



# 岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

## 男性血中エストロジェンと頸動脈内膜中膜肥厚の関連

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-07-16 キーワード: estradiol, Intimal-medial thickness (IMT), atherosclerosis, atherosclerotic risk factor 作成者: 小久保, 佳明, 武田, 則之, 佐藤, まゆみ メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/12368">http://hdl.handle.net/20.500.12099/12368</a>

## 男性血中エストロゲンと頸動脈内膜中膜肥厚の関連

小久保佳明, 武田 則之, 佐藤まゆみ, 佐々木昭彦, 川地 慎一,  
高見利恵子, 林 慎, 高見 和久, 山北 宜由, 安田 圭吾

岐阜大学医学部免疫アレルギー内分泌学講座内分泌代謝病態学分野  
(主任 安田圭吾教授)

## Association between Endogenous Estrogen and Intimal-medial Thickness of Common Carotid Artery in Man

Yoshiaki KOKUBO, Noriyuki TAKEDA, Mayumi SATO, Akihiko SASAKI,  
Shin-ichi KAWACHI, Rieko TAKAMI, Makoto HAYASHI, Kazuhisa TAKAMI,  
Noriyoshi YAMAKITA and Keigo YASUDA

*Department of Endocrinology, Diabetes and Rheumatology, Division of Bioregulatory Medicine, Gifu University School of Medicine*

(Director: Prof. K. YASUDA)

The role of estrogen for atherosclerotic cardiovascular disease is controversial. In order to examine the role of endogenous estrogens for atherosclerotic disease in men, we investigated the association of estradiol and bioavailable estradiol with intimal-medial thickness of the common carotid artery and various atherosclerotic risk factors in apparently healthy men. The study subjects were 351 healthy men with a mean age and body mass index of 50.8yr and 23.4kg/m<sup>2</sup>. Serum lipids, glucose insulin, estradiol and sex hormone binding globulin (SHBG) were measured. Bioavailable estradiol was calculated from the values of estradiol, SHBG and serum albumin. Intimal-medial thickness (IMT) of common carotid artery was measured by B-mode ultrasound. Abdominal subcutaneous (ASF) and intraabdominal fat (IAF) area by CT scan were measured. Correlation coefficients were calculated by Spearman's rank correlation. There were positive correlations of carotid IMT with serum estradiol and bioavailable estradiol before and after adjustment for variables which themselves showed correlations with carotid IMT including age, BMI, glucose tolerance, fasting plasma insulin, HDL-cholesterol and systolic blood pressure. Among atherosclerotic factors tested only fasting plasma glucose showed a weak but significant correlation with serum estradiol. On the other hand, IAF, fasting plasma glucose and triglyceride were correlated with bioavailable estradiol. These results indicate that serum estrogen in men is associated with early carotid atherosclerosis independent of conventional atherosclerotic risk factors. Although cause-effect relation is not known, the association observed in this study does not support widely believed cardioprotective effects of estrogen.

Acta Sch Med Univ Gifu 51:44-50 (2003)

Key words : estradiol, Intimal-medial thickness (IMT), atherosclerosis, atherosclerotic risk factor

### 緒 言

動脈硬化性心血管疾患の頻度には性差があり, 例えば冠動脈疾患死亡率の高い国でも低い国でも男性の死亡率は女性の2.5~4.5倍である<sup>1)</sup>。さらに女性は閉経後に動脈硬化性心血管疾患のリスクが高くなる。これらの事実はエストロゲンが動脈硬化性心血管疾患に対し防御的に働く可能性を示唆する。そのような仮説に基づき多くの研究が実施されてきた。エストロゲンの心血管に対

する保護作用<sup>2)</sup>は動脈硬化の危険因子に対する効果を介する間接作用と循環系構成細胞に対する直接作用がある。前者としてはLDLコレステロールを低下させHDLコレステロールを上昇させるなどの脂質代謝の改善や糖代謝の改善, 降圧作用などが含まれる。後者にはエストロゲンが血管内皮細胞や血管平滑筋に作用して血管を拡張させる作用や, 血管障害時に内皮細胞の修復を促進し平滑筋の増殖を抑制することにより動脈硬化の進展を抑制するなどの作用がある。

近年、男性においてもエストロジェンの重要な生理的役割が明らかにされている。エストロジェン受容体欠損やアンドロジェンをエストロジェンに転換するアロマターゼ欠損のためにエストロジェン作用が発現しない男性では骨年齢の遅延や骨粗鬆症を来すなど種々の異常が報告され、さらにそれらの遺伝子のノックアウトマウスにおいても同様の異常が認められている<sup>3)</sup>。これらの知見は男性の正常な骨の成長や代謝回転におけるエストロジェンの重要性を示している。さらに、エストロジェン受容体欠損男性例では血管内皮細胞機能の低下<sup>4)</sup>や冠動脈の石灰化<sup>5)</sup>が認められており、男性でのエストロジェンの心血管系に対する保護作用の根拠の一つとされている。

エストロジェンの心血管作用と最も密接に関連した臨床の問題は閉経後女性に対するエストロジェンあるいはエストロジェンとプロジェステンを投与するホルモン補充療法の動脈硬化性心血管疾患に対する効果である。これまでの多くの疫学的観察研究でホルモン補充療法を受けた女性では心血管疾患の発症が少ないとする結果が得られている<sup>6)</sup>。

このようなエストロジェンの心血管保護作用を支持する多くの研究結果を背景に、閉経後女性に対するホルモン補充療法による心血管疾患の2次<sup>7)</sup>および1次予防<sup>8)</sup>の効果を検討する2つの大規模無作為割付試験が実施された。これらの大規模研究はエストロジェンの動脈硬化性心疾患に対する効果を最終的に確立するものと期待されていた。ところが、最近公表された結果では、ホルモン補充療法により心血管疾患<sup>7,8)</sup>、脳卒中<sup>8)</sup>は減少せず、むしろ増加すると言う驚くべき成績が得られ、強い衝撃を与えた。実は、既に30年前に男性の虚血性心疾患患者でエストロジェン投与の効果を検討した Coronary drug projectにおいて心筋梗塞が多発することが観察されている<sup>9)</sup>。今回の女性での心血管疾患の2次予防試験での心血管イベント発症の時間経過が Coronary drug project のそれと酷似していることも指摘されている<sup>10)</sup>。現在、エストロジェンの心血管系に対する作用は見直しやさらなる検討が必要な段階に至っている。

本研究で我々は、初期動脈硬化の指標として使用されている超音波による頸動脈内膜・中膜肥厚測定を人間ドック受診男性で実施し、男性の内因性 estradiol や bioavailable estradiol と初期動脈硬化との関連を解析した。

## 対象及び方法

対象は1996年から1998年に松波総合病院人間ドック精密コースを受診した男性351人である<sup>11)</sup>。平均年齢 50.8 ± 7.8歳、平均 Body mass index は23.4 ± 2.8kg/m<sup>2</sup>である。この研究の参加前に、対象者すべてから口頭および文章によるインフォームド・コンセントを得た。また、本研究の実施については松波総合病院と岐阜大学医学部附属病院の倫理委員会の許可を得た。対象者には、現病歴と

して糖尿病・高血圧症・高脂血症を有し治療中のものも含め検討しているが、冠動脈疾患の既往がある例や心電図で虚血性変化を伴うものは除外した。Estradiol (E2) の測定には、-20°Cに保存した血清を用い、コマーシャルキットを用いたラジオイムノアッセイ法(RIACOAT・ESTRADIOL・US, 日本シェーリング, 大阪)にて測定した。また、血中において蛋白と結合していない遊離E2を併せて評価するため、Sodergard らの方法<sup>12,13)</sup>に従いE2, SHBG, 血清アルブミン値より bioavailable estradiol (bioavailable E2) を算出した。動脈硬化の指標として、10 MHz プローブを用いて超音波検査 (Logiq500, 横川メディカル, 東京) で計測した総頸動脈内膜中膜複合体厚 (IMT) を用いた。肥満の指標としては、一般的に用いられている body mass index (BMI), CT 検査 (Lemage SX-E, 横川メディカル, 東京) で臍の高さでの内臓脂肪面積 (intra abdominal fat area: IAF) と皮下脂肪面積 (abdominal subcutaneous fat area: ASF) を測定した。また75g 経口ブドウ糖負荷試験を行い、空腹時血糖, 血糖曲線下面積, 空腹時インスリン値を測定した。さらに血清脂質, 血圧も測定した。血清エストロジェン濃度と各種動脈硬化危険因子との相関を解析し、エストロジェンが動脈硬化に与える影響を検討した。解析には Statistical Analysis System (SAS) version 6. 12 for windows (SAS Institute Inc, Cary, NC) を用い、Spearman の順位相関係数によって評価を行った。尚、有意差は P < 0.05 をもって有意とした。

## 結 果

### 1. 血中 estradiol (E2), bioavailable estradiol (bioavailable E2) と脂肪蓄積, 糖脂質代謝指標, 血圧との関連

Table 1 に年齢や estradiol 値, SHBG, bioavailable E2 や脂肪蓄積の指標, 糖脂質代謝の指標, 血圧などの平均値 (mean), 標準偏差 (SD), median range を示した。血清 E2 と年齢, SHBG, 各種の脂肪蓄積の指標, 糖脂質代謝指標, 血圧などとの相関を解析したところ (Table 2), E2 は単相関解析で年齢と相関しなかった。検討した中では腹腔内脂肪 (IAF), 空腹時血糖 (FPG), 中性脂肪 (Triglyceride) とのみ弱い相関を示した。年齢と喫煙を補正すると E2 と IAF および Triglyceride との相関は消失したが FPG との相関は保たれていた。E2 と SHBG は単相関でも年齢と喫煙を補正した解析でも有意の相関を示した。

次に bioavailable E2 についても同様の検討を行った (Table 3)。単相関の解析では bioavailable E2 は E2 と全く同様に年齢と相関せず, IAF, FPG そして Triglyceride と相関を示した。しかし E2 と異なり bioavailable E2 は年齢と喫煙を補正しても FPG のみならず IAF や Triglyceride との相関も保たれていた。bioavailable E2 は SHBG とは相関を示さなかった。

### 2. 頸動脈 IMT と血中 E2, bioavailable E2, 脂肪蓄積の指標, 糖脂質代謝指標, 血圧との相関 (Table 4)

Table 1 Characteristics of the study subjects

Variables		n	Mean	SD	Msedian	Range
Age	(yr)	354	50.8	7.8	51	21.0-73.0
Estradiol	(nmol/l)	354	65.8	24.4	61.8	16.5-178.7
Bioavailable Estradiol	(nmol/l)	302	1.62	0.61	1.55	0.36-4.50
SHBG	(pmol/l)	305	37.4	17.8	32.9	10.1-153.4
Body mass index	(kg/m <sup>2</sup> )	354	23.4	2.8	23.3	16.8-35.3
%Fat	(%)	354	21.5	5.3	21.5	6.5-37.7
IAF	(cm <sup>2</sup> )	349	108.1	50.0	103.3	11.3-286.4
ASF	(cm <sup>2</sup> )	349	123.0	51.6	115.5	20.5-324.1
FPG	(mg/dl)	354	102.5	19.9	98	77-273
FIRI	( $\mu$ U/ml)	354	7.6	4	7.0	3.0-46.0
AUC-PG	(g/dl·min)	351	16.5	5.1	15.4	9.2-48.1
Total cholesterol	(mg/dl)	354	200.7	33.5	200	109-338
Triglyceride	(mg/dl)	354	144.9	98.4	121	41-911
HDL-cholesterol	(mg/dl)	354	52.2	13.9	50	28-104
SBP	(mmHg)	354	123.5	17.8	122	81-182
DBP	(mmHg)	354	78.8	12.0	78.5	37-114
IMT	(mm)	351	0.72	0.14	0.73	0.29-1.23

SHBG: sex hormone-binding globulin FPG: fasting plasma glucose

FIRI: fasitig immuno-reactive insulin

AUC-PG: area under the curve of plasma glucose for 75g oral glucose tolerance test

IAF: intraabdominal fat area ASF: abdominal subcutaneous fat area

IMT: intimal-medial thickness of common carotid artery

Table 2 Correlations of estradiol with adiposity related variables and metabolic variables

	Unadjusted		Adjusted for age and smoking	
	r	p-value	r	p-value
Age	0.024	0.6569	—	—
SHBG	0.180	0.0016*	0.214	0.0003*
Body mass index	-0.006	0.9053	0.018	0.7509
%Fat	-0.065	0.2260	-0.052	0.3474
IAF	0.115	0.0320*	0.091	0.1018
ASF	-0.027	0.6142	-0.022	0.6880
FPG	0.118	0.0270*	0.112	0.0430*
FIRI	-0.023	0.6613	-0.017	0.7568
AUC-PG	0.043	0.4171	0.020	0.7178
Total cholesterol	-0.065	0.2241	-0.043	0.4363
Triglyceride	0.107	0.0442*	0.082	0.1384
HDL-cholesterol	-0.045	0.3996	-0.029	0.5590
SBP	0.086	0.1049	0.084	0.1294
DBP	-0.003	0.9613	-0.024	0.6740

\*: p<0.05

Table 3 Correlations of bioavailable estradiol with adiposity related variables and metabolic variables

	Unadjusted		Adjusted for age and smoking	
	r	p-value	r	p-value
Age	-0.047	0.4122	—	—
SHBG	-0.081	0.1604	-0.033	0.5781
Body mass index	0.080	0.1655	0.094	0.1162
%Fat	0.041	0.4766	0.038	0.5213
IAF	0.189	0.0010*	0.173	0.0039*
ASF	0.071	0.2178	0.067	0.2656
FPG	0.140	0.0143*	0.158	0.0078*
FIRI	0.047	0.4132	0.029	0.6333
AUC-PG	0.067	0.2439	0.063	0.3025
Total cholesterol	-0.048	0.4077	-0.037	0.5325
Triglyceride	0.187	0.0011*	0.156	0.0090*
HDL-cholesterol	-0.091	0.1130	-0.069	0.2503
SBP	0.055	0.3380	0.048	0.4247
DBP	0.012	0.8339	-0.013	0.8245

\*: p&lt;0.05

Table 4 Correlations of carotid IMT with plasma estrogen levels and metabolic variables

	Unadjusted		Adjusted for age and smoking	
	r	p-value	r	p-value
Age	0.252	<0.0001*	—	—
Brinkman index	0.085	0.1209	—	—
Estradiol	0.252	<0.0001*	0.270	<0.0001*
Bioavailable Estradiol	0.231	<0.0001*	0.293	<0.0001*
SHBG	0.151	0.0084*	0.036	0.5510
Body mass index	0.125	0.0187*	0.154	0.0052*
%Fat	-0.024	0.6563	0.041	0.4589
IAF	0.124	0.0227*	0.127	0.0223*
ASF	0.048	0.3712	0.122	0.0281*
FPG	0.190	0.0003*	0.141	0.0107*
FIRI	0.095	0.0770	0.146	0.0080*
AUC-PG	0.262	<0.0001*	0.195	0.0004*
Total cholesterol	-0.012	0.7856	-0.012	0.8490
Triglyceride	0.077	0.1475	0.112	0.0415*
HDL-cholesterol	-0.169	0.0015*	-0.174	0.0015*
SBP	0.158	0.0030*	0.139	0.0114*
DBP	0.052	0.3268	0.059	0.2899

\*: p&lt;0.05

Table 5 Multivariate models with carotid IMT as the dependent variable

Model 1			Model 2		
variables	r	p	variables	r	p
Age	0.215	0.0001*	Age	0.256	0.0001*
Estradiol	0.250	0.0001*	Bioavailable Estradiol	0.241	0.0001*
Body mass index	0.062	0.2564	Body mass index	0.018	0.7616
AUC-PG	0.174	0.0013*	AUC-PG	0.150	0.0104*
FIRI	-0.026	0.6337	FIRI	0.021	0.7154
HDL-cholesterol	-0.143	0.0080*	HDL-cholesterol	-0.122	0.0366*
SBP	0.043	0.4253	SBP	0.013	0.8273

Partial correlation coefficient between carotid IMT and each variable was calculated after adjustment for all other variables in the model.

E2およびbioavailable E2は単相関でも、年齢と喫煙を補正した後の相関の解析でも頸動脈IMTと正の相関を示した。単相関の解析で認められたSHBGの頸動脈IMTとの相関は年齢と喫煙を補正すると消失した。脂肪蓄積や糖脂質代謝指標、血圧などの中で、年齢と喫煙補正後の解析でBMI, IAF, ASF, FPG, FIRI, AUC-PG, Triglyceride, 収縮期血圧が頸動脈IMTと相関を示した。HDL-cholesterolは負の相関を示した。

### 3. 動脈硬化の危険因子を考慮した頸動脈IMTとE2, bioavailableE2の相関の解析 (Table 5)

E2 (Model 1)もbioavailable E2 (Model 2)も、年齢に加えBMI, AUC-PG, FIRI, HDL-cholesterol, 収縮期血圧(SBP)のすべてを補正した後も頸動脈IMTと有意の相関を示した。

## 考 察

我々は今回の研究において男性の血中estradiol値やbioavailable estradiol値が初期動脈硬化症の指標である頸動脈IMTと正に相関することを見出した。この相関は年齢、喫煙、肥満や血糖値、HDL-cholesterol, 血圧などを考慮した解析においても認められた。即ち、血中estradiol値やbioavailable estradiol値は動脈硬化の代謝性リスクファクターや血圧などと独立して頸動脈IMTと関連することが明らかになった。

男性の心血管疾患における内因性estrogenの役割について、既に、1970~1980年代にかけて多くの研究者が男性心筋梗塞患者の血中estradiol値が対照例に比し高値であることを報告している<sup>14)</sup>。ただその意義については明らかではなく、既に存在する冠動脈病変にestrogenの血栓形成促進効果が加わって心筋梗塞が発症した可能性などが推定されていた。また、男性の血中estradiol値と冠動脈疾患の関連をprospectiveに調べたcase-control study<sup>15,16)</sup>において両者の相関が認められないことなどから、むしろ心筋梗塞の結果としてestradiolが上昇した可能性も挙げられていた。今回の我々の研究は冠動脈疾患の既往や心電図に虚血性変化を示す例を除外し、初期動脈硬化の指標である頸動脈IMTを検討した点がこれまでの研究と大きく異なる。心筋梗塞などの臨床的に顕性化した冠動脈疾患それ自身が血中estrogen値に与える影響は我々の対象においてはほぼ除外されていると考えられる。また、心筋梗塞の発症には動脈硬化の進展に加え、血栓形成の機序が重要であるが、我々の結果は動脈硬化の初期の進展過程が血中内因性estrogenに関連している可能性を示している。

Estrogenは従来より閉経前女性での動脈硬化性心血管疾患に対する防御機構の中核に位置付けられて来た。近年では男性においても心血管疾患に対し防御的に働く可能性を示す多くの成績が報告されている<sup>17)</sup>。エストロゲン受容体(ER)にはER- $\alpha$ とER- $\beta$ の2つのサブタイプが存在する。女性のみならず男性の血管系の内皮細胞や血管平滑筋細胞には生殖器官の1/10~1/50と量

的にはかなり少ないながらER- $\alpha$ とER- $\beta$ がともに発現していることが明らかにされている<sup>18)</sup>。血管内皮細胞は種々の物理的ないし化学的な刺激に反応して血管平滑筋や血球細胞の種々の機能を修飾する調節分子を放出し、血管系の機能調節に重要な役割を果たしている<sup>2)</sup>。Estrogenは血管内皮細胞に作用し血管弛緩因子であるNOの合成酵素の活性を充進させNO放出を増加させる。このNOによる血管拡張反応は血管内皮機能検査として使用されているが、この手法による検討で女性のみならず男性でもエストロジェンの投与により内皮細胞依存性の血管拡張反応がみられることが報告されている<sup>19)</sup>。さらに既に述べたように、ER欠損男性例では内皮細胞依存性の血管拡張反応障害がみられており<sup>4)</sup>、estrogenが男性の血管系にも直接的な動脈硬化防御作用を有している可能性は高いと思われる。

Estrogenの抗動脈硬化作用は実験成績に加え、女性ホルモン補充療法を受けた閉経後女性を対象とした動脈硬化性心疾患の疫学的観察調査の結果からも支持されて来た。これらの多くの疫学調査のメタアナリシスではホルモン補充療法実施者では動脈硬化性心疾患のリスクがおよそ30%低下したと結論されている<sup>6)</sup>。しかし、既に述べたように、最近報告されたHeart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS)<sup>7)</sup>とWomen's Health Initiative (WHI)<sup>8)</sup>と呼ばれるホルモン補充療法による心血管疾患の2次予防と1次予防の無作為割り当て研究の結果では、大方の予測に反して動脈硬化性心血管疾患の発症は減少せず、むしろ増加した。但し、現在中止された試験はプロゲステロン併用群である。この2つの研究結果の意味に関してまだ一定の見解は得られていないが、estrogenの心血管系に対する作用が従来考えられたより複雑であることを示唆していると思われる。今までの疫学的観察研究の結果がこれらの無作為割り付試験と相違した点については、むしろ従来の観察研究にバイアスがかかっていたと考えられている<sup>20)</sup>。

Estrogenはよく知られている血栓形成促進作用に加え血中の炎症マーカーであるCRPを上昇させたり<sup>21)</sup>、動脈の弾性を低下させる<sup>22)</sup>など、動脈硬化促進的な作用も報告されている。生体のホルモンやその他の内的環境によりestrogenの抗動脈硬化作用と動脈硬化促進作用のバランスが変化する可能性を考える必要があるかもしれない。我々の成績は男性ホルモン優位のホルモン環境の重要性を示唆しているかもしれない。雌性ラットで認められたestrogenの抗動脈硬化作用が雄性ラットではみられないが睾丸摘出を行うと雌性ラットと同等の作用がみられたという報告<sup>23,24)</sup>やandrogen過剰を伴う多嚢胞性卵巣患者では動脈硬化性心血管疾患の頻度が高いこと<sup>25)</sup>などは男性ホルモンレベルの重要性を支持する。

血中エストロゲン値と頸動脈内膜中膜肥厚との関連を調べた研究は我々の知る限りでは閉経後女性の内因性ステロイド値を頸動脈内膜中膜肥厚の高値例と正常例と比較したGoldenらの報告<sup>26)</sup>のみである。男性を対象

とした研究は他にない。Golden らの研究では頸動脈 IMT 高値の閉経後女性ではエストロン高値が認められており興味深い。但し、糖・脂質、血圧、喫煙、飲酒、運動などの因子を補正するとエストロン値に差はみられていない。彼らの対象の平均年齢は61.7歳であり、我々の対象の平均年齢50.8歳と、いずれも中高年者が対象となっている。中高年齢者では男性でも女性でも血中の内因性 estrogen 値が初期動脈硬化症の指標である頸動脈 IMT と関連する事実は性差よりも加齢などの他の要因が重要であることを意味するのかも知れない。

中高年男性において内因性 estrogen が頸動脈 IMT と強く関連することを示した我々の成績は estrogen の心血管系に与える作用を明らかにする上で重要な意義を有すると考えられる。

## 謝 辞

御指導いただきました、公衆衛生学講座の清水弘之教授、また研究に御協力いただいた、松波総合病院人間ドックの職員に感謝いたします。

## 参 考 文 献

- 1) Barrett-Connor E: Sex differences in coronary heart disease. *Circulation* **95**, 252–264 (1997)
- 2) Mendelsohn ME, Karas R: The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med* **340**, 1801–1811 (1999)
- 3) Grumbach MM, Auchus RJ: Estrogen: Consequences and implications of human mutations in synthesis and action. *J Clin Endocrinol Metab* **84**, 4677–4694 (1999)
- 4) Sudhir K, Chou TM, Messina LM, Hutchison SJ, Korach KS, Chatterjee K, Rubanyi GM: Endothelial dysfunction in a man with disruptive mutation in oestrogen-receptor gene. *Lancet* **349**, 1146–1147 (1997)
- 5) Sudhir K, Chou TM, Chatterjee K, Smith EP, Williams TC, Kane JP, Malloy MJ, Korach KS, Rubanyi GM: Premature coronary artery disease associated with a disruptive mutation in the estrogen receptor gene in a man. *Circulation* **96**, 3774–3777 (1997)
- 6) Barret-Connor E: Hormone replacement therapy, heart disease, and other considerations. *Annu Rev Public Health* **19**, 55–72 (1998)
- 7) Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, Vittinghoff E: Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of heart disease in postmenopausal women. *JAMA* **280**, 605–613 (1998)
- 8) Writing group for the women's health initiative investigators: Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. Principal results from the women's health initiative randomized controlled trial. *JAMA* **288**, 321–333 (2002)
- 9) Coronary drug project research group: The coronary drug project. Findings leading to discontinuation of the 2.5-mg/day estrogen group. *JAMA* **226**, 652–657 (1973)
- 10) Wenger NK, Knatterud GL, Canner PL: Early risks of hormone therapy in patients with coronary heart disease. *JAMA* **284**, 41–43 (2000)
- 11) Takami R, Takeda N, Hayashi M, Sasaki A, Kawachi S, Yoshino K, Takami K, Nakashima K, Akai A, Yamakita N, Yasuda K: Body fatness and fat distribution as predictors of metabolic abnormalities and early carotid atherosclerosis. *Diabetes Care* **24**, 1248–1251 (2001)
- 12) Van den Beld AW, de Jong FH, grobbee DE, Pols HA, Lamberts SW: Measures of bioavailable serum testosterone and estradiol and their relationships with muscle strength, bone density, and body composition in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* **85**, 3276–3282 (2000)
- 13) Sodergard R, Backstrom T, Shanbhag V, Carstensen H: Calculation of free and bound fractions of testosterone and estradiol-17 $\beta$  to human plasma proteins at body temperature. *J Steroid Biochem* **16**, 801–810 (1982)
- 14) Karin MF, Zumoff B: Sex hormones and coronary disease: a review of the clinical studies. *Steroids* **55**, 330–352 (1990)
- 15) Cauley JA, Gutai JP, Kuller LH, Dal WS: Usefulness of sex steroid hormone levels in predicting coronary artery disease in men. *Am J Cardiol* **60**, 771–777 (1987)
- 16) Barrett-Connor E, Khaw KT: Endogenous sex hormones and cardiovascular disease in men. *Circulation* **78**, 539–545 (1988)
- 17) Sudhir K, Komesaroff P: Cardiovascular actions of estrogens in men. *J Clin Endocrinol Metab*. **84**, 3411–3415 (1999)
- 18) Manolagas SC, Kousteni S. Perspective: Nonreproductive sites of action of reproductive hormones. *J Clin Endocrinol Metab* **142**, 2200–2204 (2001)
- 19) Komesaroff PA, Black CV, Westerman RA: A novel, nongenomic action of estrogen on the cardiovascular system. *J Clin Endocrinol Metab* **83**, 2313–2316 (1998)
- 20) Mosca L, Collins P, Herrington DM, Mendelsohn ME, Pasternak RC, Robertson RM, Schenck-Gustafsson K, Smith SC, Taubert KA, Wenger NK: Hormone replacement therapy and cardiovascular disease. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* **104**, 499–503 (2001)
- 21) Ridker PM, Hennekens CH, Rifai N, Buring JE, Manson JE: Hormone replacement therapy and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* **100**, 713–716 (1999)
- 22) Tatchum-Talom R, Martel C, Marette A: Influence of estrogen on aortic stiffness and endothelial function in female rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **282**, H491–

H498 (2002)

- 23) Chen S-J, Li H, Durand J, Oparil S, Chen Y-F: Estrogen reduces myointimal proliferation after balloon injury of rat carotid artery. *Circulation* **93**, 577—584 (1996)
- 24) Oparil S, Levine RL, Chen S-J, Durand J, Chen YF: Sexually dimorphic response of the balloon-injured rat carotid artery to hormone treatment. *Circulation* **95**, 1301—1307 (1997)
- 25) Wild RA: Polycystic ovary syndrome: a risk for coronary artery disease. *Am J Obstet Gynecol* **186**, 35—43 (2002)
- 26) Golden SH, Maguire A, Ding J, Crouse JR, Cauley JA, Zacur H., Szklo M: Endogenous postmenopausal hormones and carotid atherosclerosis: A case-control study of the atherosclerosis risks in communities cohort. *Am J Epidemiol* **155**, 437—445 (2002)