリックシンドロームを指摘された者が牛乳・乳製品の摂取を控えた可能性も考えられるが、次の点からその可能性は低いと考えられる。すなわち、今回の調査は特定保健指導が実施される前に行われ、健診結果を基にした特別な食事指導などは行われてこなかったこと、過去の牛乳・乳製品摂取状況と現在の摂取状況を見る限り、摂取状況は大きく変わっておらず、指摘によっての変化は少ないと考えられることである。

以上、これまでの海外の報告と、今回のわれわれの研究結果を合わせて考えると、メタボリックシンドロームの予防に、牛乳・乳製品が有用である可能性があり、このことは前向きな追跡研究さらには介入研究で検討する

価値のある課題と考えられる。

今後の課題

今回、乳業4社の健診受診済み従業員のみを対象とした場合のアンケート回収率は35.8%であった。日本での地域住民を対象とした同様の調査の回収率では46.5%との報告がある²³⁾。これは千葉県鴨川市の住民を対象とした調査である。このときの回収率と比べ、今回の回収率は若干低い。ポピュレーションベースの調査としては解析可能な水準と考えられる。

今回の調査では健診結果を自己申告させた。アンケートは無記名で回収したので、健診結果の作弄的な誤記入は避けられたものと考えられる。

今回の対象者は、乳業企業に勤務する者とその家族である。その点から、一般の人を対象とした場合よりも、牛乳・乳製品摂取状況は良好である可能性がある。しかし、牛乳・乳製品摂取が身体に与える影響については、職業による違いはない。今回の対象者の性別、年齢階級別の体重やBMI、さらにメタボリックシンドロームの該当者(判定基準は若干異なる)の割合は、平成18年国民健康・栄養調査の結果と同水準であり、対象者の大きなバイアスはないと考えられる²⁴⁾。また、今回の結果から、日本人の平均的な牛乳・乳製品摂取量に相当する第二四分位でもメタボリックシンドロームのリスクは下がっており、全体の結果と同様の傾向を示していた。

今回の結果は、横断研究によるものであり、実際に牛乳・乳製品がメタボリックシンドローム関連の各指標項目を改善するかどうかは今後の課題である。

本研究は平成20年度牛乳・乳製品の機能性等に関する調査・研究事業の一部として実施されたものである。

文 献

- 1) メタボリックシンドローム診断基準検討委員会(2005)メタボリックシンドロームの定義と診断基準。日本内科学会雑誌94, 794-809.
- 2) 厚生労働省(2007)標準的な健診保健指導プログラム(確定版)。http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/seikatsu/pdf/02.pdf
- 3) Liu S, Song Y, Ford ES, Manson JE, Buring JE, Ridker PM (2005) Calcium, vitamin D, and the prevalence of metabolic syndrome in middle-aged and older U.S. women. *Diabetes Care* 28: 2926-32.
- 4) Azadbakht L, Mirmiran P, Esmailzadeh A, Azizi F (2005) Dairy consumption is inversely associated with the prevalence of the metabolic syndrome in Tehranian adults. *Am J Clin Nutr* 82: 523-30.
- 5) Elwood PC, Pickering JE, Fehily AM (2007) Milk and dairy consumption, diabetes and the metabolic syndrome: the Caerphilly prospective study. *J Epidemiol Community Health* 61: 695-8.
- 6) Pfeuffer M, Schrezenmeier J (2007) Milk and the metabolic syndrome. *Obes Rev* 8: 109-18.
- 7) Snijder MB, van der Heijden AA, van Dam RM,

- Stehouwer CD, Hiddink GJ, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM, Dekker JM (2007) Is higher dairy consumption associated with lower body weight and fewer metabolic disturbances? The Hoorn Study. *Am J Clin Nutr* 85: 989-95.
- 8) Beydoun MA, Gary TL, Caballero BH, Lawrence RS, Cheskin LJ, Wang Y (2008) Ethnic differences in dairy and related nutrient consumption among US adults and their association with obesity, central obesity, and the metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr* 87: 1914-25.
- 9) Uenishi K, Ishida H, Nakamura K (2008) Development of a simple food frequency questionnaire to estimate intakes of calcium and other nutrients for the prevention and management of osteoporosis. *J Nutr Sci Vitaminol* 54: 25-9.
- 10) 田畑 泉, 田中茂穂, 引原有輝 (2008) 新しい運動基準・運動指針「身体活動のメッツ (METs) 表」. http://www.nih.go.jp/eiken/programs/pdf/mets_n.pdf
- 11) Expert Panel on the Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (2001) Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 285: 2486-97.
- 12) International Diabetes Federation (2006) The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Metasyndrome_definition.pdf
- 13) FitzGerald RJ, Murray BA, Walsh DJ (2004) Hypotensive peptides from milk proteins. *J Nutr* 134: 980S-8S.
- 14) Saito T (2008) Antihypertensive peptides derived from bovine casein and whey proteins. *Adv Exp Med Biol* 606: 295-317.
- 15) Seppo L, Jauhiainen T, Poussa T, Korpela R (2003) A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr* 77: 326-30.
- 16) Moore LL, Singer MR, Bradlee ML, Djoussé L, Proctor MH, Cupples LA, Ellison RC (2005) Intake of fruits, vegetables, and dairy products in early childhood and subsequent blood pressure change. *Epidemiology* 16: 4-11.
- 17) Pereira MA, Jacobs DR Jr, Van Horn L, Slattery ML, Kartashov AI, Ludwig DS (2002) Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults: the CARDIA Study. *JAMA* 287: 2081-9.
- 18) Abbott RD, Curb JD, Rodriguez BL, Sharp DS, Burchfiel CM, Yano K (1996) Effect of dietary calcium and milk consumption on risk of thromboembolic stroke in older middle-aged men. The Honolulu Heart Program. *Stroke* 27: 813-8.
- 19) Heaney RP, Rafferty K (2009) Preponderance of the evidence: an example from the issue of calcium intake and body composition. *Nutr Rev* 67: 32-9.
- 20) Teegarden D (2005) The influence of dairy product consumption on body composition. *J Nutr* 135: 2749-52.
- 21) Zemel MB (2005) The role of dairy foods in weight management. *J Am Coll Nutr* 24: 537S-46S.
- 22) 内藤 博 (1986) カゼインの消化時生成するホスホペプチドのカルシウム吸収促進機構. 日本栄養・食糧学会誌 39, 433-9.
- 23) 千葉県鴨川市 (2009) 平成 15-20 年度 おたっしゅ調査報告書.
- 24) 健康・栄養情報研究会編 (2009) 国民健康・栄養の現状—平成 18 年厚生労働省国民健康・栄養調査報告より—. 第一出版, 東京.

J Jpn Soc Nutr Food Sci 63: 151–159 (2010)

Original Paper

Milk, Dairy Products and Metabolic Syndrome: A Cross-sectional Study of Japanese

Kazuhiro Uenishi,^{*1} Shiro Tanaka,² Hiromi Ishida,³ Takayuki Hosoi,⁴
Yasuo Ohashi,⁵ Takashi Kadowaki,⁶ and Hajime Orimo⁷

(Received October 11, 2010 : Accepted May 28, 2010)

Summary: We conducted a cross-sectional study to examine the relationship between milk and dairy product consumption by Japanese adults and the development of metabolic syndrome. The subjects were employees working for four groups of milk and dairy product manufacturing companies and their families (aged 20–69 yr). We sent self-administered questionnaire forms to them by post, requesting them to answer the questions on the forms. Responses were collected from 3,252 non-smoking men, 3,296 non-smoking women and 2,111 smoking men, and subjected to analysis. Eighteen percent of non-smoking men were identified as having some form of metabolic syndrome symptoms and having access to “positive support” (through consultation provided by doctors, national registered dietitians, public health nurses, etc. on a continuous basis) to alleviate their conditions, while non-smoking women who measured 80 cm or more around the waist and who were identified as having access to “positive support” to alleviate their metabolic syndrome symptoms accounted for 10%. The total respondents were classified into quartiles, according to their volumes of milk and dairy product consumption. When the ratio of metabolic syndrome sufferers in the group consuming the lowest amount of milk and dairy products was regarded as 1, the ratios in the other three groups were significantly lower among non-smoking women as they consumed more milk and dairy products, while non-smoking men showed a similar trend. Our findings indicate that milk and dairy product consumption may be useful for prevention of metabolic syndrome in non-smokers.

Key words: milk, dairy products, metabolic syndrome, Japanese, cross-sectional study

* Corresponding author (E-mail : uenishi@eiyo.ac.jp)

¹ Laboratory of Physiological Nutrition, Kagawa Nutrition University, 3–9–21 Chiyoda, Sakado, Saitama 350–0288, Japan

² Department of Clinical Trial Design & Management, Translational Research Center, Kyoto University Hospital, 54 Shogoin, Kawara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606–8507, Japan

³ Laboratory of Administrative Dietetics, Kagawa Nutrition University, 3–9–21 Chiyoda, Sakado, Saitama 350–0288, Japan

⁴ National Center for Geriatrics and Gerontology, 35 Gengo, Morioka-machi, Obu, Aichi 474–8511, Japan

⁵ Department of Biostatistics, School of Public Health, University of Tokyo, 7–3–1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113–0033, Japan

⁶ Department of Metabolic Diseases, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, 7–3–1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113–8655, Japan

⁷ Health Science University, 7187 Kodachi, Fujikawaguchiko-cho, Minamitsuru, Yamanashi 401–0380, Japan