

Study Limitations

Several limitations of the present study should be pointed out. First, the small number of participants with and without AF limited the power of this study to prove relationships and differences and limited our power to conduct subgroup analysis by PAF and PeAF. Second, the plasma markers of CatK and collagen turnover are not atrial tissue specific. In addition, patients with cardiomyopathy, myocardial infarction, congenital heart disease, congestive heart failure, or valvular heart diseases and those receiving hemodialysis were excluded. It is unclear how their exclusion may have influenced the present results. Third, despite our efforts to match the control and AF groups, the AF patients were older and included more men. However, the levels of CatK and collagen-turnover markers were higher in patients with PeAF than in those with PAF, even though the PeAF group was younger and included more men, indicating that age- and sex-associated differences did not influence the interpretation of our findings. In addition, LAD size and the frequency of β -blocker intake were higher in the AF group than in the control group. Furthermore, a potential impact of these variations on CatK expression was excluded by using multivariable and stepwise logistic models. Fourth, it will also be necessary to investigate cardiovascular events as clinical outcomes in future follow-up studies. Fifth, further study will be also necessary to evaluate dose-dependent beneficial effects of olmesartan on CatK expression and atrial remodeling in rabbit model.

Clinical Implication and Conclusions

Our observations show that increased plasma CatK levels are closely linked to the presence of AF and to increased levels of collagen turnover. Therefore, measurement of the circulating CatK level could provide useful information for the evaluation of atrial remodeling in patients with AF. In addition, our findings confirm and extend earlier work¹⁹ linking the AT1R/p38MAPK signaling pathway and the activation of NADPH oxidase with AF. We showed that increases in CatK expression and activity were accompanied by local atrial changes in Ang II/AT1R signaling pathway activation in the atrium with AF. The antagonism of AT1R-mediated beneficial effects on atrial fibrotic remodeling-related AF are likely attributable, at least in part, to the attenuation of CatK expression and activation induced by the AT1R/p38MAPK-dependent and -independent signaling pathway activations.

Sources of Funding

This work was supported in part by grants from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan

(24659385 to Dr Cheng; 23390208 to Dr Murohara), by the International Natural Science Foundation of China (grant 81260068), and by the Ministry of Education, Science and Technology of Korea (2012M3A9C6050507).

Disclosures

None.

References

- Schotten U, Verheule S, Kirchhof P, Goette A. Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal. *Physiol Rev*. 2011;91:265–32
- Corradi D, Maestri R, Macchi E, Callegari S. The atria: from morphology function. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2011;22:223–235.
- Allessie M, Ausma J, Schotten U. Electrical, contractile and structural remodeling during atrial fibrillation. *Cardiovasc Res*. 2002;54:230–246.
- Fomovsky GM, Thomopoulos S, Holmes JW. Contribution of extracellular matrix to the mechanical properties of the heart. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;48:490–496.
- Turk B, Turk D, Turk V. Lysosomal cysteine proteases: more than scavenge. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1477:98–111.
- Sasaki T, Kuzuya M, Nakamura K, Cheng XW, Hayashi T, Song H, Hu Okumura K, Murohara T, Iguchi A, Sato K. AT1 blockade attenuates atherosclerotic plaque destabilization accompanied by the suppression of cathepsin S activity in apoE-deficient mice. *Atherosclerosis*. 2010;214:430–437.
- Lutgens E, Lutgens SP, Faber BC, Heeneman S, Gijbels MM, de Winther M, Frederik P, van der Made I, Daugherty A, Sijbers AM, Fisher A, Long CJ, Saf P, Black D, Daemen MJ, Cleutjens KB. Disruption of the cathepsin K gene reduces atherosclerosis progression and induces plaque fibrosis but accelerates macrophage foam cell formation. *Circulation*. 2006;113:98–107.
- Cheng XW, Huang Z, Kuzuya M, Okumura K, Murohara T. Cysteine protease cathepsins in atherosclerosis-based vascular disease and its complications. *Hypertension*. 2011;58:978–986.
- Spira D, Stypmann J, Tobin DJ, Petermann I, Mayer C, Hagemann S, Vasilje O, Gunther T, Schule R, Peters C, Reinheckel T. Cell type-specific functions of the lysosomal protease cathepsin L in the heart. *J Biol Chem*. 2007;282:37045–37052.
- Sun M, Chen M, Liu Y, Fukuoka M, Zhou K, Li G, Dawood F, Gramolini A, Liu J. Cathepsin-L contributes to cardiac repair and remodeling post-infarction. *Cardiovasc Res*. 2010;89:374–383.
- Cheng XW, Murohara T, Kuzuya M, Izawa H, Sasaki T, Obata K, Nagata Nishizawa T, Kobayashi M, Yamada T, Kim W, Sato K, Shi GP, Okumura Yokota M. Superoxide-dependent cathepsin activation is associated with hypertensive myocardial remodeling and represents a target of angiotensin II type 1 receptor blocker treatment. *Am J Pathol*. 2008;172:358–369.
- Cheng XW, Shi GP, Kuzuya M, Sasaki T, Okumura K, Murohara T. Role of cysteine protease cathepsins in heart disease: focus on biology and mechanisms with clinical implication. *Circulation*. 2012;125:1551–1562.
- Lindholt JS, Erlandsen EJ, Henneberg EW. Cystatin C deficiency is associated with the progression of small abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg*. 2001;88:1472–1475.
- Cheng XW, Kikuchi R, Ishii H, Yoshikawa D, Hu L, Takahashi R, Shibata R, Ike N, Kuzuya M, Okumura K, Murohara T. Circulating cathepsin K as a potential novel biomarker of coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2013;231:211–216.
- Tsai CT, Lai LP, Lin JL, Chiang FT, Hwang JJ, Ritchie MD, Moore JH, Hsu I, Tseng CD, Liao CS, Tseng YZ. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and atrial fibrillation. *Circulation*. 2004;109:1640–1646.
- Xiao HD, Fuchs S, Campbell DJ, Lewis W, Dudley SC Jr, Kasi VS, Hoit B, Keshelava G, Zhao H, Capecchi MR, Bernstein KE. Mice with cardiac-restricted angiotensin-converting enzyme (ACE) have atrial enlargement, cardiac arrhythmia, and sudden death. *Am J Pathol*. 2004;165:1019–1032.
- Tsutsumi Y, Matsubara H, Ohkubo N, Mori Y, Nozawa Y, Murasawa S, Kijima Maruyama K, Masaki H, Moriguchi Y, Shibasaki Y, Kamihata H, Inada Iwasaka T. Angiotensin II type 2 receptor is upregulated in human heart with interstitial fibrosis, and cardiac fibroblasts are the major cell type for expression. *Circ Res*. 1998;83:1035–1046.

18. Li D, Shinagawa K, Pang L, Leung TK, Cardin S, Wang Z, Nattel S. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on the development of the atrial fibrillation substrate in dogs with ventricular tachypacing-induced congestive heart failure. *Circulation*. 2001;104:2608–2614.
19. Goette A, Staack T, Rocken C, Arndt M, Geller JC, Huth C, Ansoerge S, Klein HU, Lendeckel U. Increased expression of extracellular signal-regulated kinase and angiotensin-converting enzyme in human atria during atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35:1669–1677.
20. Cheng XW, Okumura K, Kuzuya M, Jin Z, Nagata K, Obata K, Inoue A, Hirashiki A, Takeshita K, Unno K, Harada K, Shi GP, Yokota M, Murohara T. Mechanism of diastolic stiffening of the failing myocardium and its prevention by angiotensin receptor and calcium channel blockers. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009;54:47–56.
21. Nakashima H, Kumagai K, Urata H, Gondo N, Ideishi M, Arakawa K. Angiotensin II antagonist prevents electrical remodeling in atrial fibrillation. *Circulation*. 2000;101:2612–2617.
22. Ueng KC, Tsai TP, Yu WC, Tsai CF, Lin MC, Chan KC, Chen CY, Wu DJ, Lin CS, Chen SA. Use of enalapril to facilitate sinus rhythm maintenance after external cardioversion of long-standing persistent atrial fibrillation. Results of a prospective and controlled study. *Eur Heart J*. 2003;24:2090–2098.
23. Arndt M, Lendeckel U, Rocken C, Neppel K, Wolke C, Spiess A, Huth C, Ansoerge S, Klein HU, Goette A. Altered expression of ADAMs (A Disintegrin And Metalloproteinase) in fibrillating human atria. *Circulation*. 2002;105:720–725.
24. Healey JS, Baranchuk A, Crystal E, Morillo CA, Garfinkle M, Yusuf S, Connolly SJ. Prevention of atrial fibrillation with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:1832–1839.
25. McNamara RL, Brass LM, Drozda JP Jr, Go AS, Halperin JL, Kerr CR, Levy S, Malenka DJ, Mittal S, Pelosi F Jr, Rosenberg Y, Stryer D, Wyse DG, Radford MJ, Goff DC Jr, Grover FL, Heidenreich PA, Peterson ED, Redberg RF. ACC/AHA key data elements and definitions for measuring the clinical management and outcomes of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Data Standards (Writing Committee to Develop Data Standards on Atrial Fibrillation). *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:475–495.
26. Shimano M, Tsuji Y, Inden Y, Kitamura K, Uchikawa T, Harata S, Nattel S, Murohara T. Pioglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activator, attenuates atrial fibrosis and atrial fibrillation promotion in rabbits with congestive heart failure. *Heart Rhythm*. 2008;5:451–459.
27. Cheng XW, Obata K, Kuzuya M, Izawa H, Nakamura K, Asai E, Nagasaka T, Saka M, Kimata T, Noda A, Nagata K, Jin H, Shi GP, Iguchi A, Murohara T, Yokota M. Elastolytic cathepsin induction/activation system exists in myocardium and is upregulated in hypertensive heart failure. *Hypertension*. 2006;48:979–987.
28. Saygılı E, Rana OR, Reuter H, Frank K, Schwinger RH, Müller-Ehmsen J, Zob C. Losartan prevents stretch-induced electrical remodeling in cultured atrial neonatal myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;292:H2898–H2900.
29. Cheng XW, Kuzuya M, Nakamura K, Di Q, Liu Z, Sasaki T, Kanda S, Jin H, Shi GP, Murohara T, Yokota M, Iguchi A. Localization of cysteine protease cathepsin S, to the surface of vascular smooth muscle cells by association with integrin α 5 β 3. *Am J Pathol*. 2006;168:685–694.
30. Kallergis EM, Manios EG, Kanoupakis EM, Mavrakis HE, Arfanakis D, Maliraki NE, Lathourakis CE, Chlouverakis GI, Vardas PE. Extracellular matrix alterations in patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation: biochemical assessment of collagen type-I turnover. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:211–215.
31. Okumura Y, Watanabe I, Nakai T, Ohkubo K, Kofune T, Kofune M, Nagashima Mano H, Sonoda K, Kasamaki Y, Hirayama A. Impact of biomarkers inflammation and extracellular matrix turnover on the outcome of atrial fibrillation ablation: importance of matrix metalloproteinase-2 as a predictor of atrial fibrillation recurrence. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2010;22:987–993.
32. Kozawa E, Nishida Y, Cheng XW, Urakawa H, Arai E, Futamura N, Shi G, Kuzuya M, Hu L, Sasaki T, Ishiguro N. Osteoarthritic change is delayed in cathepsin K knockout mouse model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64:54–64.
33. Wei SG, Yu Y, Zhang ZH, Weiss RM, Felder RB. Mitogen-activated protein kinases mediate upregulation of hypothalamic angiotensin II type 1 receptor in heart failure rats. *Hypertension*. 2008;52:679–686.
34. Lee KW, Everett TH IV, Rahmutula D, Guerra JM, Wilson E, Ding C, Olgin J. Pirfenidone prevents the development of a vulnerable substrate for atrial fibrillation in a canine model of heart failure. *Circulation*. 2006;114:170–1712.
35. Chen CL, Huang SK, Lin JL, Lai LP, Lai SC, Liu CW, Chen WC, Wen CH, Lin C. Upregulation of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases in rapid atrial pacing-induced atrial fibrillation. *J Mol Cell Cardiol*. 2008;45:742–753.
36. Goette A, Bukowska A, Lendeckel U, Erxleben M, Hammwöhner M, Strugala Pfeiffenberger J, Rohl FW, Huth C, Ebert MP, Klein HU, Rocken C. Angiotensin receptor blockade reduces tachycardia-induced atrial adhesion molecule expression. *Circulation*. 2008;117:732–742.
37. Privratsky JR, Wold LE, Sowers JR, Quinn MT, Ren J. AT1 blockade prevents glucose-induced cardiac dysfunction in ventricular myocytes: role of the A1 receptor and NADPH oxidase. *Hypertension*. 2003;42:206–212.
38. Reilly SN, Jayaram R, Nahar K, Antoniadou C, Verheule S, Channon KM, Alpert Schotten U, Casadei B. Atrial sources of reactive oxygen species vary with the duration and substrate of atrial fibrillation: implications for the antiarrhythmic effect of statins. *Circulation*. 2012;124:1107–1117.



Circulating cathepsin K as a potential novel biomarker of coronary artery disease



Xian Wu Cheng^{a,e,f,*}, Ryosuke Kikuchi^b, Hideki Ishii^a, Daiji Yoshikawa^a, Lina Hu^c, Ryotaro Takahashi^d, Rei Shibata^a, Nobuo Ikeda^d, Masafumi Kuzuya^c, Kenji Okumura^a, Toyoaki Murohara^a

^a Department of Cardiology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan

^b Department of Clinical Laboratory, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan

^c Department of Community Healthcare & Geriatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan

^d Department of Cardiology, Chunichi Hospital, Nagoya, Japan

^e Department of Cardiology, Yanbian University Hospital, China

^f Department of Internal Medicine, Kyung Hee University Hospital, Korea

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 June 2012

Received in revised form

28 December 2012

Accepted 2 January 2013

Available online 13 January 2013

Keywords:

Cathepsin K

Coronary artery disease

Atherosclerotic plaque

Biomarker

Extracellular matrix protein degradation

ABSTRACT

Background: Cathepsin K (CatK) is one of the most potent mammalian collagenases involved in atherosclerosis-based vascular disease. We investigated whether circulating CatK is associated with prevalence of coronary artery disease (CAD).

Methods: Two-hundred fifty-two consecutive subjects were enrolled from among patients who underwent coronary angiography and intravascular ultrasound analyses. One-hundred thirty-two age-matched subjects served as controls. Plasma CatK, intact procollagen type I N-terminal propeptide (I-PINP), and linked carboxy-terminal telopeptide of collagen type I (ICTP) were measured.

Results: Patients with CAD had higher CatK levels (44.0 ± 31.2 versus 15.5 ± 8.3 ng/mL, $P < 0.001$) and higher ICTP/I-PINP ratios (0.2 ± 0.1 versus 0.04 ± 0.03 , $P < 0.001$) than the controls. Patients with acute coronary syndrome had higher CatK levels than those with stable angina pectoris. Overall, linear regression analysis showed that the CatK levels correlated positively with ICTP/I-PINP ratios ($r = 0.45$, $P < 0.001$). Multiple logistic regression analysis showed that CatK levels were independent predictors of CAD (odds ratio, 1.15; 95% CI, 1.07 to 1.23; $P < 0.01$). Furthermore, CatK levels were also correlated positively with percent plaque volumes and inversely with percent fibrous volumes by intravascular ultrasound.

Conclusions: These data indicated that high levels of CatK are closely linked with the presence of CAD and that CatK serves as a novel biomarker for CAD.

© 2013 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

In the initial years after their discovery, cysteinyl cathepsins were shown to localize in lysosomes and endosomes and to function there to degrade unwanted intracellular or endocytosed proteins [1]. Recent studies have discovered non-traditional roles for Cats in the extracellular space during the development and progression of cardiovascular disease [2–4]. Among cathepsins, cathepsin K (CatK), which is one of the most potent mammalian

collagenases, was first identified in macrophages [5]. Previous studies have shown that CatK abounds in vascular smooth muscle cells and endothelial cells and infiltrated macrophages of human and animal atherosclerotic lesions [6–8]. Consistent with the biochemical observations, these vascular cells and macrophages can secrete CatK, which degrades type I collagen and elastin [9]. CatK deficiency has been shown to reduce diet-induced atherosclerotic lesion formation [11]. Recent studies have shown that the levels of serum CatS or CatL were increased in patients with diabetes and chronic kidney disease [12,13]. These data suggested that CatS levels are associated with atherosclerosis-based cardiovascular disease. However, nothing is known about the relationship between CatK and coronary artery disease (CAD). Here, we investigated whether plasma CatK levels are associated with the presence of CAD.

* Corresponding author. Department of Cardiology, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsuruma-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan. Tel.: +81 52 744 2147; fax: +81 52 744 2210.

E-mail address: xianwu@med.nagoya-u.ac.jp (X.W. Cheng).

2. Methods

2.1. Study population and definition

From January 2009 to May 2011, a total of 252 consecutive patients with CAD from Nagoya University Hospital (Nagoya, Japan) were enrolled into the study. The patients with CAD were subgrouped into stable angina pectoris (SAP; $n = 197$), unstable angina pectoris (UAP; $n = 33$), and acute myocardial infarction (AMI; $n = 22$) groups by symptoms and clinical examinations. SAP was diagnosed as invariable exertional chest pain over the 3 months before going to the hospital (with invariable meaning the same degree of exertion and excitation provocation and the same location, quality, and 3- to 5-min duration), and was relieved by rest or nitroglycerin. UAP was diagnosed by typical chest pain at rest in the 24 h before going to the hospital, depressed ST ≥ 0.1 mV, and/or T-wave inversion on electrocardiogram but normal creatine kinase-MB level. The diagnosis of AMI was based on elevation of cardiac biomarkers (at least 1 positive biomarker: creatine kinase-MB, or troponin T) and electrocardiogram indicative of new ischemia (new ST-T change or new left bundle branch block) and a history of prolonged chest pain [14]. Age-matched control subjects were selected from among apparent healthy subjects who had visited Nagoya Chunchi Hospital for a routine annual checkup. A total of 132 subjects who showed no evidence of cardiovascular disease—defined as no typical chest pain on exertion, no myocardial infarction by history or electrocardiogram, negative exercise test, and no current medications—were recruited as non-CAD controls. In addition, diabetes mellitus was confirmed if patients had hemoglobin A1c levels $\geq 6.5\%$, a fasting plasma glucose concentration >126 mg/dl, and/or a history of any anti-hyperglycemic medication or previous diagnosis of diabetes. Hypertension was defined as a systolic blood pressure >140 mmHg, a diastolic blood pressure >90 mmHg, and/or having received treatment for hypertension. Patients were excluded if they had prior evidence of cardiomyopathy, primary valvular disease, congenital heart disease, end-stage renal disease with maintenance hemodialysis, and secondary cardiac muscle disease caused by any known systemic condition. The study protocol was approved by the ethics committee of the Nagoya University School of Medicine and the Chunchi Hospital, and written informed consent was obtained from all patients and control subjects.

A blood sample was obtained prior to percutaneous coronary intervention, and various lipids, hemoglobin A1c (HbA1c), and inflammatory profiles were measured. The age, gender, smoking history, body mass index, systolic and diastolic blood pressures, and medication history were recorded for each subject.

3. Laboratory examination

Human plasma CatK levels were determined by using ELISA kits (Biomedica Gruppe, Biomedica Medizinprodukte, Vienna, Austria) in duplicate. Serum levels of intact procollagen type I N-terminal propeptide (I-PINP), carboxy-terminal telopeptide of collagen type I (ICTP), creatinine, low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), and hemoglobin A1c were measured at a commercial laboratory (SRL, Tokyo, Japan). Plasma CatK values were expressed as ng/mL, and interassay and intraassay coefficients of variation were 4.6% and 6.1%, respectively.

4. Quantitative coronary angiogram (QCA)

Coronary angiography was obtained prior to percutaneous coronary intervention. Angiography showing the maximal degree

of stenosis was adapted for QCA. QCA analysis was performed using a contour detection minimum cost algorithm (QCA-CMS Versior 3.0; Medis, Leiden, The Netherlands). All CAD patients had coronary artery severe stenosis defined as the presence of $\geq 50\%$ diameter stenosis of at least one major artery. The reference segment diameter was averaged from 5-mm long angiographically normal segments proximal to the lesion; if a normal proximal segment could not be identified, a distal angiographically normal segment was analyzed as previously described [15]. Coronary arterial plaque volumes and characteristics were analyzed by a conventional IVUS in conjunction with an integrated backscatter (IB)-IVUS.

5. Gray-scale intravascular ultrasound (IVUS)

Patients with CAD received IVUS imaging analysis prior to percutaneous coronary intervention for left anterior descending coronary artery, left circumflex coronary artery, or right coronary artery lesions with severe stenosis (defined as percent stenosis $\geq 50\%$ diameter) as determined by QCA. Patients were excluded if they had severe stenotic left main coronary artery lesions for which bypass revascularization would be needed.

A commercially available imaging system (Clear View; Boston Scientific, Natick, MA) with a motorized pullback device (SciMed Fremont, CA) and a 40 MHz IVUS catheter were used for the Gray-scale IVUS analysis. The external elastic membrane (EEM) and lumen were traced by manual planimetry according to the American College of Cardiology guidelines [15]. The cross-sectional area (CSA) of the EEM was measured by tracing the leading edge of the adventitia. Plaque plus media CSA was calculated as (EEM–lumen CSA). The percent plaque area was defined as: [(EEM area–lumen area)/EEM area] $\times 100$. Grayscale 3-dimensional IVUS image analysis was performed to compute the vessel volume, lumen volume and total plaque volume (sum of the EEM, lumen CSA, and plaque plus media CSA at 1-mm axial intervals for the analysis segments). The percent plaque volume (%) was calculated as (plaque volume, vessel volume) $\times 100$.

6. IB-IVUS

IB signals were obtained with a commercially available system connected to the IVUS system (IB-IVUS; YD Co., Ltd., Nara, Japan). IB values for two histological categories (fibrous area and lipid area) were calculated as the average power of the ultrasound backscattered signal using a fast Fourier transform, measured in decibels. The lipid volume and fibrous volume were calculated from 3-dimensional IVUS images as the sum of the fibrous and lipid area in each CSA at 1-mm axis intervals, respectively. The percentages of the fibrous and lipid (volume) [fibrous and lipid (volume)/plaque area (volume) $\times 100$] were calculated automatically.

7. Statistical analysis

Summary descriptive statistics for continuous parameters are presented as means \pm SD. Categorical variables were compared among study groups by using the chi-square test. Student's *t*-test (for comparison of continuous parameters between two groups) or 1-way analysis of variance (for comparison of continuous parameters among 3 or more groups), followed by a Tukey post hoc test was used to test significant differences. hs-CRP concentration: were logarithmically transformed because the data showed a skewed distribution. If the homogeneity of variance assumption was violated, the nonparametric Kruskal–Wallis test was used instead. The factors that were related at the $P < 0.05$ level were selected by univariable analyses as independent variable candidates for multiple logistic regression analysis, which were used to

evaluate the independent contribution of clinical parameters to CAD. Correlation coefficients were calculated using linear regression analysis. StatFlex (version 6.0; Artech, Osaka, Japan) was used for all statistical analyses. *P* values of less than 0.05 were considered statistically significant.

8. Results

The clinical characteristics of the patients with CAD (*n* = 252) and controls (*n* = 132) are shown in Table 1. There were no significant differences in age, gender, or body mass index. Patients with CAD had a significantly higher prevalence of hypertension and diabetes; they were also more likely to have had myocardial infarction or cerebrovascular disease, or to have undergone a coronary bypass graft or angioplasty. The frequencies of patients with CAD under treatment with antihypertensive, anti-lipid, anti-platelet, and anti-diabetic drugs were higher in the control subjects.

Compared with the control group, the plasma CatK levels (44.0 ± 31.2 versus 15.5 ± 8.3 ng/mL, *P* < 0.001) and ICTP/I-PINP ratios (0.2 ± 0.1 versus 0.04 ± 0.03 , *P* < 0.001) were significantly increased in patients with CAD (Table 1). The levels of hs-CRP and hemoglobin A1c were higher and the LDL cholesterol and HDL cholesterol levels were lower in the CAD group than in control group (*P* < 0.01 for all comparisons), but there was no significant difference in the creatinine levels.

Table 2 shows the baseline characteristics of the SAP and UAP-AMI (patients with UAP or AMI) groups. There were no significant differences in age, gender, or body mass index. With the exception of the prevalence of hypertension and use of insulin treatments, there were no significant differences in clinical histories and

Table 1
Demographic and clinical variables of control and CAD patients.

	CAD (<i>n</i> = 252)	Control (<i>n</i> = 132)	<i>P</i> value
Age, yrs	67.2 ± 9.2	65.1 ± 8.9	0.09
Female, %	23.0	24.2	0.83
Body mass index, kg/m ²	23.8 ± 4.4	23.5 ± 2.4	0.51
Clinical histories			
Hypertension, %	64.6	10.6	<0.01
Diabetes mellitus, %	49.5	7.5	<0.01
Current smokers, %	25.1	19.0	0.12
Previous myocardial infarction, %	7.6	0	
Previous angioplasty, %	12.2	0	
Previous bypass surgery, %	4.5	0	
Previous cerebrovascular disease, %	2.0	0	
Blood Examination			
LDL, mg/dl	105.0 ± 31.9	125.4 ± 30.5	<0.01
HDL, mg/dl	46.1 ± 11.2	55.1 ± 14.6	<0.01
Hemoglobin A1c, %	6.0 ± 1.0	5.0 ± 0.6	<0.01
Creatinine, mg/dl	1.0 ± 1.0	0.9 ± 0.1	0.40
hs-CRP, mg/dl	0.47 ± 1.1	0.03 ± 0.1	<0.001
ICTP, ng/ml	5.4 ± 6.3	1.9 ± 2.0	<0.001
ICTP/I-PINP	0.2 ± 0.1	0.04 ± 0.03	<0.001
CatK, ng/ml	44.0 ± 31.2	15.5 ± 8.3	<0.001
Medications			
ARBs or ACEIs, %	55.6	0	
CCBs, %	40.0	0	
β-blockers, %	9.4	0	
Anti-lipids, %	77.4	0	
Aspirin, %	100	0	
Insulin, %	12	0	

LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein; hs-CRP, high-sensitive c-reactive protein; ICTP, carboxyterminal telopeptide of type I collagen; I-PINP, intact procollagen type I N-terminal propeptide; CatK, cathepsin K; ARBs = Angiotensin II receptor blockers; ACEI, angiotensin converting enzyme inhibitor; CCBs, calcium channel blockers. Values are expressed as mean ± SD or number (%).

Table 2
Demographic and clinical variables of SAP and UAP-AMI

	SAP (<i>n</i> = 197)	UAP-AMI (<i>n</i> = 55)	<i>P</i> val
Age, yrs	67.4 ± 9.1	65.4 ± 9.7	0.16
Female, %	23.4	20.0	0.81
Body mass index, kg/m ²	23.7 ± 4.1	24.1 ± 5.8	0.57
Clinical histories			
Hypertension, %	72.6	36.3	0.01
Diabetes mellitus, %	45.0	65.5	0.23
Current smokers, %	25.4	23.6	0.44
Previous myocardial infarction, %	3.6	1.8	0.28
Previous angioplasty, %	10.7	18.7	0.16
Previous bypass surgery, %	3.0	5.5	0.35
Previous cerebrovascular disease, %	1.5	3.6	0.21
Blood Examination			
LDL cholesterol, mg/dl	103.4 ± 29.5	114.4 ± 34.3	0.02
HDL cholesterol, mg/dl	46.3 ± 11.3	45.1 ± 10.6	0.47
Hemoglobin A1c, %	6.0 ± 0.9	6.1 ± 1.3	0.38
Creatinine, mg/dl	1.0 ± 1.0	0.7 ± 0.2	0.22
hs-CRP, mg/dl	0.4 ± 0.7	0.59 ± 1.0	0.02
ICTP, ng/ml	4.9 ± 5.4	6.6 ± 8.6	0.08
ICTP/I-PINP	0.15 ± 0.10	0.20 ± 0.2	0.02
Medications			
ARBs or ACEIs, %	59.9	40	0.10
CCBs, %	37.6	49.1	0.16
β-blockers, %	10.6	5.5	0.09
Anti-lipids, %	76.4	87.2	0.42
Aspirin, %	100	100	
Insulin, %	9.6	21.8	<0.01
Target lesion location			
Left anterior descending artery	79	25	0.19
Left circumflex artery	46	11	0.32
Right coronary artery	72	19	0.42
QCA of target lesions			
Reference vessel diameter, mm	2.4 ± 0.7	2.6 ± 0.6	0.42
Diameter stenosis, %	72.7 ± 13.4	78.8 ± 12.1	0.12
Lesion length, mm	12.0 ± 4.4	12.1 ± 4.0	0.62
Gray-scale IVUS			
MLA, mm ²	2.2 ± 1.0	1.9 ± 0.9	0.30
EEM area of MLA, mm ²	10.1 ± 3.9	12.4 ± 4.4	0.07
Plaque area of MLA, mm ²	8.0 ± 3.6	10.2 ± 4.0	<0.01
Lumen volume, mm ³	46.8 ± 25.0	46.4 ± 24.5	0.92
EEM volume, mm ³	11.7 ± 4.4	13.1 ± 3.3	0.12
Plaque volume, mm ³	87.3 ± 47.9	112.0 ± 60.4	0.04
Percent plaque volume, %	63.6 ± 11.1	69.8 ± 10.1	0.02
IB-IVUS			
Lipid area of MLA, %	41.6 ± 15.8	47.1 ± 18.4	0.02
Fibrous area of MLA, %	53.8 ± 14.8	42.0 ± 12.5	0.02
Percent lipid volume, %	40.7 ± 13.9	46.7 ± 11.5	0.04
Percent fibrous volume, %	53.6 ± 10.6	48.5 ± 10.1	<0.01

GCA, quantitative coronary angiography; IVUS, intravascular ultrasound; MLA, minimum luminal area; EEM, external elastic membrane; IB, integrated backscatter. Other abbreviations were as in Table 1. Values are expressed as mean ± SD or number (%).

medications between the two groups. Patients with UAP or AMI had significantly higher LDL cholesterol, hs-CRP, and ICTP/I-PINP ratios than did SAP patients. However, there were no significant differences in the HDL, HbA1c, and creatinine levels between two CAD subgroups.

There were no significant differences in the target lesion location or QCA of target lesions between the SAP and UAP-AMI groups (Table 2). The data by gray-scale and IB-IVUS analysis showed that the UAP-AMI group had a significantly greater ratio of plaque area to the minimum luminal area (10.2 ± 4.0 versus 8.0 ± 3.6 mm², *P* < 0.05), plaque volume (112.0 ± 60.4 versus 87.3 ± 47.9 mm³, *P* = 0.04), percent plaque volume (69.8 ± 10.1 versus 63.6 ± 11.1 , *P* = 0.02), and percent lipid volume (46.7 ± 11.5 versus 40.7 ± 13.9 , *P* = 0.04), and lower ratio of the fibrous area to minimum lumi-

area (42.0 ± 12.5 versus 53.8 ± 14.8 mm², $P = 0.013$) and percent fibrous volumes (48.5 ± 10.1 versus $53.6 \pm 10.6\%$, $P < 0.05$) than did SAP patients. The quantitative data showed that patients with UAP or AMI had higher serum CatK levels than did SAP patients (Fig. 1), whereas there was no significant difference between the UAP and AMI groups (data not shown).

Linear regression analysis showed that the CatK levels correlated positively with the ICTP levels ($r = 0.3$, $P < 0.001$) and the ICTP/I-PINP ratios ($r = 0.4$, $P < 0.001$), while they correlated negatively with the HDL levels ($r = -0.24$, $P < 0.001$). There was also a correlation between CatK and hs-CRP levels ($r = 0.20$, $P < 0.001$). Interestingly, CatK levels were also correlated positively with plaque volumes ($r = 0.21$, $P = 0.002$) and inversely with percent fibrous volumes ($r = -0.16$, $P = 0.03$) by the IVUS in CAD patients.

The results of the logistic regression analysis for CAD are shown in Table 3. In single logistic regression analysis, body mass index, hypertension, diabetes mellitus, HDL cholesterol, LDL cholesterol, hs-CRP, ICTP/I-PINP, and CatK were significantly associated with CAD (Table 3). Multiple logistic regression analysis with age, body mass index, hypertension, diabetes mellitus, HDL cholesterol, LDL cholesterol, hs-CRP, ICTP/I-PINP, and CatK revealed that hypertension (odds ratio, 11.08; 95% CI, 2.33 to 52.65; $P < 0.01$), diabetes mellitus (odds ratio, 6.47; 95% CI, 1.34 to 31.37; $P = 0.02$), HDL (odds ratio, 0.92; 95% CI, 0.87 to 0.97; $P < 0.01$), hs-CRP (odds ratio, 2.43; 95% CI, 1.37 to 8.56; $P = 0.022$), ICTP/I-PINP (odds ratio, 1.72; 95% CI, 1.54 to 2.36; $P < 0.01$), and CatK (odds ratio, 1.15; 95% CI, 1.07 to 1.23; $P < 0.01$) levels were significantly correlated with CAD (Table 3).

9. Discussion

Previous reports showing that CatK deficiency alters wall remodeling and atherogenesis in mice [11] led us to hypothesize that cysteinyl CatK plays an important role in atherogenesis. In humans, limited information is available, with the exception that CatK expression has been shown to be increased in atherosclerotic plaques of the human aorta [6]. This study presented additional evidence to support the possible participation of CatK in atherosclerosis in humans.

10. CatK, collagen, and inflammation biomarkers and atherosclerotic plaque characterization

Multiple lines of evidence indicate that CatK is the most abundant and important cysteinyl enzyme synthesized by the cardiovascular system, and that it is relevant to atherosclerosis-based

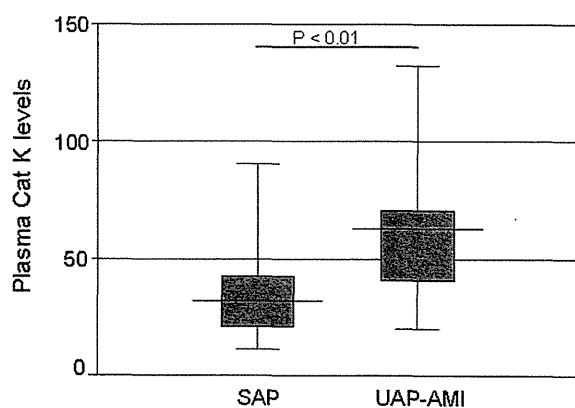


Fig. 1. Box plots of the CatK in the SAP and UAP-AMI groups. Boxes show interquartile ranges; the lower and upper boundaries of the boxes indicate the 25th and 75th percentile levels, respectively; and the horizontal lines within the boxes indicate the median levels.

vascular disease and its implications [8]. However, no previous study has evaluated circulating levels of CatK in humans with or without CAD. Our data show that patients with CAD had higher plasma CatK levels and higher ICTP/I-PINP ratios than did control subjects. Multivariable logistic regression analysis showed that plasma CatK as well as traditional risk factors of hypertension and diabetes mellitus were independently associated with CAD. Several recent studies have reported increased serum levels of several Cats (S and L) in association with CAD [8,12]. Collectively, our findings indicate that elevated plasma levels of CatK serve as a novel biomarker for CAD. It should be noted that the association between CatK and CAD may be a weak one. We must note that, in the present work, the correlations between CatK and plaque volume and percent fibrous volume were statistically significant but the related Pearson correlation coefficient was less than 0.3. It is well established that inhibition of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase or angiotensin has an atherosclerotic regression effect in animals and humans [16,17]. Recent studies have reported that long-term treatment with statins or angiotensin antagonists not only reduced plasma and tissues CatK levels but also prevented cardiovascular and renal injury in animal models [18,19]. Here, the frequencies of patients with CAD under treatment with anti-hypertensive (angiotensin II type 1 receptor antagonists or angiotensin-converting enzyme inhibitors) and lipid-lowering drugs (statins) were 55.6% or 77.4%, respectively. Surrogate markers have recently come under scrutiny since a few of the intermediate endpoints (LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and hemoglobin A1c) generally considered to be reliable have failed to predict clinical benefit following pharmacological intervention in the causal pathway [20]. Thus, the weak correlation coefficient might be in part due to pharmacological interventions-mediated expectative influence. Further investigations will be needed to study this issue.

Atherosclerotic plaque instability and rupture induced by inflammation are the major mechanisms of acute coronary syndrome or an acute clinical event [21,22]. In our analysis of the CAI subgroup of patients, we detected higher CatK levels in patients with UAP or AMI than in those with SAP, likely due to the active matrix degeneration plaque destabilization and consequent thrombosis during the pathogenesis of acute coronary syndrome. Moreover, patients with UAP or AMI had higher serum hs-CRP than did SAP subjects. Several recent reviews of the literature have reported that CRP is one of the acute-phase reactants indicating underlying systemic inflammation, and that CRP has been shown to have a predictive value for cardiovascular disease or risk factors in healthy subjects [22,23]. Plasma CRP is also able to discriminate between stable and unstable coronary artery disease; CRP levels are significantly higher in patients with unstable coronary artery disease compared to stable patients [22,24]. Thus, the significant positive correlation between CatK and hs-CRP supports the hypothesis that CatK production by activated inflammatory cells and its release into the extracellular milieu and the circulation are strongly linked to local inflammatory processes within the arterial wall. Here, we have shown that patients with UAP or AMI had significantly lower fibrous volume and higher CatK levels than did patients with SAP. Furthermore, our data showed that CatK was positively correlated with the plasma ICTP/I-PINP ratio (a collagen metabolism-related index) and plaque volume and inversely correlated with the percentage of fibrous volume. Matrix metalloproteinase has been implicated in atherosclerotic plaque growth and plaque rupture in humans and animal model [16,25]. The data from IVUS and laboratory examinations demonstrated that high levels of metalloproteinase-9 in patients who have AMI or UAP are related to the presence of plaque rupture in the culprit lesion [26]. Therefore, both the evaluation of the CatK concentration and the

Table 3
Independent predictors of CAD according to multivariable logistic regression analysis.

	Single			Multiple		
	Odds ratio estimate	95% CI	P value	Odds ratio estimate	95% CI	P value
Age(year)	1.04	0.92–1.18	0.52	1.01	0.92–1.01	0.7
Gender	0.85	0.18–4.07	0.84			
BMI(kg/m ²)	0.76	0.62–0.93	< 0.01	0.62	0.87–0.97	0.0
Hypertension, %	9.96	1.29–76.85	0.03	11.08	2.33–52.65	<0.0
Diabetes mellitus, %	8.28	1.02–66.96	< 0.05	6.47	1.34–31.37	0.0
HDL cholesterol(mg/dl)	0.88	0.81–0.97	< 0.01	0.92	0.87–0.97	<0.0
LDL cholesterol(mg/dl)	0.98	0.96–1.01	0.26			
hs-CRP	2.06	1.01–5.28	0.02	2.43	1.37–8.56	0.0
ICTP	1.09	0.45–2.62	0.84			
ICTP/I-PINP	1.86	1.29–4.78	< 0.001	1.72	1.54–2.36	<0.0
CatK	1.08	1.09–1.19	< 0.01	1.15	1.07–1.23	<0.0

Multiple regression model includes all variables at baseline with $P < 0.05$ by univariable analysis. Abbreviations are as in Table 1. CI = confidence interval.

evaluation of the matrix metalloproteinase concentration might serve as a biomarker for monitoring coronary atherosclerotic plaque vulnerability during acute coronary syndrome and myocardial infarction.

11. CatK and lipid metabolism

LDL is considered an important factor in the initiation and progression of atherosclerotic plaques [27]. Lipoprotein modification and uptake by atherosclerotic lesion cells, mainly macrophages, are important pathologic steps in atherogenesis [8,28]. Several cathepsins have been implicated in ApoB-100 proteolytic modification, which enhances extracellular LDL particle aggregation, lipid droplet formation, and LDL retention to arterial proteoglycans [28]. CatK deficiency showed an increase in cholesterol ester storage in ApoE^{-/-} bone marrow-derived macrophages, which was localized in the large lysosomal compartments [11]. We have shown that the UAP-AMI group had not only significantly higher percent plaque lipid volumes and serum LDL cholesterol levels, but also significantly higher CatK levels than did the SAP group. We found a direct negative correlation between CatK and HDL in all subjects. Lindstedt et al. studied the extracellular capacity of CatK to reduce cholesterol efflux by degradation of pre β -HDL and apoA-1 [29]. These findings suggest that CatK may participate in cholesterol uptake and/or efflux to contribute to macrophage-derived foam cell formation and plaque growth. However, the unexpected question of why CAD patients had lower LDL cholesterol than the controls remains unanswered. This phenomenon might be associated with lipid-lowering therapy. Further study will be needed to investigate this issue.

12. Study limitations

Several limitations of the present study should be pointed out. First, the small sample size of participants with and without CAD limited the power to prove relationships and differences or to conduct subgroup analysis by SAP and UAP-AMI. It has generally been considered that a thinner fibrous cap is associated with greater plaque vulnerability. Atherosclerotic plaque morphology and distribution revealed using a catheter-based IVUS technique are analyzed by visual inspection of acoustic reflections, and the echogenicity of different tissues may appear very similar. Therefore, the capacity of IVUS for identification of the plaque component is limited. Secondly, although the relationship of circulating CatK to coronary plaque and fibrous volumes in CAD patients was significant, our study was not designed to determine causality in humans. Third, patients with cardiomyopathy or end-stage renal disease with maintenance hemodialysis were excluded. On the other hand,

plasma markers of CatK and collagen turnover are not coronary specific. It is too hard to separate CatK and collagen markers from different arteries (the carotid artery, peripheral artery, cerebral artery, etc.) and tissues (myocardium, bone, fat, etc.). It is unclear how their inclusion or exclusion would influence the present results. Fourth, the control subjects and CAD patients were recruited from two different hospitals, and the former had not undergone coronary angiography. In addition, for ethical reasons, we considered that it was too problematic to use a non-drug-intervention period in order to exclude the pharmacological intervention-related influence on plasma CatK levels in this study. A large scale population-based study will be needed to investigate these issues.

In conclusion, the present study showed that an increased level of CatK was a novel determinant of CAD prevalence. Our observations suggest that CatK represents a molecular target for cardiovascular disease and that measurement of plasma CatK level would be helpful for the assessment of cardiovascular risk. However, it should be considered examining the role of Cathepsin K in cardiovascular disease in setting of prospective cohort studies where many of the problems afflicting case control studies are no longer an issue.

Sources of funding

This work was supported in part by grants from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan (121590952 and 20249045), the Japan Nakatomi Foundation (no. 007578); and the National Natural Science Foundation of China (nos. 30960128 and 81260068); and the Ministry of Education, Science and Technology of Korea (BioR&D program, 2010019913).

Disclosures

The authors have no conflicts of interest to declare.

References

- [1] Turk V, Turk B, Turk D. Lysosomal cysteine proteases: facts and opportunities. *EMBO J* 2001;20:4629–33.
- [2] Chatzizisis YS, Baker AB, Sukhova GK, et al. Augmented expression and activity of extracellular matrix-degrading enzymes in regions of low endothelial shear stress colocalize with coronary atheromata with thin fibrous cap. *Circulation* 2009;123:621–30.
- [3] Cheng XW, Kuzuya M, Sasaki T, et al. Increased expression of elastinolytic cysteine proteases, cathepsins S and K, in the neointima of balloon-injured carotid arteries. *Am J Pathol* 2004;164:243–51.
- [4] Cheng XW, Shi GP, Kuzuya M, Sasaki T, Okumura K, Murohara T. Role of cysteine protease cathepsins in heart disease: focus on biology and mechanisms with clinical implication. *Circulation* 2012;125:1551–62.

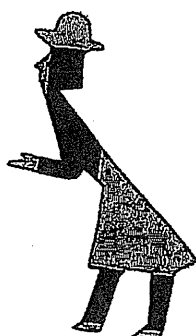
- [5] Shi GP, Chapman HA, Bhairi SM, DeLeeuw C, Reddy VY, Weiss SJ. Molecular cloning of human cathepsin O, a novel endoproteinase and homologue of rabbit OC2. *FEBS Lett* 1995;357:129–34.
- [6] Sukhova GK, Shi GP, Simon DI, Chapman HA, Libby P. Expression of the elastolytic cathepsins S and K in human atheroma and regulation of their production in smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1998;102:576–83.
- [7] Sasaki T, Kuzuya M, Nakamura K, et al. AT1 blockade attenuates atherosclerotic plaque destabilization accompanied by the suppression of cathepsin S activity in apoE-deficient mice. *Atherosclerosis* 2010;210:430–7.
- [8] Cheng XW, Huang Z, Kuzuya M, Okumura K, Murohara T. Cysteine protease cathepsins in atherosclerosis-based vascular disease and its complications. *Hypertension* 2011;58:978–86.
- [9] Barascuc N, Skjot-Arkil H, Register TC, et al. Human macrophage foam cells degrade atherosclerotic plaques through cathepsin K mediated processes. *BMC Cardiovasc Disord* 2010;10:19.
- [10] Platt MO, Ankeny RF, Shi GP, et al. Expression of cathepsin K is regulated by shear stress in cultured endothelial cells and is increased in endothelium in human atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;292:H1479–86.
- [11] Lutgens E, Lutgens SP, Faber BC, et al. Disruption of the cathepsin K gene reduces atherosclerosis progression and induces plaque fibrosis but accelerates macrophage foam cell formation. *Circulation* 2006;113:98–107.
- [12] Liu J, Ma L, Yang J, et al. Increased serum cathepsin S in patients with atherosclerosis and diabetes. *Atherosclerosis* 2006;186:411–9.
- [13] Smith ER, Tomlinson LA, Ford ML, McMahon LP, Rajkumar C, Holt SG. Elastin degradation is associated with progressive aortic stiffening and all-cause mortality in predialysis chronic kidney disease. *Hypertension* 2012;59:973–8.
- [14] Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2012;33:2551–67.
- [15] Mintz GS, Nissen SE, Anderson WD, et al. American college of cardiology clinical expert consensus document on standards for acquisition, measurement and reporting of intravascular ultrasound studies (IVUS). A report of the American college of cardiology task force on clinical expert consensus documents. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1478–92.
- [16] Nakamura K, Sasaki T, Cheng XW, Iguchi A, Sato K, Kuzuya M. Statin prevents plaque disruption in apoE-knockout mouse model through pleiotropic effect on acute inflammation. *Atherosclerosis* 2009;206:355–61.
- [17] Nicholls SJ, Ballantyne CM, Barter PJ, et al. Effect of two intensive statin regimens on progression of coronary disease. *N Engl J Med* 2011;365:2078–87.
- [18] Cheng XW, Murohara T, Kuzuya M, et al. Superoxide-dependent cathepsin activation is associated with hypertensive myocardial remodeling and represents a target for angiotensin II type 1 receptor blocker treatment. *Am J Pathol* 2008;173:358–69.
- [19] Cheng XW, Kuzuya M, Sasaki T, et al. Inhibition of mineralocorticoid receptor is a renoprotective effect of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor pitavastatin. *J Hypertens* 2011;29:542–52.
- [20] Duivenvoorden R, de Groot E, Stroes ES, Kastelein JJ. Surrogate markers in clinical trials—challenges and opportunities. *Atherosclerosis* 2009;206:8–16.
- [21] Weber C, Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med* 2011;17:1410–22.
- [22] Hermus L, Lefrandt JD, Tio RA, Breek JC, Zeebregts CJ. Carotid plaque formation and serum biomarkers. *Atherosclerosis* 2010;213:21–9.
- [23] Drakopoulou M, Toutouzas K, Stefanadi E, Tsiamis E, Tousoulis D, Stefanadis C. Association of inflammatory markers with angiographic severity and extent of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2009;206:335–9.
- [24] Geluk CA, Post WJ, Hillege HL, et al. C-reactive protein and angiographic characteristics of stable and unstable coronary artery disease: data from the prospective PREVEND cohort. *Atherosclerosis* 2008;196:372–82.
- [25] Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844–50.
- [26] Fukuda D, Shimada K, Tanaka A, et al. Comparison of levels of serum matrix metalloproteinase-9 in patients with acute myocardial infarction versus unstable angina pectoris versus stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2006;97:175–80.
- [27] Mello AP, da Silva IT, Abdalla DS, Damasceno NR. Electronegative low-density lipoprotein: origin and impact on health and disease. *Atherosclerosis* 2011;215:257–65.
- [28] Oorni K, Sneek M, Bromme D, et al. Cysteine protease cathepsin F is expressed in human atherosclerotic lesions, is secreted by cultured macrophages, and modifies low density lipoprotein particles in vitro. *J Biol Chem* 2004;279:34776–84.
- [29] Lindstedt L, Lee M, Oorni K, Bromme D, Kovanen PT. Cathepsins F and S block HDL3-induced cholesterol efflux from macrophage foam cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;312:1019–24.

Public Health Nutrition

ウェルネス 公衆栄養学

第9版

[編集] 前大道教子
松原知子



医歯薬出版株式会社

栄養疫学の役割

栄養学の基礎研究には動物実験が多く用いられる。特にラットやマウスなどの齧歯類が用いられることが多いが、動物実験で得られた結果が人間でも同じように当てはまるわけではない。生理代謝機能やかかる病気も齧歯類と人間では大きく異なる。栄養学が目指す最終的な目標は、栄養を通して人の健康を守ることである。どのような栄養がどのように人の健康に影響を与えるのかを確認し、その結果から、どのように栄養素を摂取していくことが重要なのかを明らかにして、病気の予防、健康の維持、増進に役立てていく、それが栄養疫学である。

集団になんらかの影響を与えること。曝露要因はその影響を与える要因を示す。

疫学は、1人の人間ではなく人の集団を対象として、健康や疾病とその規定要因との関連を明らかにすることを目的としている。規定要因を危険因子あるいはリスクファクター、**曝露要因**という。栄養疫学では曝露要因は食事、栄養であり、その量的な指標となる食事摂取量、栄養摂取量は曝露情報である。

わが国では、悪性新生物、心疾患、脳血管疾患が3大死因であり、これらは生活習慣が主な要因であるために生活習慣病とよばれる。糖尿病、高血圧症、脂質異常症は動脈硬化を進行させ、脳血管障害、心疾患などの循環器疾患を引き起こす。肥満はこれらの疾病の最大の原因であり、食習慣がその基盤にある。栄養疫学は日本人の健康問題を解決するための最も重要な役割を担っている。

公衆栄養活動への応用

公衆栄養活動では、疫学により明らかにされた栄養と疾病の関係など、科学的根拠に基づいた活動を行うことが重要である。また、公衆栄養活動はアセスメント、計画、実施、評価というサイクルで実施されるが、対象地域や集団の実態を把握するために、疫学の手法を応用したアセスメントや評価を行う。

4-2. 曝露情報としての食事摂取量

1 食物と栄養素

すべての生物は生命を維持するために、栄養素などを必要とする。動物では栄養素などは食物として摂取される。人では毎日の食事として栄養素を摂取しているが、食事にはまず生命活動を維持するために必要なエネルギーが含まれる。そして、主要栄養素としてのたんぱく質、脂質、糖質、微量栄養素としてのビタミン、ミネラル類などが含まれている。このほかに健康維持や疾病予防には重要ではあるが通常は栄養素には含まれないフラボノイド類などの抗酸化物質やオリゴ糖などの難消化性多糖体なども含まれている。さらに食品添加物や有害物質なども同時に含まれていることも忘れてはならない。

食生活を評価するためには、量的な評価として食事調査による食品別の食物摂取量、栄養素摂取量などの推定が行われる。また、食生活の質的な評価としては、食品への嗜好や食事の様式などの食習慣調査が行われる。

2 食事摂取量の個人内変動と個人間変動

人は毎日毎日、同じ食事をとっているわけではない。多くの人が毎日の生活や好みに応じてメニューを変え、多彩な食生活を楽しんでいる。休日と平日では食事は異なるし、四季の変化が豊かな日本では、それぞれの季節ごとに旬の食品がある。

こうした同じ個人での食事の変動を個人内変動という。1日ごとの変動は日間変動といい、日本のように多くの食材が容易に入手でき、和食、洋食、中華など料理の種類が豊富な国では、その変動は大きい。また、曜日によっても食事内容は異なり、休日には外食を楽しんだりすることも多いだろう。1日だけの食事調査は、集団全体の食事の評価には役立つかもしれないが、特定の個人の食事摂取を正確に評価することはほぼ不可能である。さらにわが国では季節変動にも注意が必要である。たとえば、果物の摂取には季節差の影響が大きく、果物に多く含まれるビタミンCなどの摂取は季節による大きな変動がある。

食事の個人差も大きい。若者と高齢者、男性と女性では食事は大きく異なっている。性別や年齢だけでなく、同じ性別年齢であっても、嗜好、体格、運動量、教育、収入などが異なれば食事の内容は異なってくる。こうした個人ごとの差を個人間変動という。このように食事調査の結果は個人内変動、個人間変動の影響を大きく受けるため、評価が難しいことが多い。調査時期、調査の曜日などにも注意を払って、結果をみていく必要がある。

フラボノイド
天然に存在する化合物で、強い酸化作用があり、色素性をもつものが多い。

抗酸化物質
老化や動脈硬化を促進するような、酸素が関与する有害な反応を減弱もしくは除去する物質。

オリゴ糖
ブドウ糖や果糖などの単糖類が2~10個程度結びついた糖類の総称。腸内のビフィズス菌を増やし、腸内環境を整える働きがある。

個人内変動
同一の個人における特性の変動。1日ごとの変動や年間を通しての変動などを含む。

個人間変動
個人差。個人個人の違いによる特性の変動。年齢や性別、遺伝要因、環境要因などの影響がある。

Chapter
4

表 4-1 個人の日常的な食事摂取量を 10% 以内の誤差で推定するのに必要な調査日数

	男性	女性		男性	女性
エネルギー	13	12	穀類	16	15
たんぱく質	20	21	いも類	417	335
脂質	52	43	糖類	341	377
炭水化物	13	13	菓子類	1,138	462
カルシウム	47	47	油脂類	307	258
リン	20	20	種実類	3,403	2,533
鉄分	28	27	豆類	141	140
ナトリウム	32	31	魚介類	136	162
カリウム	29	21	肉類	579	618
レチノール	2,620	3,810	卵類	205	222
カロチン	169	140	乳類	255	147
ビタミンB ₁	45	34	野菜類	71	65
ビタミンB ₂	28	28	果実類	560	255
ナイアシン	61	63	きのこ類	874	1,114
ビタミンC	105	80	海藻類	1,316	932
			嗜好飲料類	106	97

(Ogawa K, et al. Eur J Clin Nutr 52. 781-785, 1999 より)

日常的（平均的）な食事摂取量

食事には個人内変動があるが、同じ調査を長期間にわたって続けられれば、特定の個人の日常的な、平均的な食事摂取量を推定することができる。個人の日常的な食事摂取量を推定するにはどのくらいの日数の調査が必要だろうか。個人内変動は栄養素ごとに異なる。多くの食品に含まれる主要栄養素よりも、特定の食品にしか含まれないような微量栄養素のほうが変動は大きく、調査にはより多くの日数が必要となる。

表 4-1 に個人の日常的な食事摂取量を 10% 以内の誤差で推定するのに必要な調査日数を示した。エネルギーやたんぱく質などの主要栄養素、ミネラル類では 2 週間から 2 カ月近く、ビタミン類では 2 カ月から 3 カ月以上も必要であると推定されている。食品別の摂取量でも、穀類のようにほとんど毎日決まって食べるものについては数日の調査で十分なこともあるが、果物のように季節変動が大きいもの、菓子類のように必ずしも毎日同じように食べるものではない食品では摂取量の推定には数百日を要すると推定されている。

このように特定の個人の栄養素摂取量の日常的・平均的な推定は極めて難しく、食事調査に基づいて栄養指導などを行う場合には、注意が必要である。一方、集団としての平均的な栄養素摂取量の推定は調査人数を増やすことで、短い調査期間で可能となる。3 日間の食事調査で数十人から数百人の対象者があれば、集団全体としての平均的な栄養素摂取量の推定が可能である。1

日だけの調査でも人数を増やせば十分可能であり、厚生労働省の国民健康・栄養調査は現在では1日の調査となっている。

特定の集団の平均的な食事摂取量の評価には、対象の選定も重要である。全員の調査ができない場合には、集団の一部に対して調査を行うことになるが、協力的な人たちだけに調査を行えば、健康に関心をもつ人たちが多くなってしまい、全体の平均からは離れた調査結果になってしまうことに注意しなければならない。

4-3. 食事摂取量の測定方法

地域住民や特定の集団での栄養問題を発見しようとするときには、その集団に対しての食事摂取量の測定および評価は欠かせない。多数の集団を対象とした食事摂取量の測定方法には、被験者の記憶による思い出し法、実際に摂取した食事の内容を記録してもらう記録法などがある。また、食事として実際に摂取した量ではなく、血液検査、尿検査などによる生化学的指標の評価、体重や体脂肪率などの身体計測値による評価によって、食事摂取量が足りないのか、過剰なのかを判定することもできる。

生化学的指標
血液や尿の生化学的な分析
によって求められた成分量
からの指標

1. 24時間食事思い出し法

24時間思い出し調査は通常、管理栄養士・栄養士による面談で行われ、被験者に前日の24時間もしくは過去24時間のあいだに摂取した食事の内容をすべて思い出してもらい、栄養素摂取量を求めるものである。対象者の負担が少なく、協力を得やすい。食事内容には日々の変動が大きく、個人の栄養摂取の判定には適していないが、多数の集団で行えば集団全体としての栄養素摂取状態の判断を行うことができる。24時間思い出し法による調査を同じ人に何度もくり返すことで精度を上げることも可能である。調査は対象者の記憶力に左右されることが多いため、高齢者や小児では実際に摂取したものをすべて思い出してもらうことは難しい。フードモデルや実物大写真、食器などを用いて各食品の摂取量を聞き出す。面接を行う管理栄養士・栄養士の技量による影響も大きい。

フードモデル
実物大で実物そっくりで作
られた食品模型。食事調査
や栄養指導に使われること
が多い。

2. 記録法

本人または家族の食事の内容を1~7日間程度にわたってすべて記録してもらい、その結果をもとに栄養素摂取の解析を行うものである。摂取量を秤で計量する秤量法、大きさや形状を記録する目分量法、カメラを使う写真記録法がある。実施に際しては、管理栄養士・栄養士による指導や確認が必要で

ある。食事記録法は思い出し法に比べて、記録をするための作業が繁雑であり対象者の負担が大きい。調査期間が長くなるほど精度は増すが、負担はさらに大きくなる。また、調査を意識して料理が日常と異なった内容になることもあることに注意しなければならない。

④ 秤量法

秤を用いて対象者の食物摂取量を正確に計測する方法である。一つひとつの食品を計量して記録していくことは面倒であり、食器と一緒に計測してしまうなど秤の使い方の間違いもある。レストランなどに秤を持って行くわけにはいかないため、外食がある場合には秤量法は事実上不可能である。調味料など少量しか使用しない食品では秤量が難しい。このように秤量を行うのが難しい場合には目安量が使われる。国民栄養調査は、以前は3日間の秤量法による世帯ごとの食事記録法が採用されてきた。1995年から1日だけの調査に切り替わっている。秤量法による調査を行うには秤が必要であるが、正確な秤が必ずしもすべての家庭にもあるわけではないことにも留意しなければならない。

⑤ 目安量法

食品の摂取量を計量スプーンでの換算、パンの枚数、果実の個数、びんや缶の本数、個数などを単位とした目安量で記録する方法である。目安量の把握の仕方には個人差が大きい。食品ごとの目安量の決め方、記録の仕方について、実際の調査の前にフードモデルなどを用いての管理栄養士・栄養士による十分な教育、訓練が必要である。

⑥ 写真記録法

対象者に毎食、食事の前後に食事の内容を撮影してもらう。あらかじめ用意したスケールと一緒に撮影してもらうと食器のサイズがわかり、摂取量の判定精度が上がる。使い捨てカメラやデジタルカメラが使われる。食事の前と後で撮影することで、実際に何をどれだけ食べて、何を残したかを判定できる。写真記録法単独で行われることもあるが、秤量法や目安量法による調査の精度を上げるために写真記録が併用されることもある。高齢者ではカメラの操作に不慣れであったりすることもあり、またカメラを用意する必要があり、費用がかかることが問題である。

食物摂取頻度調査法とその妥当性・再現性

食物や食品の摂取頻度を調査して、食習慣や栄養素などの摂取の状況を調査する方法を食物摂取頻度調査 (food frequency questionnaire) という。略してFFQといわれる。代表的な数十種類から200種類くらいまでの食品について、その摂取頻度を調査し、食品の摂取量を推定しようとする調査法である。対面調査だけでなく郵送での調査も可能で、簡便に行うことができる。

定性的FFQ
 摂取量の調査を行わず、摂取頻度のみで食習慣を調査する食物摂取頻度調査法。

半定量的FFQ
 代表的な食品や料理の摂取頻度と平均的な1回摂取量を質問票にて調査し、食習慣や食品摂取量を検討する調査方法。

ポーションサイズ
 特定の食品や料理についての1食あたりの平均的な摂取量、地域、性別や年齢などで異なることが多い。

摂取頻度のみの調査を定性的FFQという。頻度に加えて摂取量の調査も行うか、あるいは各食品の日本人における1回の平均的摂取量を用いることにより、日常的な平均的な栄養素摂取量を推定することもできる。また、各食品の1食あたりの摂取量を3~5段階ほどに分けて、摂取頻度とともに調査して摂取量を推定する方法を半定量的FFQという。調査する食品数は限られており、食品リストになければ反映されない。一般に過去1カ月、あるいは1年間の食物摂取頻度を調査するが、みかんなど特定の季節にしか食べられない食品に関しては、出回る時期での平均的な摂取頻度、量から、1年間の平均値を求める作業も必要である。推定された栄養素摂取量について個人が集団の中で、どのくらいの順位にいるかを判定することはできるが、対象集団の栄養素摂取量の推定には用いることは難しい。

地域の特産品のように、地域によって特徴的に食べられる食品もある。また、同じ“うどん”でも関西と関東では、調味料使用や食品構成の内容が大きく異なる。年齢によっても同じ料理が若者では量が多く油っこい内容であり、高齢者では量が少なめであっさりした内容となっていることが多い。米飯の摂取量に関しては、ごはん茶碗何杯というような形で1食あたりの摂取量が調査されるが、ごはん茶碗は“夫婦茶碗”の例でもわかるように、男性用と女性用ではサイズが異なる。女性では摂取量を過大に評価されてしまう可能性がある。調査をする地域で、対象となる年齢層や性別を考慮してFFQの調査票を作成する必要がある。そのためには地域で食事記録調査を行い、料理や食品の摂取頻度、標準的な1食あたりの摂取量（ポーションサイズ）、各料理の食品構成を調査し、それらのデータを元にしてFFQを作成することが望ましい。

FFQの再現性は、同一の人に同じFFQの調査票を用いて一定の期間において調査を繰り返して行い、食事摂取量の一致度を調べることで検討できる。対象者に調査結果を返すことで、特定の栄養素摂取量や食品の摂取が過剰あるいは不足しているということがわかると、食習慣を変更してしまうことがある。このように対象者が食習慣を変化させている場合には再現性は悪くなる。また、季節によっても摂取する食品が異なるため調査結果が変化してしまうことにも注意が必要である。

FFQの妥当性は、FFQで推定された栄養素摂取量がどれだけ真の摂取量に近いかで検討する。実際には真の摂取量を知ることはほぼ不可能であり、一般には3日間以上の食事記録法を季節ごとに行い、それらの平均値とFFQでの栄養素摂取量との推定値との差や相関を計算することで妥当性の検討が行われる。24時間思い出し法が用いられることもある。また、妥当性の検討には血液検査など生化学的の生体指標との比較で行われる場合もある。



陰膳法とマーケットバスケット法

一般的な食品に含まれる栄養素や成分は日本食品標準成分表に掲載されており、これを用いて食事記録と照合し、個々の栄養素や成分の摂取量を求めることができる。しかし、食品成分表にない栄養成分や化学物質の摂取量を推定する場合には、食品の化学的分析を行い、摂取量を推定しなければならない。こうした解析のために陰膳法やマーケットバスケット法が用いられることが多い。化学的分析を行うために分析法ともいわれる。

陰膳法

実際に対象者が摂取した食事と同じものを、たとえば各家族でもう1人前多く食事をつくってもらうなどして収集する。集めた食事内容を化学的に分析し、食事に含まれる栄養成分や化学物質の量を推定する。このような調査に協力してもらう場合、食事の内容が普段とは異なるものに変更されやすいことに気をつける必要がある。

マーケットバスケット法

マーケットバスケットは買物かごのことであるが、マーケットバスケット法は、日常摂取される代表的な食品を一般小売店で購入して、それらの食品に含まれる特定の成分を化学的に分析して含有量を求める方法である。それぞれの食品の平均的な摂取頻度や摂取量を対象集団で求めて、これを用いて食品ごとの成分の摂取量を推定し、全食品についての合計の摂取量を求める。

食生活状況調査

食習慣を含めた食生活状況調査は、食事の摂取状況と密接な関連をもち、重要である。食事の時間や摂取状況、地域の特性、食器など食生活に関連する道具（食具）、過去の食生活について調査する食事歴調査などもこれに含まれる。食生活状況調査の主な項目を表4-2に示す。

食事調査や食生活状況調査では、質問票による調査が行われることが多い。質問票による調査については、「Chapter 5 公衆栄養マネジメント」を参照されたい。

食事摂取量を反映する身体測定値・生化学的指標

体格・身体組成

肥満・やせ

一般に肥満は栄養過多の指標であり、やせ（るいそう）は栄養不良の指標である。ただし、体格には遺伝的要因も大きく影響し、一概に肥満者は栄養摂取過剰、やせた人は栄養不足であるわけではないことに留意せねばならない。体重の減少は、栄養不良の重要な指標である。1年で10%以上あるいは

表 4-2 食生活状況調査

●外食、欠食、間食、夜食の状況	●料理伝承
●共食者（食事をともにする者）	●食事儀礼（行事食、食卓作法、食物禁忌）
●食事時間	●食事歴（過去の食生活）
●食事所要時間	●食具調査
●食事場所	所有する調理道具の種類、数、使用状況
●調理担当者	食器の種類、数および使用状況
	台所・食事室の設備

半年間で5%以上の体重減少がみられた場合には、病的原因による栄養不良である可能性がある。しかし、やせていても体重減少が6カ月以内にみられなかった場合は必ずしも病的というわけではない。

肥満、やせの判定には体格指数（BMI）を用いられることが多い。世界基準であるWHOの判定基準ではBMI 30以上を肥満としているが、日本肥満学会では肥満とする基準をBMI 25以上としている。日本人ではBMIが30未満であっても、25を超えていれば、25以下の人に比べて糖尿病や高血圧症、脂質異常症の発症リスクが2倍以上に高くなることが知られている。一方、BMIによるやせの基準は、BMIが18.5未満である場合とされている。

生後3カ月を過ぎた乳幼児に適用されるカウプ指数は体重(g)/[身長(cm)]²×10で計算され、BMIと同じ値になる。乳児16～18、幼児満1歳で15.5～17.5、満4、5歳で14.5～16.5程度が標準である。学童期は主にローレル指数=体重(kg)/[身長(m)]³×10が用いられている。120～130が標準であり、160以上で肥満と判断される。

ブローカ指数は成人の標準体重を表す指数で、身長(cm)－100で求める。日本では身長が高い人で標準体重としては大き過ぎる値をとるため、(身長(cm)－100)×0.9で求めるブローカ式桂変法が用いられる。

㊦ウエスト周囲径

メタボリックシンドロームの診断で用いられるウエスト周囲径は、立位、軽呼気時、臍レベルで測定をする。脂肪蓄積が著しい場合には、腹部の皮下脂肪が垂れ下がってしまい、臍の位置が下がっている場合がある。この場合には肋骨下縁と前上腸骨棘（腰骨の一番上の部分）の midpoint の高さで測定する。男性で85 cm以上、女性で90 cm以上あれば内臓脂肪蓄積と診断される。内臓脂肪量の判定のためには、腹部CTスキャンやMRIによる内臓脂肪面積の計測がより正確である。

㊧体脂肪率・体脂肪量

最近では体脂肪計が安価に売り出されており、体脂肪率を容易に測ることができるようになった。現在使われている体脂肪率計はインピーダンス法を用いるものがほとんどである。脂肪組織が筋肉組織に比べて電気を通しにくい性質を利用し、身体に微量の電流を流して、身体の電気抵抗から体脂肪量を

内臓脂肪面積

腹部CTスキャンなどで臍部を通る腹部断面を撮影し、腹腔内の脂肪の面積を測定する。100 cm²以上で内臓肥満（内臓脂肪型肥満）と診断される。

体脂肪率

体重に占める体脂肪の割合。BMIが正常でも体脂肪率が高い場合には、筋量の低下が疑われる。

インピーダンス法

体内に軽い電流を流して、体内水分量を測定して、体脂肪率を計算する測定方法。体重と組み合わせて乗るタイプ、手で握るタイプなどがある。

表 4-3 体脂肪率による肥満の判定

性別・年齢	肥満率	体脂肪率 (%)	BMI	判定
男性 (全年齢)	20%未満	20.0~24.9%	25.0~29.9%	30%以上
女性 (10~14 歳)	25%未満	25.0~29.9%	30.0~34.9%	35%以上
女性 (15 歳以上)	30%未満	30.0~34.9%	35.0~39.9%	40%以上

(日本肥満学会編：肥満・肥満症の指導マニュアル第2版，医歯薬出版，1997)

推定する。測定は簡便だが，体内の水分量に影響を受けやすい。特に飲食や運動，排尿などの影響が強く，測定時の状況により得られる値が大きく異なることがある。さらに電気抵抗から体脂肪率を導く推定式がメーカーによって異なり，測定値が違ってしまうことがある。推定式は一般成人を対象にしているため，幼児や高齢者，妊婦，筋肉量の多い人などでは正確な結果が得られないなどの問題点がある。適正とされる体脂肪率は成人男性で20%未満，成人女性で30%未満であり，これを超えれば肥満と判定される(表4-3)。

皮下脂肪の評価には皮脂厚計が用いられてきた。皮脂厚計で皮膚をつまみ，皮下脂肪厚の測定を行う。上腕背面中央部(上腕三頭筋部)，肩甲骨下端で測定が行われることが多い。簡便に測定できるが，測定の再現性に乏しい。超音波断層を用いての皮下脂肪厚の測定は，手技の差による影響が少なく，皮脂厚計よりも正確に実施できるが，機械が高価で疫学調査などでは使用しにくい。また，放射線を用いた双エネルギーX線吸収法(DXA法)では，正確な体脂肪量，体脂肪率を求めることができるが，装置が大規模で，高額であり，また放射線被曝もあることから，一般の疫学調査では使用されない。

4.2.2 骨密度・骨質の測定

加齢に伴う筋肉量の減少をサルコペニアという。高齢者の低栄養は筋肉量の低下をきたし，転倒や歩行困難など日常生活を送るうえでの支障となる。筋肉量の評価は難しい。放射線を用いて全身のスキャンを行うDXA法では，体脂肪量だけでなく，骨量，骨密度も頭部，体幹，上肢，下肢などの部位別に測定することができる。DXA法では筋肉量を直接測定することはできないが，体重から体脂肪重量を引いて求めた除脂肪体重(LBM)や，さらに骨量を引いて求めた除脂肪除骨体重が筋肉量の指標として用いられる。筋肉量の評価やサルコペニアの診断にはDXA法が最も正確であるが，原則として医療機関でしか実施することができない。このため簡便に測定できる上腕周囲長，大腿周囲長，下腿周囲長などが筋肉量の指標として用いられることがある。上腕周囲長から上腕筋断面積を推定して指標とすることもある。最近ではインピーダンス法でも筋肉量の推定が可能な装置が開発されている。

4.2.3 生化学的指標

4.2.3.1 脂質

栄養状態を評価する血液検査としては，血清コレステロールやトリグリセリド

超音波断層を用いた低レベルの放射線を用いた装置で，全身や特定の部位をスキャンして，骨密度，体脂肪量などを測定する方法。

高齢者にみられる筋肉量の減少をいう。筋量の減少に伴い筋力が低下し，日常生活に支障をきたすようになる。

脂肪重量を除いた体重，骨や内臓，体内の水分などが含まれるが，一般的には筋量の指標として使われる。

上腕周囲長(AC)と上腕三頭筋部皮厚(TSF)から $AMC = AC - \pi \times TSF$ で計算できる。さらに， $AMC^2 / 4\pi$ で上腕筋面積(AMA)が求められる。

脂質の成分の1つ。細胞膜の構成成分やホルモンの前駆体として重要だが，過剰になると動脈硬化を促進させる。

中性脂肪ともよばれ脂質の成分の1つである。脂肪細胞中にエネルギーとして蓄えられる。

表 4-4 栄養評価指標としての血清たんぱく質

	栄養指標	半減期	特徴
静的指標	アルブミン	21日	測定時付近の平均的栄養状態を反映する指標
	コリンエステラーゼ	11日	
動的指標	トランスフェリン	7日	短期間の栄養状態の変化を評価する指標
	プレアルブミン	1.9日	
	レチノール結合たんぱく	0.5日	

イド（中性脂肪）などの血清脂質，血清たんぱく，特にアルブミンなどが用いられる。

血清脂質は一般に高栄養では高値になり，低栄養では低くなるが，体質や遺伝による影響も強い。HDL コレステロールは善玉コレステロールともよばれ，その値が高いと動脈硬化の進行を予防し，長寿につながるといわれるが，肥満や糖尿病，喫煙で低下する。反対に運動や適度な飲酒はHDL コレステロールを上昇させる。

血清中には多くのたんぱく成分が含まれ，栄養評価に用いられるが，半減期の長さで，測定時付近の平均的栄養状態を反映する静的指標，短期間の栄養状態の変化を評価する動的指標に分類される（表 4-4）。血清たんぱくの約 60% を占めるアルブミンは低栄養の指標となるが，半減期が長いため低栄養状態がかなり進まないで低値とならない。また，重症の肝障害やネフローゼ症候群のような疾患では大きく低下するので判定には注意が必要である。コリンエステラーゼは肝細胞で産生されるたんぱく質であるが，高栄養で高値となり，低栄養で低値となる特徴をもつ。ただし，アルブミン同様，肝疾患や肝機能障害の影響を受けるので，判定に用いる際には注意が必要である。プレアルブミン（トランスサイレチン）も肝細胞で産生されるたんぱく質で，血中半減期がアルブミンの約 21 日と比べて，約 2 日と短い。このためプレアルブミンの測定で低栄養の進行を早期に判定することができる。トランスフェリンは血中で鉄と結合する糖たんぱくであるが，半減期は約 7 日であり同様に早期の低栄養の判定に役立つ。

ヘモグロビンは赤血球中に含まれている鉄と結合したたんぱく質であり，酸素を運ぶ重要な働きを担っている。鉄分の摂取が少なくなると，血中ヘモグロビン濃度が減り，栄養摂取の指標となる。血中尿素窒素（BUN）は腎不全など腎機能が低下したときに上昇する。たんぱく質の分解により生じたアミノ酸からアンモニアが生成され，肝臓で代謝されて尿素となる。血中に放出された尿素は，腎臓の尿細管で再吸収され残りが尿中に排出される。腎機能が低下したり，脱水で尿量が低下したりすると再吸収量が増加し，BUN は増加することになる。血清クレアチニン（Cr）も腎機能の指標であり，腎不全などでは BUN と Cr が同時に高値となるが，脱水では BUN のみが高くな

HDL コレステロール
高密度リポたんぱく質（HDL）中に含まれるコレステロール。動脈硬化を防ぐ善玉コレステロールといわれる。

半減期
ある物質の量が半分になるのにかかる期間。血清中のたんぱく質のような生体成分では，代謝によって半分の量に減ってしまう時間数または日数で示される。



り BUN/Cr 比が高くなる。BUN/Cr 比は脱水の有用な診断であり、比率が 10 以上で脱水が疑われる。高齢者では脱水となっても口渇感が生じにくく、対応が遅れてしまうことも多いので、こうした指標も参考にすべきであろう。

過度のアルコール摂取や肥満は肝細胞に脂肪を蓄積させ、肝機能を障害する。特に肝機能検査の 1 つである γ -GTP はアルコール摂取量をよく反映し、習慣性のアルコール摂取の客観的判断にも用いられる。またアルコール摂取が多いとトリグリセライドや血清尿酸も高くなる。

血糖値は糖尿病などがなければ栄養状態に大きくは影響を受けない。糖尿病には自己免疫による膵障害でインスリンが量的不足となり発症する 1 型糖尿病と、高栄養や肥満が要因となる 2 型糖尿病がある。糖尿病の指標としては空腹時血糖、75 g 経口ブドウ糖負荷の 2 時間血糖値が使われるが、HbA1c (HbA1c) が疫学調査では用いられることが多い。

ナトリウムは一部が汗などとして排出されるが、ほとんどは尿中に排泄されるため、尿検査で食塩の摂取量を推定することができる。しかし、尿中のナトリウム濃度は 1 日を通して一定ではないため、1 日の食塩摂取量をみるためには、1 回の尿だけでは判定できず、24 時間蓄尿する必要がある。一方、カリウムは多くが糞便中に排泄されるため、尿による摂取量の判定は正確には行えない。

栄養素摂取の不足が続くと脂肪が分解されて、代謝産物としてのケトン体が尿中に出ようになる。尿中のケトン体は、尿中たんぱく質濃度は全身の筋量の指標としても使われることがある。また、尿中窒素排泄量は体内でのたんぱく質燃焼量を反映し、たんぱく質摂取量を推定する指標として用いられる。

身体所見

医師の診察により栄養に関連する身体所見が見いだされることがある。栄養不良時にみられる身体所見としては、貧血によって眼瞼結膜が赤味を失い、毛髪の色素が薄くなり、黒髪が茶色くなる。また毛髪が抜け落ちることもある。爪は薄くなり、スプーンのように反り返ってしまう。これをスプーンネイル (spoon nail) という。

また、栄養不良で血清たんぱく、特にアルブミンが低下すれば血清浸透圧が維持できず、浮腫が生じる。血清たんぱく低下が甚だしい場合には、腹水や胸水が生じる場合もある。ビタミン B₁ が欠乏するとやはり浮腫が生じ、腱反射が失われる。ビタミン B₁ の欠乏症の診断には膝蓋腱反射の消失が診断に役立つ。栄養不良時には、下痢、低血圧、徐脈、疲労感、倦怠感、体温低下などの身体症状があらわれることもある。

一方、栄養過多の身体所見としては高コレステロール血症による黄色腫が

肝機能検査の項目の 1 つ。アルコール摂取にて高値となるが、肝炎などでも高値になることがある。

血中でブドウ糖がヘモグロビンに結合してグリコヘモグロビンを形成された指標。過去 1、2 カ月の血糖値の状態がわかる値となる。

脂肪酸ならびにアミノ酸の不完全代謝産物。飢餓などで糖がエネルギー源として利用できない場合、脂肪およびたんぱく質が分解され、尿中に検出される。

筋肉の中に含まれるクレアチンが分解されてできた老廃物。直接尿に排泄されるので筋肉量や運動量に相関する。

骨格筋を構成するアミノ酸。分解後再利用されずに 95% 以上が尿中に排泄されるので筋肉量の指標となる。

膝蓋骨の下の膝蓋靭帯を軽く叩くと、大腿四頭筋が収縮して膝関節が伸展する反射。ビタミン B₁ 欠乏による脚気などでは反射が消失するのが特徴とされる。