

# Smoking and Serum Proteins in Atomic Bomb Survivors in Hiroshima

Daniel O. Stram, Ph.D.; Suminori Akiba, M.D.;  
Kazuo Neriishi, M.D.; Richard G. Stevens, Ph.D.;  
Yutaka Hosoda, M.D.

### **RERF Technical Report Series**

Technical reports are the basic medium for reporting of original research carried out at the Radiation Effects Research Foundation. Reports in this series receive both internal and external peer review and may serve as the basis for publication in the open scientific literature, in part or in toto. Although they may be quoted and cited, these reports are considered to be internal publications of the Foundation. Copies are available upon request from: Editorial Office, RERF, 5-2 Hijiyama Park, Minami-ku, Hiroshima, 732 Japan.

Beginning in 1989, the RERF Technical Report Series is no longer being published in the traditional Japanese-English bilingual format. However, major reports continue to be available in both languages as separate publications. Selected reports of a highly specialized nature, for which there is presumably less general interest, are produced only in English with an extended Japanese summary.

In this way, the Foundation will be able to more expeditiously report recent findings on the late biological effects of exposure of man to ionizing radiation resulting from the atomic bombings of Hiroshima and Nagasaki.

1989年から、放射線影響研究所の業績報告書は、従来の日英両文を併記した方式では発行しない。主要な報告書については、今後も日英両文で印刷するが、それぞれ別に発行する。内容が高度に専門的であり、一般の関心が少ないと思われる報告書については英文のみとし、日本文の要約を添付する。

これにより、広島・長崎の原爆電離放射線被曝の人体に及ぼす晩発性生物学的影響に関する最近の知見を今までよりも速やかにお知らせできることと思う。

*The Radiation Effects Research Foundation (formerly ABCC) was established in April 1975 as a private nonprofit Japanese Foundation, supported equally by the Government of Japan through the Ministry of Health and Welfare, and the Government of the United States through the National Academy of Sciences under contract with the Department of Energy.*

## 広島 の 原 爆 被 爆 者 に お け る 喫 煙 と 血 清 蛋 白 の 関 連 に つ い て<sup>§</sup>

### Smoking and Serum Proteins in Atomic Bomb Survivors in Hiroshima

Daniel O. Stram<sup>1</sup>, 秋葉澄伯<sup>2</sup>, 鎌石和男<sup>3</sup>, Richard G. Stevens\*, 細田 裕<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 統計部, <sup>2</sup> 疫学部及び <sup>3</sup> 臨床研究部

#### 要 約

放影研の健康追跡調査(成人健康調査)に参加した広島 の 原 爆 被 爆 者 及 び 非 被 爆 の 対 照 者 の 中 で, 1979-81年 の 期 間 に 血 清 総 蛋 白 な ど を 測 定 さ れ た 4,739人 を 対 象 に, 喫 煙 習 慣 と 血 清 総 蛋 白 レ ベ ル 及 び そ の 分 画 レ ベ ル と の 関 連 を 検 討 し た.

年 齢, 性, 肥 満 度 な ど を 補 正 し た 後 で も, 喫 煙 と 血 清 蛋 白 濃 度 と の 間 に 強 い 関 連 が み ら れ た. 喫 煙 者 は 非 喫 煙 者 に 比 べ, 総 蛋 白,  $\beta$ グロブリン,  $\gamma$ グロブリンのレベルが有意に低く ( $p < 0.001$ ),  $\alpha_1$ グロブリンと  $\alpha_2$ グロブリンのレベルが有意に高かった ( $p < 0.001$ ). アルブミンレベルは減少する傾向が認められたものの統計学的に有意ではなかった. 本報で解析された血清蛋白レベルに関する限り, 禁煙者と非喫煙者との間に差は見だし得なかった. また,  $\alpha_1$ グロブリンのみには, 1日の紙巻煙草喫煙本数が上昇するとともに単調に増加していた. 喫煙期間(年)と共に上昇していたのは  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ グロブリンであった. 喫煙期間はアルブミンレベルとも関連していたが, 単調な増加又は減少傾向ではなかった. 放射線被曝は幾つかの場合, 血清蛋白レベルと有意に関連していたが, その影響は全般的に喫煙のそれに比べ弱く, 回帰モデルにこれを含めても, 喫煙と血清蛋白に関する結果に大きな変化はみられなかった.

<sup>§</sup>全文の日本語訳は別に発行する.

\* Washington 州, Richland 市, Pacific Northwest Laboratory

# Smoking and Serum Proteins in Atomic Bomb Survivors in Hiroshima<sup>§</sup>

Daniel O. Stram, Ph.D.<sup>1</sup>; Suminori Akiba, M.D.<sup>2</sup>;  
Kazuo Neriishi, M.D.<sup>3</sup>; Richard G. Stevens, Ph.D. \* ;  
Yutaka Hosoda, M.D.<sup>3</sup>

*Departments of <sup>1</sup>Statistics, <sup>2</sup>Epidemiology, and <sup>3</sup>Clinical Studies*

## Summary

Associations of smoking habit with serum levels of total protein as well as protein fractions were studied in a population consisting of 4,739 atomic bomb survivors and unexposed control subjects in Hiroshima who participated in the 1979-81 period of the Adult Health Study, an on-going health follow-up program of the RERF.

Smoking was strongly related to serum protein concentration after correction for age, sex, and body mass index. Among current smokers as compared to nonsmokers, levels of total protein,  $\beta$  globulin, and  $\gamma$  globulin were significantly lower ( $p < 0.001$ ), and levels of  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  globulin were significantly higher ( $p < 0.001$ ). For serum albumin levels, a decrease was also noted but it failed to attain statistical significance. Exsmokers were indistinguishable from nonsmokers in terms of the serum protein levels analyzed in this paper. With an increase in daily cigarette consumption, monotonic increases of serum levels were observed only in  $\alpha_1$  globulin. Duration of smoking (years) was related to increased  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  globulin. Smoking duration was also associated with albumin level but the trend was not monotonic. The radiation exposure effect on serum protein level was significant in several instances but was in general much smaller than the smoking effect. Its inclusion in the regression models did not noticeably affect the association between smoking and serum proteins.

## Introduction

Smoking habits have been reported to affect the levels of some serum proteins. Dales et al<sup>1</sup> reported that smokers had lower serum albumin and creatinine than nonsmokers in a study of 67,000 men and women aged 15 to 79 in the

---

<sup>§</sup>Full Japanese text will be available separately.

\*Pacific Northwest Laboratory, Richland, Wash

San Francisco Bay area. Das<sup>2</sup> observed higher levels of C-reactive protein in smokers, possibly indicative of inflammation. The objective of this study was to examine the effect of cigarette smoking on serum proteins, both total protein and protein fractions, using the data obtained in a medical follow-up program of atomic bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki. Knowledge of smoking effects on blood chemistries, including serum proteins, will contribute to a better understanding of the results obtained from studies in the field of biochemical epidemiology. Herein, we report results of a regression analysis of the association between smoking habits and the levels of serum proteins.

## Materials and Methods

Since 1958, a program of biennial medical examinations, the Adult Health Study (AHS), has been implemented on a cohort of 20,000 Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors at the clinics of RERF. During the period 1979-81, serum chemistry data including blood protein were collected for 5,198 or 75% of the approximately 7,000 participants in Hiroshima. Total serum protein values were obtained using the biuret reaction method. The constituent protein fractions—albumin,  $\alpha_1$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$  globulin—of the total protein were obtained using cellulose acetate electrophoresis (with a Joko M-1 densitometer). In Nagasaki, an assessment of total protein levels was also performed, but only for a small fraction of the AHS subjects was the total protein separated into constituent proteins, and the method used for this division differed from that used in Hiroshima. Therefore, only Hiroshima data was used in this analysis.

As the source of smoking data, a 1978-80 mail survey was used for 3,507 subjects. For 1,232 of the remaining 1,691 subjects, the smoking information was obtained from records of interviews conducted during the 1968-70 period of the routine clinical AHS examination at RERF. Smoking data was not available for 459 subjects, so they were not included in the analysis presented here. For smokers identified by these two survey methods, additional data originally compiled by Kopecky et al<sup>3</sup> from interview surveys in 1963-64 and 1964-68 was used as the source of information on the age that smoking commenced, since smoking duration had not been asked of current smokers in either the 1978-80 mail survey or the 1968-70 interview. In total, smoking duration data were available for 4,739 of the participants whose serum total protein levels were determined. Additional data used in the analysis included AHS examination diagnosis data collected and listed by ICD 9th code in AHS computer files and estimated radiation exposure.<sup>4,5</sup>

Statistical analysis of the data was conducted as follows: Age at examination, sex, body mass index (BMI), and estimated radiation exposure (kerma) were treated as covariates in separate least squares regression analyses of each of the serum protein measurements against smoking levels. The BMI values (defined as weight in kilograms divided by height in squared meters) were divided into five factor levels, according to whether an individual's BMI value was less than 18, 18-21, 21-24, 24-27, or greater than 27 kg/m<sup>2</sup>. The age-at-examination variable

was grouped into 10-year intervals, while the estimated radiation dose was coded as 0 for the low (0-1.0 Gy) dose level, and 1 for the high (1+ Gy) levels. The linear regression model used is the following:

$$\begin{aligned} \text{SERUM PROTEIN} &= \text{MAIN EFFECT} + \text{AGE AND SEX EFFECTS} \\ &+ \text{RADIATION EFFECT} + \text{BMI EFFECT} + \text{SMOKING EFFECT} + \text{ERROR.} \end{aligned}$$

Besides allowing for the estimation of main effects of each of the covariates, interaction between age and sex was included so that the separate sexes were permitted to have distinct age trends for each of the serum proteins.

Smoking information was incorporated into the analysis in three distinct stages. First, the population was divided into "never-smoker," "current-smoker," and "exsmoker," and levels of two different indicator variables (one for smoking and one for exsmoking) were accordingly assigned. These variables were entered simultaneously with the other covariates to test if either current or exsmokers differed significantly from nonsmokers. Next, a smoking amount variable (coded into 0, 1-29, and 20+ cigarettes/day) was added to ascertain whether significant trends in the blood proteins were related to smoking amount; in this data set very few females reported smoking levels of 20 or more cigarettes/day (as observed in a general Japanese population), so that only males were used in this analysis. Out of 1,604 Hiroshima males, 322 exsmokers were dropped from this part of the analysis, so 1,282 subjects remained. Finally, smoking duration was coded as less than 20, 20-29, 30-39, or 40 or more years at the time of the examination and was entered into the analysis. A total of 4,260 cases with data available from 1963-68 was used in this analysis, including both males and females, but as indicated above exsmokers were excluded.

## Results

The shape of distribution of total serum protein concentration as well as that of all the protein fractions analyzed here approximated normal and, therefore, required no transformation. Table 1 gives the means and standard deviations by age and sex for the serum protein data. Certain general trends by age are evident in Table 1 with, in particular, albumin and  $\beta$  globulin showing decreases with advancing age in both sexes, while  $\alpha_2$  globulin increases. Sex differences and age trends are both accommodated in the regression model described above, so that such trends are not confounded with the smoking results described below.

The parameter estimates in Table 2 are given in the form of comparisons of protein levels of current and exsmokers with the values for nonsmokers. Compared to those who had never smoked, current smokers showed highly significant reductions in total protein,  $\beta$  globulin,  $\gamma$  globulin, and highly significant increases in  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  globulins. Current smokers showed decreased serum albumin levels, although the result was not statistically significant. Exsmokers, however, appeared to be indistinguishable from the never-smokers in levels of all the constituent proteins. There was no sex difference in the effect of smoking on serum proteins evident in Table 2.

Table 1. Means and standard deviations of blood protein

	Age at examination					Total
	<50	50-59	60-69	70-79	80-89	
Hiroshima males						
Number	382	484	347	290	101	1604
Total protein	69.69* 5.03**	69.07 5.14	68.52 4.73	67.62 4.86	65.91 4.97	68.64 5.12
Albumin	45.80 3.69	44.23 3.31	43.09 2.99	41.52 3.23	39.97 3.67	43.60 3.95
$\alpha_1$ Globulin	2.65 0.55	2.65 0.48	2.63 0.50	2.64 0.51	2.59 0.46	2.64 0.50
$\alpha_2$ Globulin	5.95 1.01	6.09 0.98	6.20 1.13	6.18 1.06	6.14 1.16	6.10 1.07
$\beta$ Globulin	6.17 0.94	6.20 1.18	6.16 0.98	6.04 1.05	5.91 1.30	6.14 1.10
$\gamma$ Globulin	8.92 2.46	9.73 3.07	10.26 3.10	11.12 3.97	11.14 3.17	9.99 3.30
Hiroshima females						
Number	602	1162	742	488	141	3135
Total protein	68.87* 4.58**	69.72 4.86	68.94 4.47	67.63 4.71	66.93 5.01	68.92 4.84
Albumin	43.51 2.85	43.73 3.20	42.93 3.03	41.71 3.00	40.51 3.06	43.04 3.26
$\alpha_1$ Globulin	2.46 0.48	2.54 0.47	2.61 0.48	2.60 0.47	2.65 0.45	2.55 0.47
$\alpha_2$ Globulin	5.86 0.93	6.24 0.96	6.40 1.01	6.48 1.03	6.44 0.91	6.25 0.99
$\beta$ Globulin	6.26 1.00	6.28 0.98	6.27 0.92	6.19 0.95	6.08 0.90	6.25 0.95
$\gamma$ Globulin	10.59 2.49	10.75 2.82	10.55 2.61	10.48 2.94	11.08 3.28	10.65 2.85

\*Means

\*\*Standard deviations

Units of serum proteins are g/L.

Table 2. Smoking habit and serum protein concentration

	Smokers		Exsmokers	
	Estimate	SE	Estimate	SE
Total protein				
Males	-1.27*	0.35	-0.40	0.42
Females	-0.94**	0.26	-0.20	0.47
Albumin				
Males	-0.46	0.24	-0.18	0.28
Females	-0.06	0.17	0.05	0.32
$\alpha_1$ Globulin				
Males	0.16**	0.04	-0.01	0.04
Females	0.15**	0.03	0.00	0.05
$\alpha_2$ Globulin				
Males	0.23**	0.07	-0.03	0.09
Females	0.21**	0.05	-0.03	0.10
$\beta$ Globulin				
Males	-0.25**	0.07	-0.08	0.07
Females	-0.23**	0.05	0.02	0.10
$\gamma$ Globulin				
Males	-0.98**	0.21	-0.11	0.25
Females	-0.99**	0.16	-0.24	0.29

Parameter estimates show the estimated average differences in protein levels of smokers and exsmokers compared to nonsmokers. Units are in g/L.

\*Smoking effect significant at  $p < 0.01$

\*\*Smoking effect significant at  $p < 0.001$

After excluding the exsmokers, daily cigarette consumption (current smoking amount) was included in the regression models. There was a statistically significant trend in the smoking effect for one of the constituent proteins,  $\alpha_1$  globulin (Table 3). Also observed were apparent increases of serum levels of  $\alpha_2$  globulin, and  $\gamma$  and  $\beta$  globulin with increased smoking dose rate, but the observed trends were not statistically significant. Of the constituents, only for albumin did the dose rate of cigarette smoking not seem to affect the protein level.

Approximately 10% of the Hiroshima subjects examined in 1979-81 were listed as having been diagnosed with inflammation, with almost half of the cases being respiratory in nature (ICD 9th codes 460-487, 490 or 491). In order to assess whether the results reported here for  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  globulin are reflective of inflammation, the regression analysis reported in Table 3 was repeated after including an indicator variable for the presence of any inflammatory disease reported at the time of the 1979-81 examination. This variable was related to significant increases in  $\alpha_1$  globulin, with the estimate of the increase caused by



inflammation equal to 0.07 g/L. However, the strength of the smoking results didn't change significantly after the addition of inflammatory disease as a predictor variable for either  $\alpha_1$  or  $\alpha_2$  globulin.

Table 3. Serum protein levels and amount of daily cigarette consumption, males only

	Cigarettes per day				p for trend*
	1-19		20+		
	Estimate	SE	Estimate	SE	
Total protein	-1.32	0.41	-1.30	0.38	0.9
Albumin	-0.53	0.29	-0.44	0.27	0.7
$\alpha_1$ Globulin	0.11	0.04	0.18	0.04	0.03
$\alpha_2$ Globulin	0.21	0.09	0.32	0.08	0.10
$\beta$ Globulin	-0.25	0.09	-0.28	0.08	0.7
$\gamma$ Globulin	-0.82	0.26	-1.09	0.25	0.17

Regression estimates and their standard errors give the estimated average difference in protein level between the smoking groups and the comparison group of nonsmokers. Units of serum proteins are in g/L.

\*The p-values given are for tests of trend among the smokers in smoking amount for each of the serum proteins.

Smoking duration was a significant predictor of protein amount for three of the constituent proteins (Table 4). There was a significant nonmonotonic trend in albumin level with smoking duration. Smokers who had smoked for less than 20 years showed increased levels of albumin when compared with nonsmokers, but those who smoked for more than 30 years showed a significant decrease. Both  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  globulin levels significantly increased as smoking duration increased.

When estimated A-bomb radiation exposure was considered as a predictor variable in the models for the serum chemistries, positive dose trends were detected both in total protein and in the constituents  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ , and  $\beta$  globulin. These dose-related results have been reported previously.<sup>6</sup> Except for  $\beta$  globulin, there was no indication that the radiation dose effect modified the smoking effect (the smoking and dose effects appeared to be additive). Even for  $\beta$  globulin, where a significant negative interaction between radiation dose and smoking was identified, the smoking effect was much greater than the effects for dose, and the smoking results were essentially unchanged whether or not estimated radiation dose was included as an explanatory variable in the model.

Table 4. Serum protein level and duration of smoking and serum

		Duration in years				p for trend*
		<20	20-39	30-49	40	
Total protein	estimate	-0.09	-1.23	-1.03	-1.24	0.7
	SE	0.41	0.34	0.32	0.36	
Albumin	estimate	0.60	-0.02	-0.58	-0.76	0.0001
	SE	0.27	0.23	0.21	0.24	
$\alpha_1$ Globulin	estimate	0.10	0.11	0.21	0.19	0.03
	SE	0.04	0.03	0.03	0.04	
$\alpha_2$ Globulin	estimate	-0.05	0.20	0.39	0.35	0.0003
	SE	0.09	0.07	0.07	0.08	
$\beta$ Globulin	estimate	-0.27	-0.24	-0.29	-0.16	0.4
	SE	0.08	0.07	0.07	0.07	
$\gamma$ Globulin	estimate	-1.28	-1.23	-0.72	-0.90	0.10
	SE	0.25	0.20	0.19	0.22	

Estimates of smoking duration effect for smokers after excluding exsmokers give the estimated average difference in protein level between the smoking groups and the comparison group of nonsmokers. Units of estimates (as well as serum protein concentrations) are in g/L.

\*The p-values given are for tests of trend among the smokers in smoking duration for each of the serum proteins.

## Discussion

Highly statistically significant relationships between blood protein levels and smoking were evident in the AHS protein data. Serum levels in smokers differed by about 1%-7% from levels in nonsmokers, depending upon which constituent protein is considered. In current smokers,  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  globulin were observed to be monotonically increased with a higher amount of daily cigarette consumption or with a longer duration of smoking. On the other hand, total protein,  $\beta$  globulin and  $\gamma$  globulin levels decreased in nonsmokers. Levels in exsmokers were not significantly different from those in nonsmokers for any constituent protein. This observation suggests that the effect of smoking on serum protein fractions disappeared within a relatively short period after the subjects stopped smoking. As much as a 10-year difference between the dates of current smoking information and serum protein determination exists for one fourth of this population, which represents a limitation of the study. However, excluding those data did not significantly change our results.

For albumin, there was a nonmonotonic trend in duration with short-term smokers showing increases in albumin values and long-term smokers showing significant decreases. The findings for albumin are thus not entirely consistent with Dales et al,<sup>1</sup> who reported decreases in albumin level for smokers.

Increases in  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  globulins are consistent with the finding of Das<sup>2</sup> that C-reactive protein levels are higher among smokers. Although the association was observed even among those subjects without clinically evident inflammatory disease, we cannot deny the possibility of an involvement of subclinical inflammatory conditions in the observed increases of those protein fractions in smokers.

Epidemiological studies of diseases including cancer based on stored serum samples have the advantage of avoiding biases of subject recall. This so-called biochemical epidemiology<sup>7,8</sup> poses a new problem in serum chemistry: a possible relationship between serum chemistry measurements and known risk factors of disease. While questionnaire-based epidemiological studies rarely include biological measurements, biochemical epidemiological studies often cannot consider subject characteristics such as personal habits since questionnaires are not always administered. The kinds of smoking-serum chemistry associations reported here almost certainly ensure that smoking will confound serum chemistry-disease associations unless information about smoking behavior is obtained and considered in data analysis. On the other hand, for a given disease, increased disease incidence may result from the fact that serum chemistries are altered; smoking behavior would seem to have the potential to seriously distort an investigator's evaluation of epidemiological relationships to disease occurrence.

In summary, smoking was negatively associated with levels of total protein,  $\beta$  globulin, and  $\gamma$  globulin, and were positively related to levels of  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  globulins. For serum albumin, a nonmonotonic trend with smoking duration was observed.

### **Acknowledgment**

This work has been partly supported by the Human Health and Assessments Division of the US Department of Energy under contract DE-AC06-76RLO-1830.

## References

1. Dales LG, Friedman GD, Siegelau AB, Seltzer CC: Cigarette smoking and serum chemistry tests. *J Chron Dis* 27:293-307, 1974
2. Das I: Raised C-reactive protein levels in serum from smokers. *Clin Chim Acta* 153:9-13, 1985
3. Kopecky KJ, Nakashima E, Yamamoto T, Kato H: Lung cancer, radiation, and smoking among A-bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki. *REF TR* 13-86
4. Roesch WC (Ed): *US-Japan Joint Reassessment of Atomic Bomb Radiation Dosimetry in Hiroshima and Nagasaki. Final Report, 2 Vols.* Radiation Effects Research Foundation, Hiroshima, 1987
5. Preston DL, Pierce DA: The effect of changes in dosimetry on cancer mortality risk estimates in the atomic bomb survivors. *Radiat Res* 114:437-66, 1988 (*REF TR* 9-87)
6. Neriishi K, Matsuo T, Ishimaru T, Hosoda Y: Radiation exposure and serum protein  $\alpha$ ,  $\beta$  globulin fraction. *Nagasaki Med J* 61:449-54, 1986 (In Japanese)
7. Gordis L: Challenges in epidemiology in the coming decade. *Am J Epidemiol* 112:315-21, 1980
8. Greenberg BG: The future of epidemiology. *J Chron Dis* 36:353-9, 1983

広島原爆被爆者における喫煙と血清蛋白の関連について  
Smoking and Serum Proteins in Atomic Bomb Survivors  
in Hiroshima

Daniel O. Stram, 秋葉澄伯, 鍊石和男, Richard G. Stevens, 細田 裕

## 放影研業績報告書シリーズ

### RERF Technical Report Series

業績報告書は、放射線影響研究所で行われたオリジナルな研究を報告するためのものである。このシリーズに含まれる報告書は、研究所内外の専門家による検討を受けたものであり、その一部又は全文は学術雑誌への投稿原稿としても用いられる。本報告書を引用したり、参考文献として言及しても差し支えないが、本報告書自体は当研究所の内部出版物である。報告書の入手を希望される場合は、〒732 広島市南区比治山公園5-2 放影研編集課あてにお申し込み下さい。

1989年から、放射線影響研究所の業績報告書は、従来の日英両文を併記した方式では発行しない。主要な報告書については、今後も日英両文で印刷するが、それぞれ別に発行する。内容が高度に専門的であり、一般の関心が少ないと思われる報告書については英文のみとし、日本文の要約を添付する。

これにより、広島・長崎の原爆電離放射線被曝の人体に及ぼす晩発性生物学的影響に関する最近の知見を今までよりも速やかにお知らせできることと思う。

放射線影響研究所(元 ABCC)は、昭和50年4月1日に公益法人として発足した。その経費は日米両国政府の平等分担とし、日本は厚生省の補助金、米国はエネルギー省との契約に基づく米国学士院の補助金とをもって充てる。

## 広島原爆被爆者における喫煙と血清蛋白の関連について Smoking and Serum Proteins in Atomic Bomb Survivors in Hiroshima

Daniel O. Stram<sup>1</sup>, 秋葉澄伯<sup>2</sup>, 鎌石和男<sup>3</sup>, Richard G. Stevens\*, 細田 裕<sup>3</sup>

<sup>1</sup>統計部, <sup>2</sup>疫学部及び<sup>3</sup>臨床研究部

### 要 約

1979-81年の期間に放影研の健康追跡調査である成人健康調査に参加した広島原爆被爆者及び非被曝の対照者4,739人を対象に、喫煙習慣と血清総蛋白レベル及びその分画レベルとの関連を検討したところ、年齢、性、都市、肥満指数などを補正した後でも、喫煙と血清蛋白濃度との間に強い関連がみられた。喫煙者は非喫煙者に比べ、総蛋白、 $\beta$ グロブリン、 $\gamma$ グロブリンのレベルが有意に低く( $p < 0.001$ )、 $\alpha_1$ グロブリンと $\alpha_2$ グロブリンのレベルが有意に高かった( $p < 0.001$ )。血清アルブミンレベルは減少する傾向が認められたものの統計学的に有意ではなかった。本報で解析された血清蛋白レベルに関する限り、禁煙者と非喫煙者との間に差は見いだし得なかった。また、 $\alpha_1$ グロブリンのみは、1日の紙巻煙草喫煙本数が上昇するとともに単調に増加していた。一方、 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ グロブリンレベルは喫煙期間(年)と共に上昇していた。喫煙期間はアルブミンレベルとも関連していたが、単調な増加又は減少傾向ではなかった。放射線被曝は幾つかの場合、血清蛋白レベルと有意に関連していたが、その影響は全般的に喫煙のそれに比べ弱く、回帰モデルにこれを含めても、喫煙と血清蛋白に関する結果に大きな変化はみられなかった。

### 緒 言

喫煙は血清蛋白レベルに影響を及ぼすことが報告されている。Dalesら<sup>1</sup>は、San Francisco湾地域の15歳から79歳までの男女67,000人の調査で喫煙者は非喫煙者よりも血清アルブミン及びクレアチニンレベルが低いことを報告した。Das<sup>2</sup>は、喫煙者の方がC反応蛋白レベルが

---

本報告の英語版は別に発行した。

\*Washington州, Richland市, Pacific Northwest Laboratory

高いことを認めたが、これは炎症があることを示しているのにすぎないかもしれない。本調査の目的は、広島・長崎の原爆被爆者の健康追跡調査で得られたデータを用いて、喫煙が血清蛋白、すなわち総蛋白及び蛋白分画両方に及ぼす影響を調べることである。このような研究により、喫煙が血清蛋白など血液化学に及ぼす影響を知れば、生化学疫学分野の研究から得られた結果をより良く理解できるであろう。本報においては、喫煙習慣と血清蛋白レベルの関連性の回帰解析の結果を報告する。

## 材料及び方法

広島・長崎の原爆被爆者20,000人のコホートを放影研の診察室で2年ごとに検診する成人健康調査(AHS)が1958年以来実施されている。1979-81年の期間中、広島の約7,000人の受診者の75%に当たる5,198人について血清蛋白を含む血清化学データを収集した。総血清蛋白値はビュレット反応法を用いて得た。セルロースアセテート電気泳動法(Joko M-1濃度計使用)を用いて総蛋白の構成蛋白分画であるアルブミン、 $\alpha_1$ グロブリン、 $\beta_1$ グロブリン、 $\beta$ グロブリン、及び $\gamma$ グロブリンを得た。長崎においても総蛋白レベルの評価を行ったが、成人健康調査のうち少数の対象者についてのみ総蛋白を構成蛋白に分離した。この分離に用いた方法は広島で用いた方法とは異なるものであった。したがって、本解析では広島のデータのみを用いた。

喫煙データの入手源として、3,507人の対象者について1978-80年の郵送調査を用いた。残り1,691人の対象者のうち1,232人の喫煙情報は、1968-70年の期間に、放影研の成人健康調査の通常検査のときに行われた面接記録から得たものである。459人の対象者の喫煙データは入手できなかったため、その対象者は本報の解析には含めなかった。これら二つの調査法により確認された喫煙者については、1978-80年の郵送調査でも1968-70年の面接調査でも喫煙者に喫煙期間を尋ねなかったため、1963-64年及び1964-68年の面接調査から Kopecky ら<sup>3</sup>が集めた追加データを、喫煙開始年齢に関する情報源として用いた。全体として、血清総蛋白レベルを測定した受診者のうち、4,739人の喫煙期間についてのデータが入手できた。解析に用いたその他の追加データは、ICD第9版コードを用いて成人健康調査コンピュータファイルに記載された成人健康調査診察診断データ及び推定放射線被曝線量である。<sup>4,5</sup>

診察時年齢、性、肥満指数の一つである身体質量指数(BMI値)及び推定放射線被曝線量を、喫煙レベルに対する各血清蛋白測定値の個別の最小二乗回帰解析の共変量として扱い、データの統計解析を行った。個人の身体質量指数値〔体重(kg)/身長( $m^2$ )〕が $18\text{ kg}/m^2$ 未満、 $18-21\text{ kg}/m^2$ 、 $21-24\text{ kg}/m^2$ 、 $24-27\text{ kg}/m^2$ 又は $27\text{ kg}/m^2$ 以上であるかどうかに従って、身体質量指数値を五つの因子レベルに区分した。診察時年齢変数は10年間隔に分類し、推定放射線量は低線量(0-1.0 Gy)レベルを0、高線量(1+ Gy)レベルを1とコードした。使用した線形回帰モデルは以下のとおりである。



血清蛋白＝主要効果十年齢及び性の効果＋放射線の効果  
 ＋身体質量指数の効果＋喫煙の効果＋誤差

各共変量の推定主効果を考慮に入れたほか、男女それぞれが各血清蛋白について明確な年齢傾向を示すように年齢と性の相互作用を含めた。

喫煙情報は三つの異なる段階に分けて解析した。まず、母集団を「非喫煙者」、「喫煙者」、「禁煙者」に分け、二つの異なる指示変数（喫煙及び禁煙）値をそれぞれに付与した。喫煙者あるいは禁煙者が非喫煙者と比べて有意な差があるかどうかを調べるために他の共変量と同時にこれらの変数を加味した。次に、血清蛋白における有意傾向と喫煙量との関連性を確認するために喫煙量変数（0本/日、1－29本/日及び20本以上/日にコード）を加えた。このデータセットにおいて、（日本人の一般集団で観察されるように）1日20本以上の喫煙レベルを報告した女性はごく少数だったので、そのような解析には男性のみを用いた。広島男性1,604人のうち禁煙者322人がこの解析部分からはずされたので、残った対象者は1,282人であった。最後に、喫煙期間は診察時に20年未満、20－29年、30－39年又は40年以上とコードし、解析に入れた。1963－68年の面接調査からデータが入手可能な男女を含めた計4,260症例を本解析に用いたが、上記のとおり、禁煙者は除外した。

## 結 果

総血清蛋白濃度の分布型も、本報で解析されたすべての蛋白分画の分布型も、正規分布に近く、変換の必要はなかった。表1は、血清蛋白データの平均値及び標準偏差を年齢及び性別に示している。表1では年齢別の一定の一般的傾向が認められ、特にアルブミン及び $\beta$ グロブリンは男女とも加齢と共に減少傾向を示すが、 $\alpha_2$ グロブリンは増加傾向を示している。性差及び年齢傾向は両方とも上記の回帰モデルにおいて考慮されており、これらの因子が下記の喫煙に関する結果に交絡することはない。

表2のパラメータ推定値は、喫煙者及び禁煙者の蛋白レベルと非喫煙者の蛋白レベルとの差を示している。喫煙未経験者と比べ喫煙者は総蛋白、 $\beta$ グロブリン、 $\gamma$ グロブリンが有意に減少しており、一方 $\alpha_1$ グロブリン及び $\alpha_2$ グロブリンが有意に増加していた。喫煙者の血清アルブミンレベルは低い傾向を示したが統計学的に有意でなかった。しかし、どの蛋白分画レベルをみても禁煙者と非喫煙者との区別はつかないように思われた。表2で明らかなように血清蛋白に及ぼす喫煙の影響には性差はなかった。

回帰モデルから禁煙者を除外した後、これに1日の紙巻煙草喫煙本数（現在の喫煙量）を追加した。このモデルによる解析でも、構成蛋白の一つである $\alpha_1$ グロブリンについては喫煙の影響が統計学的に有意であった（表3）。また、喫煙量の増加に伴い $\alpha_2$ グロブリン、 $\gamma$ グロブリン

表 1. 血清蛋白の平均値及び標準偏差

	検査時年齢					Total
	<50	50-59	60-69	70-79	80-89	
	広島 男					
被検者数	382	484	347	290	101	1604
総蛋白	69.69* 5.03**	69.07 5.14	68.52 4.73	67.62 4.86	65.91 4.97	68.64 5.12
アルブミン	45.80 3.69	44.23 3.31	43.09 2.99	41.52 3.23	39.97 3.67	43.60 3.95
$\alpha_1$ グロブリン	2.65 0.55	2.65 0.48	2.63 0.50	2.64 0.51	2.59 0.46	2.64 0.50
$\alpha_2$ グロブリン	5.95 1.01	6.09 0.98	6.20 1.13	6.18 1.06	6.14 1.16	6.10 1.07
$\beta$ グロブリン	6.17 0.94	6.20 1.18	6.16 0.98	6.04 1.05	5.91 1.30	6.14 1.10
$\gamma$ グロブリン	8.92 2.46	9.73 3.07	10.26 3.10	11.12 3.97	11.14 3.17	9.99 3.30
	広島 女					
被検者数	602	1162	742	488	141	3135
総蛋白	68.87* 4.58**	69.72 4.86	68.94 4.47	67.63 4.71	66.93 5.01	68.92 4.84
アルブミン	43.51 2.85	43.73 3.20	42.93 3.03	41.71 3.00	40.51 3.06	43.04 3.26
$\alpha_1$ グロブリン	2.46 0.48	2.54 0.47	2.61 0.48	2.60 0.47	2.65 0.45	2.55 0.47
$\alpha_2$ グロブリン	5.86 0.93	6.24 0.96	6.40 1.01	6.48 1.03	6.44 0.91	6.25 0.99
$\beta$ グロブリン	6.26 1.00	6.28 0.98	6.27 0.92	6.19 0.95	6.08 0.90	6.25 0.95
$\gamma$ グロブリン	10.59 2.49	10.75 2.82	10.55 2.61	10.48 2.94	11.08 3.28	10.65 2.85

\*平均値

\*\*標準偏差

血清蛋白単位は g/L

表 2. 喫煙習慣と血清蛋白濃度

	喫煙者		禁煙者	
	推定値	標準誤差	推定値	標準誤差
総蛋白				
男	-1.27*	0.35	-0.40	0.42
女	-0.94**	0.26	-0.20	0.47
アルブミン				
男	-0.46	0.24	-0.18	0.28
女	-0.06	0.17	0.05	0.32
$\alpha_1$ グロブリン				
男	0.16**	0.04	-0.01	0.04
女	0.15**	0.03	0.00	0.05
$\alpha_2$ グロブリン				
男	0.23**	0.07	-0.03	0.09
女	0.21**	0.05	-0.03	0.10
$\beta$ グロブリン				
男	-0.25**	0.07	-0.08	0.07
女	-0.23**	0.05	0.02	0.10
$\gamma$ グロブリン				
男	-0.98**	0.21	-0.11	0.25
女	-0.99**	0.16	-0.24	0.29

パラメータ推定値は、非喫煙者と比較した喫煙者及び禁煙者の蛋白レベルの推定平均差を示している。単位は g/L.

\* $p < 0.01$  で喫煙の影響有意

\*\* $p < 0.001$  で喫煙の影響有意

表 3. 血清蛋白レベル及び1日の紙巻煙草喫煙本数, 男性のみ

	1日の紙巻煙草喫煙本数				p 値*
	1-19		20+		
	推定値	標準誤差	推定値	標準誤差	
総蛋白	-1.32	0.41	-1.30	0.38	0.9
アルブミン	-0.53	0.29	-0.44	0.27	0.7
$\alpha_1$ グロブリン	0.11	0.04	0.18	0.04	0.03
$\alpha_2$ グロブリン	0.21	0.09	0.32	0.08	0.10
$\beta$ グロブリン	-0.25	0.09	-0.28	0.08	0.7
$\gamma$ グロブリン	-0.82	0.26	-1.09	0.25	0.17

回帰推定値及びその標準誤差により、喫煙群と非喫煙比較群との蛋白レベルの推定平均差を示す。血清蛋白の単位は g/L.

\*各血清蛋白の p 値は喫煙量における喫煙者間の傾向検定値である。

及び $\beta$ グロブリンの血清レベルの増加も観察されたが、これは統計学的に有意ではなかった。構成蛋白のうち、喫煙量が蛋白レベルに影響を及ぼさないように思われたのはアルブミンだけであった。

1979-81年に受診した広島の対象者の約10%は炎症ありと診断されたと記載され、その症例のほぼ半数は呼吸器系疾患であった (ICD 第9版コード 460-487, 490又は491)。 $\alpha_1$ グロブリン及び $\alpha_2$ グロブリンについて、本報で報告された結果が炎症の存在を反映しているかどうかを評価するために、1979-81年の検診時に報告された炎症性疾患の存在の指示変数を加えた後に、表3で報告された回帰解析を繰り返した。この変数は $\alpha$ グロブリンの有意な増加と関連があり、炎症により0.07g/L増加するものと推定された。しかし、予測変数として炎症性疾患を加えても $\alpha_1$ グロブリン又は $\alpha_2$ グロブリンと喫煙の関連に関する結果に有意な変化はみられなかった。

喫煙期間は、三つの構成蛋白の蛋白量の有意な予測因子であった (表4)。喫煙期間に関しアルブミンレベルは有意な非単調傾向を示した。喫煙歴20年未満の喫煙者は非喫煙者と比べてアルブミンレベルの増加を示したが、喫煙歴30年以上の喫煙者は有意な減少を示した。喫煙期間が長くなるにつれ $\alpha_1$ 及び $\alpha_2$ グロブリンレベルは有意に増加した。

表4. 血清蛋白レベルと喫煙期間

		喫煙期間 (年)				p 値*
		<20	20-39	30-49	≥40	
総蛋白	推定値	-0.09	-1.23	-1.03	-1.24	0.7
	標準誤差	0.41	0.34	0.32	0.36	
アルブミン	推定値	0.60	-0.02	-0.58	-0.76	0.0001
	標準誤差	0.27	0.23	0.21	0.24	
$\alpha_1$ グロブリン	推定値	0.10	0.11	0.21	0.19	0.03
	標準誤差	0.04	0.03	0.03	0.04	
$\alpha_2$ グロブリン	推定値	-0.05	0.20	0.39	0.35	0.0003
	標準誤差	0.09	0.07	0.07	0.08	
$\beta$ グロブリン	推定値	-0.27	-0.24	-0.29	-0.16	0.4
	標準誤差	0.08	0.07	0.07	0.07	
$\gamma$ グロブリン	推定値	-1.28	-1.23	-0.72	-0.90	0.10
	標準誤差	0.25	0.20	0.19	0.22	

禁煙者を除外した後の喫煙者の喫煙期間の影響の推定値により、喫煙群と非喫煙比較群の蛋白レベルの推定平均差を示す。推定値 (及び血清蛋白濃度) の単位は g/L。

\*各血清蛋白の p 値は喫煙期間における喫煙者間の傾向検定値である。

血清化学を調べるモデルにおいて推定原爆放射線被曝線量を予測変数と考えた場合、総蛋白においても構成成分 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 及び $\beta$ グロブリンにおいても正の線量傾向が認められた。これらの線量に関連した結果は前報<sup>6</sup>で報告されている。 $\beta$ グロブリンを除き、放射線量の影響が喫煙の影響を変えるという徴候はなかった（喫煙及び線量の影響は相加的であるように思われた）。放射線量と喫煙の有意かつ負の相互関係が認められた $\beta$ グロブリンにおいてさえも、喫煙の影響は線量の影響よりもずっと大きく、推定放射線量が説明変数としてモデルに含まれようと含まれまいと喫煙結果は本質的に変化しなかった。

## 考 察

成人健康調査蛋白質データにおいて血清蛋白レベルと喫煙の関係が統計学的に有意であることが認められた。構成蛋白の種類により喫煙者の血清レベルは非喫煙者の血清レベルと約1%～7%異なっていた。 $\alpha_1$ 及び $\alpha_2$ グロブリンは、喫煙者において増加し、1日当たり紙巻タバコ喫煙量が増加するにつれ、又は喫煙期間が長くなるにつれ、単調に増加することが認められた。他方、総蛋白、 $\beta$ グロブリン及び $\gamma$ グロブリンレベルは非喫煙者において減少した。どの構成蛋白についても禁煙者の蛋白レベルは非喫煙者のレベルと有意な差はなかった。この観察結果は、喫煙の血清蛋白分画に及ぼす影響は、対象者が禁煙開始後比較的短期間内に消滅したことを示唆している。現在の喫煙情報の時期と血清蛋白定量の時期との間に10年の差がある者が本母集団の $\frac{1}{4}$ に存在し、本研究の限界を示している。しかし、そのデータを除外しても結果には有意な差はもたらさなかった。

アルブミンについては、喫煙期間に非単調傾向が認められ、短期喫煙者はアルブミンレベルの増加を示し、長期喫煙者は有意な減少を示した。アルブミンに関する所見は、このように、喫煙者のアルブミンレベルは減少すると報告した Dales ら<sup>1</sup>の所見と完全に一致するものではない。

$\alpha_1$ グロブリン及び $\alpha_2$ グロブリンの増加は、C反応蛋白レベルは喫煙者の方が高いという Das<sup>2</sup>の所見と一致している。臨床的に炎症性疾患が認められない対象者でさえもこの関連性が認められたが、喫煙者に認められた蛋白分画の増加に不顕性の炎症状態が関連している可能性を否定することはできない。

癌を含む疾患の疫学的研究を、保存血清標本に基づいて行えば、対象者の記憶の偏りを避けられるという利点がある。このいわゆる生化学的疫学<sup>7,8</sup>は血清化学に、血清化学測定値と既知の疾患危険因子との関係という新たな問題を提起する。アンケートに基づく疫学調査に生物学的測定が含まれることはまれであるが、生化学的疫学調査では、いつでもアンケートが行われるわけではないので、個人的習慣のような対象者の特徴を考慮に入れることはほとんどない。しかし、本報で報告されたような喫煙と血清化学との関連性を考えれば、喫煙習慣に

ついて情報を得て、データ解析において考慮しない限り、喫煙が血清化学と疾患との関連性を交絡させることはほぼ間違いない。他方、特定の疾患の場合、発病率の増加は血清化学が変化するという事実に起因するかもしれないが、喫煙の影響を無視すると、疾病と血清化学的指標の疫学的関係についての研究結果を大きく歪曲する可能性があるように思われる。

要約すれば、喫煙は、総蛋白、 $\beta$ グロブリン及び $\gamma$ グロブリンの各レベルと負の関係にあり、 $\alpha_1$ グロブリン及び $\alpha_2$ グロブリンの各レベルと正の関係にある。血清アルブミンについては喫煙期間に対して非単調的傾向が認められた。

## 謝 辞

契約 DE-AC06-76 RLO-1830 に基づき、米国エネルギー省保健・評価部が部分的に本研究を支援してきた。

## 参考文献

1. Dales LG, Friedman GD, Siegelau AB, Seltzer CC: Cigarette smoking and serum chemistry tests. *J Chron Dis* 27:293-307, 1974
2. Das I: Raised C-reactive protein levels in serum from smokers. *Clin Chim Acta* 153:9-13, 1985
3. Kopecky KJ, Nakashima E, Yamamoto T, Kato H: Lung cancer, radiation, and smoking among A-bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki. RERF TR 13-86
4. Roesch WC (Ed): US-Japan Joint Reassessment of Atomic Bomb Radiation Dosimetry in Hiroshima and Nagasaki. Final Report, 2 Vols. Radiation Effects Research Foundation, Hiroshima, 1987
5. Preston DL, Pierce DA: The effect of changes in dosimetry on cancer mortality risk estimates in the atomic bomb survivors. *Radiat Res* 114:437-66, 1988 (RERF TR 9-87)
6. Neriishi K, Matsuo T, Ishimaru T, Hosoda Y: Radiation exposure and serum protein  $\alpha$ ,  $\beta$  globulin fraction. *Nagasaki Med J* 61:449-54, 1986 (In Japanese)
7. Gordis L: Challenges in epidemiology in the coming decade. *Am J Epidemiol* 112:315-21, 1980
8. Greenberg BG: The future of epidemiology. *J Chron Dis* 36:353-9, 1983