



HAL
open science

Facteurs alimentaires, composantes du syndrome métabolique et risques de cancer du sein et de diabète de type II dans la cohorte E3N

Guy Fagherazzi

► **To cite this version:**

Guy Fagherazzi. Facteurs alimentaires, composantes du syndrome métabolique et risques de cancer du sein et de diabète de type II dans la cohorte E3N. Santé publique et épidémiologie. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français. NNT: 2011PA11T023 . tel-00718783

HAL Id: tel-00718783

<https://theses.hal.science/tel-00718783>

Submitted on 18 Jul 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITE PARIS XI
FACULTE DE MEDECINE PARIS-SUD**

Année 2011

N° attribué par la bibliothèque |__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS XI

Champ disciplinaire : Épidémiologie

École doctorale de rattachement : ED420, « Santé Publique Paris 11-Paris 5 »

Présentée et soutenue publiquement par

Guy FAGHERAZZI

le 8 Juin 2011

Titre :

Facteurs alimentaires, composantes du syndrome métabolique et risques de cancer du sein et de diabète de type II dans la cohorte E3N

Directrice de thèse : Mme Françoise CLAVEL-CHAPELON

JURY

Mme	Marie-Aline	CHARLES	Présidente
Mme	Chantal	SIMON	Rapporteur
Mme	Pascale	BARBERGER-GATEAU	Rapporteur
M	Mazda	JENAB	Examinateur
M	Jean-François	PETIOT	Examinateur
Mme	Françoise	CLAVEL-CHAPELON	Directrice du laboratoire



A PAUL IMHOFF

RESUME

Résumé - Le cancer du sein et le diabète de type II sont deux pathologies chroniques majeures chez la femme, qui sont suspectées de partager de nombreux facteurs de risque. Mais leurs étiologies demeurent encore partiellement inconnues, notamment en ce qui concerne certains facteurs alimentaires, ou encore certaines composantes du syndrome métabolique. Les données de la cohorte française E3N ont ainsi été utilisées pour évaluer les associations entre la consommation d'alcool, de café, de viande, les apports en vitamine D et les risques de cancer du sein et de diabète de type II. De plus, s'il est avéré que le syndrome métabolique est associé à un sur-risque de diabète, des questions persistent quant à l'influence de certaines composantes du syndrome métabolique, tels que le taux de cholestérol ou certains facteurs anthropométriques, sur le risque de cancer du sein. Dans l'évaluation des risques respectifs de cancer du sein et de diabète de type II, nos travaux ont mis en évidence qu'une consommation élevée de café était associée à une diminution de risque de diabète de type II, qu'un taux sérique élevé de vitamine D, ou un apport élevé en vitamine D alimentaire parmi les femmes résidant dans les zones de forte exposition solaire, étaient associés à une diminution de risque de cancer du sein. Si une consommation nulle ou modérée d'alcool s'est avérée être associée à une absence de sur-risque de diabète de type II, la consommation d'alcool était quant à elle associée à un sur-risque de cancer du sein. Nos résultats sont également en faveur d'une limitation de la consommation de viande préparée industriellement. Par ailleurs, maintenir un indice de masse corporelle et un tour de hanche le plus faible possible, à l'aide d'un régime alimentaire équilibré et une activité physique régulière, permettrait également de réduire les risques de cancer du sein et de diabète de type II.

Mots clés - Epidémiologie, cohorte, cancer du sein, diabète de type II, alcool, café, viande, vitamine D, facteurs anthropométriques, cholestérol

Title - Dietary factors, metabolic syndrome and risks of breast cancer and type II diabetes in the E3N cohort.

Abstract - Breast cancer and type II diabetes are two of the main chronic diseases in women and are suspected to share common risk factors. But their etiologies are still partially unknown, in particular concerning some dietary factors and some parameters of the metabolic syndrome. If evidence is convincing that the metabolic syndrome is associated with an increased type II diabetes risk, questions remain unanswered regarding cholesterol level, anthropometric factors and breast cancer risk. The French E3N cohort database was thus used to evaluate the associations between alcohol, coffee, meat consumption and serum concentration and dietary intake of vitamin D on the risks of breast cancer and type II diabetes. We showed that a high coffee consumption was associated with a decreased risk of type II diabetes, and that a high vitamin D blood level was associated with a decreased risk of breast cancer. Whereas null or moderated alcohol consumption was not related to type II diabetes risk, an increase in alcohol consumption was associated with an increased breast cancer risk. Our results suggested limiting processed meat consumption. They also favoured recommendation towards low body mass index or a low hip circumference by a healthy diet and a regular physical activity so as to decrease breast cancer and type II diabetes risks.

Keywords - Epidemiology, cohort, breast cancer, type II diabetes, alcohol, coffee, meat, vitamin D, anthropometrical factors, cholesterol

REMERCIEMENTS

Avant tout, je tiens à remercier Madame Françoise Clavel-Chapelon, directrice de l'équipe Inserm « Nutrition, Hormones et Santé des Femmes », de m'avoir accueilli dans son unité et encadré durant ces trois années. Je la remercie de m'avoir fait découvrir et partager sa vision de ce monde très particulier qu'est la recherche. Elle a toujours su répondre présente lorsque j'en avais besoin et j'ai toujours bénéficié d'un encadrement et de conditions de travail exemplaires.

Je tiens à remercier tout particulièrement les membres renommés de mon jury de thèse. Je remercie Madame Chantal Simon et Madame Pascale Barberger-Gateau, qui ont accepté la charge de rapporteurs pour cette thèse. Je suis également très reconnaissant à Monsieur Mazda Jenab et Monsieur Jean-François Petiot d'évaluer mon travail en tant qu'examineurs. Enfin, je souhaite remercier Madame Marie-Aline Charles d'avoir accepté de présider ce jury.

Je remercie l'école doctorale de Santé Publique de l'Université Paris-Sud 11, son directeur Monsieur Jean Bouyer pour sa disponibilité, ainsi que le ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche pour avoir financé ma recherche pendant trois ans.

J'aimerais adresser mes plus sincères remerciements à l'ensemble de l'équipe E3N qui m'a accueilli à bras ouverts dès le premier jour. J'ai adoré travailler avec chacun d'entre vous. Votre bonne humeur et vos sourires font de ce sous-sol un lieu de travail très agréable ! Merci en particulier aux « piliers » d'E3N : Maryvonne, Lyan, Marie, Marie-Christine, Rafika, sans qui rien ne serait possible.

Avant de débiter cette thèse, on m'a souhaité un bon « cheminement ». Je suis maintenant convaincu qu'une thèse est effectivement un long « cheminement », tant scientifique que personnel. Des périodes intenses succèdent à des périodes creuses et prendre du recul n'est pas toujours chose aisée ! C'est pourquoi je souhaite remercier ici un ensemble de personnes qui, à leur manière, consciemment ou non, m'ont aidé durant ces trois années. Elles ont fait que sur le long terme, ce « cheminement » soit une excellente expérience professionnelle et humaine. Je voudrais tout d'abord remercier chaleureusement mes parents, qui m'ont accordé un soutien sans faille depuis le début et qui se sont toujours démenés pour que j'étudie

dans les meilleures conditions. Un énorme merci à ma sœur, Delphine. Tu n'as pas besoin de beaucoup parler pour rassurer ton petit frère. Merci aussi à ta « clique » : grâce à vous je garde à l'esprit qu'il y a des choses bien plus importantes que les statistiques dans la vie !

Et évidemment, un énorme merci à Léa, toi qui me « subis » au quotidien ! Tu es toujours de bon conseil et si ces années de thèse se sont passées sans encombre, je le dois en grande partie à toi. Le soir, nos discussions de statisticiens sur les importations françaises et les facteurs de risque de cancer sont un vrai bonheur ! J'espère qu'il y en aura encore longtemps.

Et les amis bien sûr ! Stevonn, ton humour à deux balles (mais tellement proche du mien), ta nonchalance et ta patience pour écouter (critiquer) ma musique, font de toi un ami précieux. Les bancs de l'école d'ingénieurs à Rennes, le stage de fin d'étude et une thèse à Paris, tu sais ce que c'est, pas vrai ? Et même si la distance nous empêche de nous voir régulièrement, une pensée à Cyril qui complétait la tripléte de l'Ensay : « Big up » ! Que dire de JJ et Lisa, les filleules que j'ai vu grandir ! JJ - ou Didi, on ne sait plus - ton soutien indéfectible (in...dé...fect...ible, combien de syllabes là ?) et ta gentillesse permanente ont été plus que précieux. Ne change pas ! Lisa, à quand une n-ième discussion de biostat' au coin du feu ? Tu te soucies beaucoup de Léa et moi, et ça, c'est carrément « champêtre » ! Tu pourras dire à ta moitié qu'il arrête de me resservir et qu'il arrête de croire qu'il est meilleur que moi au basket... Un jour je lui montrerai. Enfin, merci à Curtis pour l'énergie transmise quotidiennement, sans le savoir ! Merci enfin aux collègues ou plutôt anciens collègues devenus de vrais amis. Nico, Zohra, Harmonie, Flo, vous avez commencé avec moi dans le sombre open-space du labo : certains sont partis très vite pour ne plus jamais revenir (Harmonie, lâcheuse !) ; d'autres en revanche sont partis, puis revenus, puis repartis et au final vous m'avez accompagné sur la quasi-totalité de ma thèse. Merci à vous pour toutes ces bonnes soirées et bons souvenirs. Zohra, j'espère que l'on te verra encore souvent même si tu es maman. De toute façon, tu peux être certaine que j'offrirai plein de CDs de rap à ta fille !

Merci également à certaines personnes de l'équipe E3N. Céline, Laura, Anne, vous êtes des collègues géniales ! Laura et Anne, votre motivation sportive n'a pas d'égale, vous êtes un bel exemple ! Et merci Céline, pour toutes ces discussions sur nos goûts musicaux ! Alice tes petits post-its font toujours plaisir ! Merci aussi à

Remerciements

Florence pour ton humour, pendant toute la période où je rédigeais cette thèse. Bon courage à toi qui n'en est qu'au début.

Pour conclure, je remercie sincèrement toutes les personnes qui ont relu cette thèse, corrigé les fautes d'orthographe, les virgules manquantes, les phrases à rallonge ou m'ont aidé à mettre ce manuscrit en forme : Annick et Patrick, Laura, Charlotte, Léa et Françoise bien sûr.

PUBLICATIONS, COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

Articles publiés en lien avec le travail doctoral

- Fagherazzi G**, Touillaud MS, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. *No association between coffee, tea and caffeine intake and breast cancer risk in the prospective E3N cohort.* Public Health Nutr. 2011 Apr 5:1-6
- Fagherazzi G**, Chabbert-Buffet N, Fabre A, Guillas G, Boutron-Ruault MC, Mesrine S, Clavel-Chapelon F. *Hip circumference and the risk of premenopausal breast cancer in a large prospective cohort.* Int J Obes (Lond). 2011 Mar 22.
- Fagherazzi G***, Engel P*, Boutten A, Dupré T, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. *Serum 25(OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study from the French E3N cohort.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2010 Sep;19(9):2341-50 (* 1^{er} co-auteurs).
- Fagherazzi G**, Fabre A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. *Serum cholesterol level, use of cholesterol-lowering drug and breast cancer: results from the prospective E3N cohort.* Eur J Cancer Prev. 2010 Mar;19(2):120-5.
- Engel P, **Fagherazzi G**, Mesrine S, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. *Joint effects of dietary vitamin D and sun exposure on breast cancer risk: results from the French E3N cohort.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2011 Jan;20(1):187-98. Epub 2010 Dec 2.
- Saes Sartorelli D, **Fagherazzi G**, Balkau B, Touillaud MS, Boutron-Ruault MC, De Lauzon-Guillain B, Clavel-Chapelon F. *Differential effects of coffee according to meal of consumption on the risk of type 2 diabetes in a French cohort of women: The E3N/EPIC cohort study.* Am J Clin Nutr. 2010 Apr;91(4):1002-12. Epub 2010 Feb 10.

Résumés scientifiques

- Fagherazzi G**, Chabbert-Buffet N, Fabre A, Guillas G, Boutron-Ruault MC, Mesrine S, Clavel-Chapelon F. *Un tour de hanche élevé est associé à un sur-risque de cancer du sein en préménopause.* Accepté pour la conférence « EPICLIN 2011 », Marseille, France, 4-5 Mai 2011.
- Fagherazzi G**, Chabbert-Buffet N, Fabre A, Guillas G, Boutron-Ruault MC, Mesrine S, Clavel-Chapelon F. *Large hip circumference is associated with an increased risk of premenopausal breast cancer.* Accepté pour la conférence « Cancer and Obesity 2010 », Valence, Espagne, 28-30 Octobre 2010.
- Fagherazzi G**, Jimenez J, Touillaud MS, Clavel-Chapelon F, Scalbert A. *No association between dietary intakes of coffee phenolic acids and total polyphenols and the risk of breast cancer in a French prospective cohort study.* Accepté pour la conférence « 4th International Conference on Polyphenols and Health », Leeds, Royaume-Uni, 7-12 Décembre 2009.

Saes Sartorelli D, **Fagherazzi G**, Balkau B, Touillaud MS, Boutron-Ruault MC, De Lauzon-Guillain B, Clavel-Chapelon F. *Coffee consumed at lunch time is inversely associated with the risk of type 2 diabetes in a French cohort of 69,532 women: the E3N/EPIC cohort study*. Accepté pour le congrès « IDF 20th World Diabetes Congress », Montreal, Canada, 18-22 Octobre 2009.

Communications orales

Fagherazzi G, Chabbert-Buffet N, Fabre A, Guillas G, Boutron-Ruault MC, Mesrine S, Clavel-Chapelon F. *Un tour de hanche élevé est associé à un sur-risque de cancer du sein en préménopause*. Présentation orale à la conférence « EPICLIN 2011 », Marseille, 4-5 Mai 2011.

Fagherazzi G, Chabbert-Buffet N, Fabre A, Guillas G, Boutron-Ruault MC, Mesrine S, Clavel-Chapelon F. *Large hip circumference is associated with an increased risk of premenopausal breast cancer*. Présentation orale à la conférence « Cancer and Obesity », Valence, Espagne, 28-30 Octobre 2010.

Fagherazzi G, Jimenez J, Touillaud M, Clavel-Chapelon F, Scalbert A. *No association between dietary intakes of coffee phenolic acids and total polyphenols and the risk of breast cancer in a French prospective cohort study*. Présentation orale à la conférence « 4th International Conference on Polyphenols and Health », Leeds, Royaume-Uni, 7-12 Décembre 2009.

Posters

Fagherazzi G, Jimenez J, Touillaud M, Clavel-Chapelon F, Scalbert A. *No association between dietary intakes of coffee phenolic acids and total polyphenols and the risk of breast cancer in a French prospective cohort study*. Présenté à la conférence « 4th International Conference on Polyphenols and Health », Leeds, Royaume-Uni, 7-12 Décembre 2009.

Autres articles publiés (relecture critique de manuscrit, préparation des données)

Campa D, Hüsing A, McKay JD, Sinilnikova O, Vogel U, Tjønneland A, Overvad K, Stegger J, Clavel-Chapelon F, Chabbert-Buffet N, **Fagherazzi G** et al The INSIG2 rs7566605 polymorphism is not associated with body mass index and breast cancer risk.. *BMC Cancer*. 2010 Oct 18;10:563.

Naska A, Orfanos P, Trichopoulou A, May AM, Overvad K, Jakobsen MU, Tjønneland A, Halkjær J, **Fagherazzi G** et al Eating out, weight and weight gain. A cross-sectional and prospective analysis in the context of the EPIC-PANACEA study. *Int J Obes (Lond)*. 2011 Mar;35(3):416-26. Epub 2010 Jul 27.

Johansson M, Relton C, Ueland PM, Vollset SE, Midttun Ø, Nygård O, Slimani N, Boffetta P, Jenab M, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, **Fagherazzi G** et al *Serum B vitamin levels and risk of lung cancer*. *JAMA*. 2010 Jun 16;303(23):2377-85.

Rohrmann S, Linseisen J, Vrieling A, Boffetta P, Stolzenberg-Solomon RZ, Lowenfels AB, Jensen MK, Overvad K, Olsen A, Tjonneland A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, **Fagherazzi G** et al. *Ethanol intake and the risk of pancreatic cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)*. *Cancer Causes Control*. 2009 Jul;20(5):785-94. Epub 2009 Jan 16.

Hermann S, Rohrmann S, Linseisen J, May AM, Kunst A, Besson H, Romaguera D, Travier N, Tormo MJ, Molina E, Dorronsoro M, Barricarte A, Rodriguez L, Crowe FL, Khaw KT, Wareham NJ, van Boeckel PG, Bueno-de-Mesquita HB, Overvad K, Uhre Jakobsen M, Tjonneland A, Halkjaer J, Agnoli C, Mattiello A, Tumino R, Masala G, Vineis P, Naska A, Orfanos P, Trichopoulou A, Kaaks R, Bergmann MM, Steffen A, Van Guelpen B, Johansson I, Borgquist S, Manjer J, Braaten T, **Fagherazzi G** et al. *The association of education with body mass index and waist circumference in the EPIC-PANACEA study*. *BMC Public Health*. 2011 Mar 17;11(1):169. [Epub ahead of print].

Baltar VT, Xun WW, Chuang SC, Relton CL, Ueland PM, Vollset SE, Midttun O, Johansson M, Slimani N, Jenab M, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, **Fagherazzi G** et al. *Smoking, second-hand smoke and cotinine levels in a subset of EPIC cohort*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011 Feb 25. [Epub ahead of print]

Activités d'enseignement pendant le doctorat

Moniteur en Statistique à l'Université de Paris Dauphine (2008 – 2011) : *Cours et TD de Probabilité/Statistique en deuxième année de licence*

Chargé de projets à l'Ensaï (Ecole Nationale de la Statistique et de l'Analyse de l'Information), Rennes (2011) : *Encadrement de projets statistiques en épidémiologie en 1^{ère} et 2^{ème} année*

Encadrement de stagiaires au sein du laboratoire

Marion Schneider : stage de fin d'études en Licence Professionnelle Statistique et Informatique Décisionnelle. « *Traitement hypolipédémiant et risque de cancer du sein dans la cohorte E3N* » (Mars – Septembre 2009).

Marion Schneider : stage de Master 1 en Santé Publique. « *Diabète et risque de cancer du sein* » (Octobre – Juin 2010).

Anissa Hammache : stage de Master 1 en Santé Publique. « *Relation entre les apports alimentaires en polyphénols totaux et en acides phénoliques contenus dans le café et le risque de diabète de type II dans la cohorte E3N* » (Janvier – Mai 2010).

Zohra Rahy-Monceau : stage de Master 2 Recherche en Santé Publique. « *Apports alimentaires en polyphénols et risque de mortalité dans la cohorte prospective E3N* » (Janvier – Juillet 2010).

Lauren Dartois : stage de fin d'étude pour le diplôme d'ingénieur de l'Ensaï. « *Evolution de l'incidence et de la mortalité par cancer liée au passage à la retraite dans la cohorte E3N* » (Mars – Septembre 2011).

TABLE DES MATIERES

Résumé.....	3
Remerciements	5
Publications, communications scientifiques	8
Table des matières	11
Liste des tableaux	16
Liste des figures	18
Liste des abréviations	19
Introduction	20
Section 1. Le cancer du sein.....	20
1.1 Processus biologique de la cancérogénèse mammaire	20
1.2 Epidémiologie descriptive du cancer du sein.....	21
1.2.1 Aujourd'hui	21
1.2.2 Evolution de l'incidence de cancer du sein	22
1.2.3 Effet cohorte.....	23
1.3 Facteurs de risque de cancer du sein	24
1.3.1 Facteurs héréditaires	24
1.3.2 Facteurs hormonaux et reproductifs	25
1.3.3 Facteurs environnementaux.....	26
1.3.4 Les facteurs de santé.....	27
Section 2. Le diabète	28
2.1 L'insuline	29
2.2 Le diabète de type I	30
2.3 Le diabète de type II.....	30
2.4 Epidémiologie descriptive du diabète	30
2.5 Facteurs de risque de diabète.....	33
2.6 Syndrome métabolique	34
2.7 Les traitements du diabète.....	35
Section 3. Etat de l'art sur les facteurs d'exposition étudiés	37
3.1 Aliments et nutriments	37
3.1.1 Alcool.....	37
Consommation d'alcool et risque de cancer du sein.....	37
Consommation d'alcool et risque de diabète	38
3.1.2 Café, thé, caféine	39
Consommation de café/thé/caféine et risque de cancer du sein	39
Consommation de café/thé/caféine et risque de diabète	39
3.1.3 Viande	40
Consommation de viande et risque de cancer du sein.....	40
Consommation de viande et risque de diabète	41
3.1.4 Vitamine D.....	42
Vitamine D et risque de cancer du sein.....	42
Vitamine D et risque de diabète	43
3.2 Composantes du syndrome métabolique	44
3.2.1 Le cholestérol.....	44
Traitement hypolipidémiant	45
Taux de cholestérol et risque de cancer du sein.....	46
Taux de cholestérol et risque de diabète	46

3.2.2 Facteurs anthropométriques	47
Anthropométrie et risque de cancer du sein.....	47
Anthropométrie et risque de diabète	48
3.2.3 Diabète de type II, traitement antidiabétique et risque subséquent de cancer du sein.....	49
Section 4. Justification et objectifs du travail doctoral	50
Matériels et méthodes.....	53
Section 1. La cohorte E3N	53
Section 2. Recueil de l'information sur le cancer du sein et le diabète de type II.....	54
2.1 Les cas de cancer du sein.....	54
2.2 Les cas de diabète	55
Section 3. Recueil des données biologiques	56
Section 4. Les données alimentaires	58
4.1 L'alcool pur et les boissons alcoolisées	59
4.2 Le café/thé et caféine.....	60
4.3 La viande	60
4.4 Apport en vitamine D alimentaire et exposition solaire	61
Section 5. Les données sur le syndrome métabolique	63
5.1 Le cholestérol	63
5.1.1 Le taux de cholestérol total	63
5.1.2 Les traitements hypolipémiants.....	63
5.1.3 Combinaison des deux informations.....	64
5.2 Facteurs anthropométriques	64
Section 6. Les traitements antidiabétiques	65
Section 7. Le statut ménopausique	65
Section 8. Méthodes statistiques.....	67
8.1 Analyses descriptives	67
8.2 Analyses de risque.....	67
8.2.1 Etude cas-témoins non appariés : la régression logistique.....	67
Définition.....	68
Odds-Ratio	68
8.2.2 Etude de cohorte : le modèle de Cox.....	69
Définition.....	69
Risque relatif.....	70
Les variables dépendantes du temps.....	71
Les hypothèses du modèle de Cox.....	71
La proportionnalité des risques.....	71
La Log-linéarité des variables	72
L'âge comme échelle de temps	73
Test de tendance.....	74
Effet cohorte.....	74
8.2.3 Risques compétitifs.....	74
Les hypothèses à tester.....	75
8.2.4 Gestion des données manquantes sur les covariables des modèles	76
8.2.5 Logiciels utilisés.....	76
8.3 Prise en compte des données alimentaires dans les analyses de risque	76
Résultats.....	78
Section 1. Facteurs de risque alimentaires, risques de cancer du sein et de diabète de type II.....	78
1.1 Introduction générale.....	78
1.2 Facteurs alimentaires et risque de cancer du sein.....	79
1.2.1 Population	79
Population d'étude pour le café/thé/caféine, l'alcool, la viande et le risque de cancer du sein..	79
Population d'étude pour la vitamine D alimentaire et le risque de cancer du sein.....	80
1.2.2 Modélisation.....	80
Cas général des analyses basées sur la cohorte E3N.....	80

Modélisation du lien entre le taux de vitamine D sérique et risque de cancer du sein dans l'étude cas-témoin.....	81
1.2.3 Lien entre consommation de café/thé/caféine et risque de cancer du sein.....	82
Caractéristiques de la population.....	82
Risques dans la population entière et selon le statut des récepteurs hormonaux.....	82
Discussion.....	86
Mécanismes biologiques.....	87
1.2.4 Lien entre la consommation d'alcool et risque de cancer du sein.....	88
Caractéristiques de la population.....	88
Risques selon le statut ménopausique et les types de boissons consommées.....	89
Risques selon le statut des récepteurs hormonaux et les type des boissons consommées.....	91
Risques des femmes en surpoids.....	92
Discussion.....	94
Mécanismes biologiques.....	94
Conclusion.....	95
1.2.5 Lien entre la consommation de viande et risque de cancer du sein.....	96
Caractéristiques de la population.....	96
Risques selon le statut ménopausique de la femme et le type de viande consommée.....	96
Risques selon le statut ménopausique, le statut des récepteurs aux hormones et les types de viandes consommées.....	97
Discussion.....	99
Conclusion.....	100
1.2.6 Lien entre l'apport alimentaire en vitamine D, la prise de complément en vitamine D et le risque de cancer du sein.....	101
Caractéristiques de la population.....	101
Risques dans la population générale et selon le statut ménopausique.....	103
Caractéristiques de la population selon les catégories d'exposition solaire.....	104
Risques selon le statut ménopausique et les catégories d'exposition solaire.....	105
Discussion.....	106
Conclusion.....	108
1.2.7 Lien entre le taux de vitamine D sérique et le risque de cancer du sein.....	109
Caractéristiques de la population.....	109
Risques dans la population entière.....	111
Risques selon le statut ménopausique.....	111
Discussion.....	112
Mécanismes biologiques.....	113
1.3 Facteurs alimentaires et risque de diabète de type II.....	115
1.3.1 Population et modélisation.....	115
Population d'étude du lien entre les variables alimentaires et le risque de diabète.....	115
Modélisation du risque de diabète de type II.....	115
1.3.2 Lien entre consommation de café/thé/caféine et risque de diabète de type II.....	116
Caractéristiques de la population.....	116
Risques dans la population entière et selon le repas où le café est consommé.....	118
Discussion.....	120
Mécanismes biologiques.....	121
Conclusion.....	121
1.3.3 Lien entre consommation d'alcool et risque de diabète de type II.....	121
Caractéristiques de la population.....	121
Risques associés à la consommation d'alcool pur et par type de boisson alcoolisée consommée.....	122
Discussion.....	124
Influence du type d'alcool.....	124
Mécanismes d'action.....	124
Limites de l'étude.....	125
Conclusion.....	125
1.3.4 Lien entre consommation de viande et risque de diabète de type II : rappel des résultats E3N.....	125
Caractéristiques de la population.....	126
Risque dans la population entière.....	126
Discussion.....	127

Mécanismes d'action	128
Conclusion	128
1.3.5 Lien entre apport en vitamine D alimentaire et risque de diabète de type II.....	128
Caractéristiques de la population.....	128
Risque dans la population totale.....	129
Risques de diabète selon les apports alimentaires en vitamine D et selon l'exposition solaire	130
Discussion.....	130
Mécanismes d'action	131
1.4 Discussion générale sur le volet alimentaire.....	132
1.4.1 Forces et limites des données alimentaires et biologiques.....	133
Section 2. Facteurs de risque de cancer du sein liés à des composantes du syndrome métabolique	135
2.1 Introduction générale.....	135
2.2 Taux de cholestérol et risque de cancer du sein.....	136
2.2.1 Population et modélisation.....	136
2.2.2 Résultats.....	137
Caractéristiques de la population.....	137
Risques dans la population entière, selon le statut ménopausique et selon les catégories d'IMC	140
Risques selon le statut en récepteurs hormonaux.....	143
2.2.3 Discussion	143
Mécanismes d'action des traitements hypolipémiants.....	144
Limites de l'étude.....	144
Conclusion.....	145
2.3 Anthropométrie et risque de cancer du sein.....	145
2.3.1 Population et modélisation.....	145
Données anthropométriques.....	146
Analyses statistiques.....	146
2.3.2 Résultats.....	147
Caractéristiques de la population.....	147
Risques selon le statut ménopausique et en récepteurs aux hormones	149
2.3.3 Discussion	154
La taille et le risque de cancer du sein.....	154
L'obésité générale et le risque de cancer du sein	154
Obésité centrale contre obésité abdominale et risque de cancer du sein	155
Mécanismes d'action potentiels	156
Limites de l'étude.....	157
Conclusion.....	158
Section 3. Etude préliminaire du lien entre le diabète de type II, son traitement et le risque de cancer du sein	159
3.1 Introduction générale.....	159
3.2 Population et modélisation	159
3.3 Résultats.....	161
3.3.1 Caractéristiques de la population.....	161
3.3.2 Risques dans la population entière et selon le statut ménopausique.....	163
3.4 Discussion	164
3.4.1 Mécanismes	164
3.4.2 Limites.....	164
3.4.3 Conclusion.....	165
Conclusion	167
Section 1. Principaux résultats	167
Section 2. Perspectives de recherche	169
Section 3. Discussion générale, en termes de Santé Publique	170

Annexe.....	172
Tableaux	172
Article 1 : Fagherazzi G , Touillaud MS, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. <i>No association between coffee, tea and caffeine intake and breast cancer risk in the prospective E3N cohort.</i> Public Health Nutrition 2011 Apr 5:1-6	174
Article 2 : Engel P*, Fagherazzi G* , Boutten A, Dupré T, Mesrine S, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. <i>Serum 25(OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study from the French E3N cohort.</i> Cancer Epidemiol Biomarkers rev. 2010 Sep;19(9):2341-50. (1 ^{er} coauteurs)	181
Article 3 : Fagherazzi G , Chabbert-Buffet N, Fabre A, Guillas G, Boutron-Ruault MC, Mesrine S, Clavel-Chapelon F. <i>Hip circumference is associated with the risk of premenopausal ER-/PR- breast cancer.</i> Int J Obes (Lond). 2011 Mar 22	192
Article 4 : Sartorelli DS, Fagherazzi G , Balkau B, Touillaud MS, Boutron-Ruault MC, de Lauzon-Guillain B, Clavel-Chapelon F. <i>Differential effects of coffee on the risk of type 2 diabetes according to meal consumption in a French cohort of women: the E3N/EPIC cohort study.</i> Am J Clin Nutr. 2010 Apr;91(4):1002-12. Epub 2010 Feb 10.	202
Article 5 : Fagherazzi G , Fabre A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. <i>Serum cholesterol level, use of a cholesterol-lowering drug, and breast cancer: results from the prospective E3N cohort.</i> Eur J Cancer Prev. 2010 Mar;19(2):120-5.	214
Article 6 : Engel P, Fagherazzi G , Mesrine S, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. <i>Joint effects of dietary vitamin D and sun exposure on breast cancer risk: results from the French E3N cohort.</i> Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2011 Jan;20(1):187-98. Epub 2010 Dec 2	221
Références bibliographiques	234

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques de la population à l'inclusion en fonction de la consommation de café/thé/caféine (N=67 703). Standardisation (1 tasse=125mL).....	84
Tableau 2 : Risques relatifs multivariés de cancer du sein selon la consommation de café/thé/caféine selon le statut en récepteurs hormonaux de la tumeur (N=67 703).....	85
Tableau 3 : Consommations médianes des différents types d'alcool et d'alcool pur selon la fréquence hebdomadaire de consommation (N=67 703).....	89
Tableau 4 : Risques relatifs multivariés de cancer du sein en pré- et postménopause selon la consommation d'alcool pur et des différents types d'alcool. (N=67 703).	90
Tableau 5 : Risques relatifs multivariés associés à la consommation d'alcool pur, converti en verres d'alcool par semaine (1 verre = 10 g d'éthanol) selon le statut des récepteurs hormonaux des tumeurs.....	91
Tableau 6 : Risques relatifs multivariés associées à la consommation d'alcool pur en postménopause selon l'IMC.....	93
Tableau 7 : Risques relatifs de cancer du sein associés à la consommation de viande selon le statut ménopausique (N=67 721).....	97
Tableau 8 : Risques relatifs de cancer du sein en pré- et en postménopause défini selon le statut en récepteurs hormonaux associés à la quantité et le type de viande consommée (N=67 703).....	99
Tableau 9 : Caractéristiques des femmes à l'inclusion selon leurs apports alimentaires en vitamine D (N=67 721, 1 µg = 40 UI).....	102
Tableau 10 : Caractéristiques des femmes à l'inclusion selon leur exposition solaire (dose UVB) (N=67 721).....	103
Tableau 11 : Risques relatifs de cancer du sein associés aux catégories d'apports en vitamine D dans la population entière et selon le statut ménopausique (N=67 721). * P de tendance calculées en excluant la catégorie des femmes complémentées en vitamine D.	104
Tableau 12 : Risques relatifs de cancer du sein associés aux catégories croisées d'apports en vitamine D et de dose journalière moyenne d'UVB dans la population entière et selon le statut ménopausique (N=67 721).....	106
Tableau 13 : Caractéristiques des femmes de l'étude selon leur statut cas/témoin (N=1 908).....	110
Tableau 14 : Odds-Ratios associés au risque de cancer du sein selon le taux sériques de vitamine 25(OH)D3 dans l'étude cas-témoins (N=1 908).....	111
Tableau 15 : Odds-Ratios multivariés associés aux tertiles de concentrations sériques de 25(OH) vitamine D3 en fonction du statut ménopausique à la date de prélèvement et à la date de diagnostic.....	112
Tableau 16 : Caractéristiques de la population à l'inclusion selon la consommation de café et de thé.....	117
Tableau 17 : Risques relatifs de diabète de type II selon les catégories de consommation de café/thé/caféine (N=69 532).	118
Tableau 18 : Risques relatifs de diabète de type II selon les catégories de consommation de café à différents moments de la journée (N=69 532).....	119
Tableau 19 : Risques relatifs de diabète de type II selon les catégories de consommation d'alcool pur et des différents types d'alcools (N= 69 532).....	123
Tableau 20 : Caractéristiques de la population selon leur consommation de viande préparée industriellement et viande rouge (N=69 532).....	126
Tableau 21 : Risques relatifs de diabète de type II associés à la consommation de viande rouge et viande préparée industriellement (N= 69 532).....	127
Tableau 22 : Risques relatifs de diabète de type II selon les apports alimentaires et compléments en vitamine D (N= 69 532).	129

Liste des tableaux

Tableau 23 : Risques relatifs de diabète de type II selon les catégories d'apports en vitamine D et d'exposition solaire (N=69 532).....	130
Tableau 24 : Caractéristiques de la population à l'inclusion de l'étude selon le taux de cholestérol et la prise de traitement hypolipémiant (N=69 088).....	139
Tableau 25 : Risques relatifs dans la population entière puis dans les strates définies par le statut ménopausique et les niveaux d'IMC (N= 69 088).....	142
Tableau 26 : Risques relatifs selon le statut des récepteurs hormonaux (N=69 088).....	143
Tableau 27 : Caractéristiques de la population à l'inclusion selon le statut cas/non-cas (N=63 726).....	148
Tableau 28 : Risques relatifs de cancers du sein ER+/PR+ et ER-/PR- selon la taille, le poids et l'IMC (N=63 726).	151
Tableau 29 : Risques relatifs de cancers du sein ER+/PR+ selon le TH, le TT, le RTH et la morphologie (N=63 726).	152
Tableau 30 : Risques relatifs de cancers du sein ER-/PR- selon le TH, le TT, le RTH et la morphologie (N=63 726).	153
Tableau 31 : Caractéristiques de la population selon le statut diabétique à l'inclusion.....	162
Tableau 32 : Risques de cancer du sein associés au statut diabétique et à la prise de traitement antidiabétique dans la cohorte E3N (N=69 026).....	163
Tableau 33 : Répartition des remboursements de traitement antidiabétique entre le 1er janvier 2004 et le 31 décembre 2008 dans la cohorte E3N (NB : une femme peut contribuer à plusieurs lignes).....	165
Tableau 34 : Caractéristique des cas de cancer du sein dont l'information sur le statut des récepteurs hormonaux est manquante.....	172
Tableau 35 : Risques relatifs de cancer du sein en postménopause selon la prise de THM.....	173

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Nombre de cas de cancer incidents et nombre de décès par cancer estimés chez la femme par ordre de fréquence décroissante en 2008 en France	22
Figure 2 : Evolution des taux d'incidence et de mortalité par cancer du sein chez la femme en France de 1980 à 2005.....	23
Figure 3 : Schéma de production et d'utilisation de l'insuline (IDF Diabetes Atlas, 4ed International Diabetes Federation 2009).....	29
Figure 4 : Prévalence du diabète traité par antidiabétiques oraux et/ou insuline, en France métropolitaine, en 2005 chez les personnes relevant du régime général de l'Assurance maladie stricto sensu (ref. evolution du diabete traite.pdf).....	31
Figure 5 : Complications majeures des suites d'un diabète. (IDF Diabetes Atlas, 4ed International Diabetes Federation 2009).....	32
Figure 6 : Méta-risque de cancer du sein associé à l'apport en vitamine D (dernière vs. première catégorie), Chen et al. 2010.....	43
Figure 7 : Chronologie des auto-questionnaires E3N et recueil des variables d'exposition principales	54
Figure 8 : Photos d'aide au remplissage du questionnaire alimentaire. Volumes standards de vin (A), bière (B), apéritifs (C) et de café/thé (D).....	60
Figure 9 : Photos d'aide au remplissage du questionnaire alimentaire. Exemple de portions standards de viande.....	61
Figure 10 : Schéma explicatif des questionnaires 4, 7 et 8 pour aider les femmes à mesurer leur tour de taille (mesure 3) et tour de hanche (mesure 4).....	64
Figure 11 : Répartition de la consommation de café et thé dans la cohorte E3N.....	82
Figure 12 : Répartition de la consommation d'alcool pur en nombre de verres par semaine (Standardisation 1 verre= 10 g d'éthanol).....	88
Figure 13 : Evolution de la consommation d'alcool pure (en L) en Europe de 1961 à 1998. Source : World Drink Trends 1999	96
Figure 14 : Gradient de dose moyenne journalière de radiation aux UVB (UVR, kJ/m ² /jr) du lieu de résidence des femmes de la cohorte E3N (N=67 721).....	105

LISTE DES ABREVIATIONS

25(OH)D	25 hydroxyvitamine D
Afssaps	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
BMB	Banque de Matériel Biologique
<i>BRCA</i>	<i>BReast CAncer</i>
CIRC-LARC	Centre International de Recherche sur le Cancer
Cepi-DC	Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès (Inserm)
CNIL	Commission Nationale Informatique et Libertés
CPP	Comité de Protection des Personnes
EFS	Etablissement Français du Sang
EPIC	European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition
ET	Écart-type
E3N	Étude Épidémiologique auprès de femmes de la MGEN
<i>HDL</i>	<i>High density lipoprotein</i>
HGPO	HyperGlycémie Provoquée Orale
IC 95 %	Intervalle de confiance à 95 %
<i>IGF-1</i>	<i>Insulin-like growth factor 1</i>
IMC	Indice de masse corporelle
Inserm	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
<i>LDL</i>	<i>Low density lipoprotein</i>
MET	Équivalent métabolique
MGEN	Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale
N, n	Effectif
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OR	Odds ratio
P	Poids
PA	Personne-Année
PTH	Parathormone
Q0, Q1, Q2, Q3, Q4, Q5, Q6, Q7, Q8, Q9	Questionnaires de l'étude E3N
RE+, ER+	Statut positif des récepteurs aux estrogènes
RE-, ER-	Statut négatif des récepteurs aux estrogènes
RP+, PR+	Statut positif des récepteurs à la progestérone
RP-, PR-	Statut négatif des récepteurs à la progestérone
RR	Risque relatif
RTH	Rapport tour de taille/tour de hanche
T	Taille
TH	Tour de hanche
THM	Traitement Hormonal de la Ménopause
TT	Tour de taille
<i>WCRF</i>	<i>World Cancer Research Fund</i>

INTRODUCTION

Section 1. Le cancer du sein

1.1 Processus biologique de la cancérogénèse mammaire

Le cancer du sein est une maladie qui se développe en plusieurs phases, dont une phase de latence de plusieurs années avant l'apparition de symptômes cliniques. Il résulte de l'accumulation d'altérations génétiques au cours de la vie et est accéléré par la diminution de la réparation génique (par exemple, inactivation de gènes suppresseurs de tumeur), l'activation d'oncogènes ou la présence d'agents mutagènes. Une tumeur cancéreuse se traduit par une prolifération cellulaire incontrôlée, une dédifférenciation histologique, une augmentation de l'angiogenèse (vascularisation) et une perte du contrôle apoptotique (mort cellulaire programmée). A partir d'une seule cellule maligne et après 20 doublements cellulaires (une cellule en donne 2, puis 2 en donnent 4, etc.), on obtient déjà un million de cellules tumorales, soit environ un milligramme de tissu malin. Si rien n'est fait, cette progression se poursuit. La masse de tissu tumoral augmente, elle se vascularise en sécrétant des molécules qui provoquent la formation de nouveaux vaisseaux sanguins (angiogénèse). Ceux-ci lui apportent les nutriments et l'oxygène nécessaires à sa croissance.

La cancérogénèse correspond à une succession d'étapes qui peuvent se chevaucher dans le temps pour aboutir à l'apparition clinique de la maladie et à son évolution éventuelle sous forme de métastases. Au cours de la première étape, dite phase d'initiation, une lésion stable du génome se transmet de façon irréversible lors de la division cellulaire et peut persister dans l'organisme pendant de nombreuses années à l'état latent (stade hyperplasique). Ensuite, lors de la deuxième phase, dite de promotion, d'autres altérations aboutissent à la prolifération d'une lésion pré-cancéreuse (stade dysplasique). Lors de la troisième phase, dite de progression, une tumeur maligne s'installe, puis des cellules métastatiques se propagent à d'autres tissus lors de la quatrième phase, dite d'invasion. Lorsque les cellules cancéreuses ont quitté leur tissu d'origine et commencé à envahir les tissus voisins, on parle de cancer invasif. Dans le cas contraire, on parle de cancer *in situ*. Les mécanismes moléculaires

sous-jacents au développement du cancer du sein sont encore incomplètement connus¹. On suppose que l'initiation de ce cancer est le résultat d'une prolifération cellulaire incontrôlée et/ou d'un processus d'apoptose aberrant qui seraient la conséquence d'une accumulation d'altérations génétiques entraînant l'activation de proto-oncogènes et l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeur². Ces altérations génétiques peuvent être germinales (et transmissibles), ou acquises ; dans ce dernier cas, elles pourraient être causées par des expositions à des carcinogènes environnementaux, qu'ils soient physiques, chimiques, ou biologiques. Parallèlement à l'accumulation de ces altérations génétiques, l'épithélium mammaire normal progresserait vers des lésions prolifératives bénignes et atypiques, puis vers le carcinome *in situ*, pour aboutir enfin à une tumeur invasive^{3,4}.

1.2 Epidémiologie descriptive du cancer du sein

1.2.1 Aujourd'hui

Avec 1,38 millions cas diagnostiqués en 2008 dont 690 000 dans les pays industrialisés, le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme à travers le monde, tant en termes de mortalité que d'incidence (devant les cancers colorectaux, utérus et du poumon)⁵. La France ne dispose pas de registre national pour mesurer l'incidence du cancer sur l'ensemble du territoire. De ce fait, les nouveaux cas sont estimés à partir des données de dix-sept registres départementaux créés depuis 1975 (date de création du premier registre dans le Bas-Rhin) et regroupés dans le réseau FRANCIM : FRANce-Cancer-Incidence et Mortalité en 1991⁶. On estime qu'en 2005, les dix-sept registres du réseau couvraient 13% de la population française. Avec plus de 51 000 nouveaux cas par an en France, le cancer du sein représente le premier cancer chez la femme⁵, soit 37% des cas de cancer en 2008 (Figure 1). Cette même année, en France, près de 12 000 décès par cancer du sein ont été recensés.

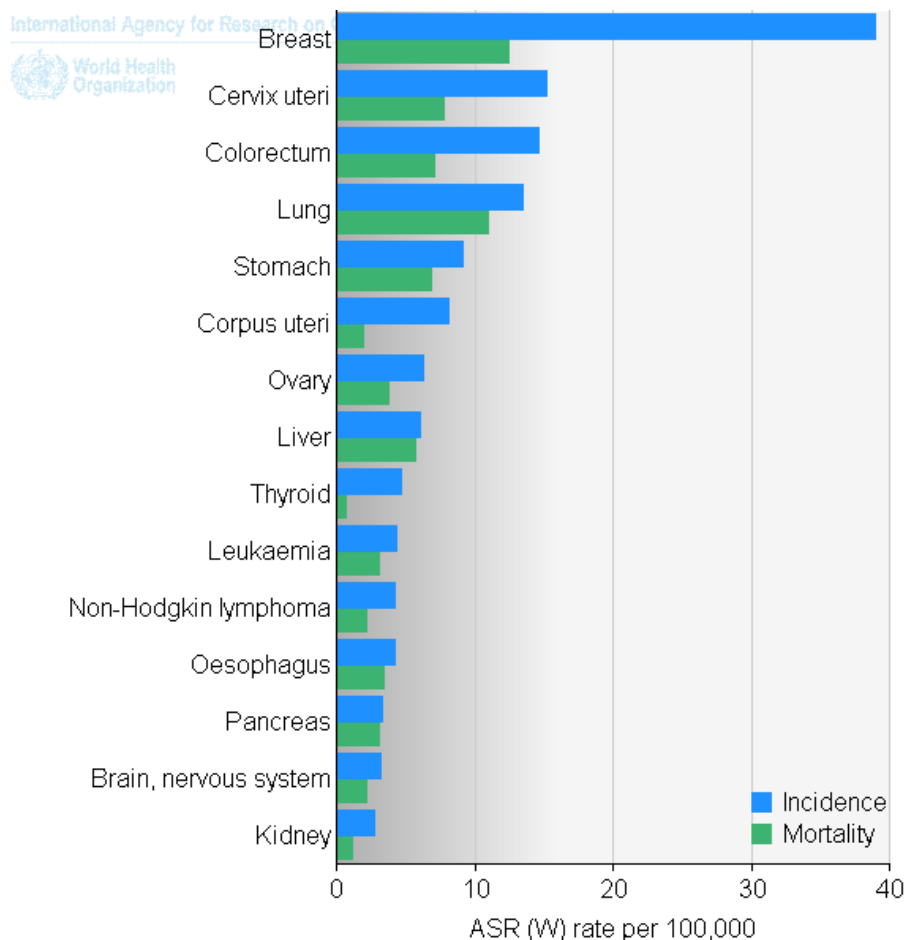


Figure 1 : Nombre de cas de cancer incidents et nombre de décès par cancer estimés chez la femme par ordre de fréquence décroissante en 2008 en France

1.2.2 Evolution de l'incidence de cancer du sein

Le taux d'incidence brut français standardisé sur la structure d'âge de la population mondiale est estimé à 99,7 pour 100 000 femmes en 2010. Il était l'un des plus élevés d'Europe en 2008⁵ et a presque doublé par rapport au taux de 56,8 pour 100 000 en 1980⁶. On peut cependant noter que depuis le dernier rapport de Belot et al en 2005⁶, où le taux d'incidence brut standardisé était estimé à 101,5 pour 100 000 femmes, l'incidence a très légèrement diminué.

La mortalité due au cancer du sein a, quant à elle, baissé ces dernières années⁶. Le taux de mortalité standardisé sur la population mondiale qui était de 19,4 en 1980 est passé à 17,6 pour 100 000 femmes en 2008. Alors qu'entre 1980 et 2000, le nombre de décès par cancer du sein était relativement stable, on a observé depuis une baisse de l'ordre de 1,3% par an (66 ref Pierre). Le contraste entre l'augmentation d'incidence et la diminution de la mortalité (Figure 2) peut s'expliquer en partie par

les changements du style de vie, l'amélioration des traitements mais également par le diagnostic plus précoce grâce notamment au programme national de dépistage. Si le développement de ce programme a pu faire croître transitoirement le taux d'incidence, on peut imaginer également que la légère diminution du taux entre le rapport de Belot et al en 2005 et les dernières données à disposition de 2008⁶ pourrait être liée à la baisse de 62% de la consommation de traitements hormonaux de la ménopause (THM) (facteur de risque du cancer du sein hormonaux, cf. Figure 2) entre 2000 et 2006. En effet la diminution massive de l'utilisation de ces traitements semble la seule modification majeure environnementale pouvant expliquer cette évolution⁷.

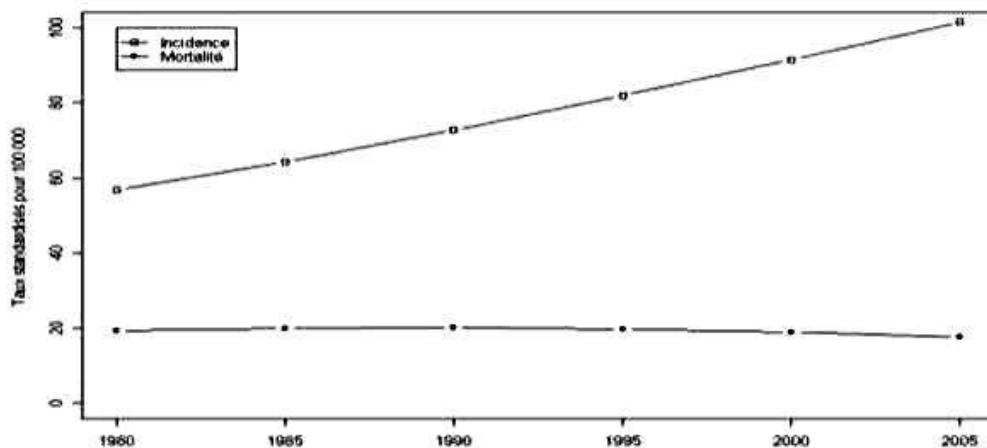


Figure 2 : Evolution des taux d'incidence et de mortalité par cancer du sein chez la femme en France de 1980 à 2005

1.2.3 Effet cohorte

Par ailleurs, le risque de développer un cancer du sein n'est pas le même pour une femme selon qu'elle est née au début des années 1900 ou actuellement. Le risque de cancer du sein d'une femme née en 1930 est le double de celui d'une femme née en 1910, mais il est aussi presque deux fois moindre que celui d'une femme née en 1950⁶. C'est ce phénomène que l'on nomme « effet cohorte » et dont il faut absolument tenir compte dans la modélisation des risques liés au cancer du sein, et en conséquence attribuer aux différentes générations des risques de base différents.

1.3 Facteurs de risque de cancer du sein

Le risque de développer un cancer du sein étant très inégal à travers le monde, nous pouvons faire l'hypothèse que les facteurs de risque varient considérablement d'une population à une autre. De nombreux facteurs de risque ont déjà été identifiés, même si l'étiologie du cancer du sein demeure incomplètement connue. On distingue quatre grands types de facteurs de risque : héréditaires, hormonaux, environnementaux et les facteurs de santé.

1.3.1 Facteurs héréditaires

Les antécédents familiaux constitueraient un facteur de risque majeur de cancer du sein⁸. Parmi les facteurs génétiques du cancer du sein, on distingue deux catégories : les facteurs dits de prédisposition familiale, qui seraient responsables d'environ 20% des cancers du sein du fait de l'effet cumulé de nombreux facteurs (physiologiques, enzymatiques, moléculaires...) et les formes familiales, qui causeraient de 5% à 10% des cancers du sein⁹.

La prédisposition familiale est une forme héréditaire de cancer, dans le sens où elle est inhérente à nos gènes. Elle est vraisemblablement due à l'effet conjoint de plusieurs facteurs de prédisposition transmis dans la famille, qui, en interagissant avec d'autres facteurs, confèrent séparément une augmentation modérée du risque de cancer du sein par rapport à la population générale (les gènes sont dits « à faible pénétrance »). La cause de la prédisposition reste cependant très difficile à déterminer. Il est établi par exemple que le risque de développer un cancer du sein augmente avec le nombre de cancers du sein dans la famille au premier degré (mère, soeur, fille) avec des risques relatifs allant de 1,80 à 3,90 pour les femmes ayant de 1 à 3 antécédents familiaux de cancer du sein⁸.

En revanche, ce que l'on appelle les formes familiales sont essentiellement dues à une mutation héréditaire de certains gènes qui, d'une part augmente considérablement le risque de cancer du sein chez un individu, et d'autre part est responsable des cancers précoces (survenue avant 40 ans). Les deux gènes les plus importants impliqués sont BRCA 1 sur le chromosome 17 et BRCA 2 sur le chromosome 13 (BRCA pour BReast CAncer). Les femmes portant une mutation de

l'un de ces gènes ont un risque de développer un cancer du sein au cours de la vie de 60 à 80%¹⁰. D'autres gènes mutés prédisposant également au cancer du sein ont été identifiés comme p53 ou encore ATM¹¹.

1.3.2 Facteurs hormonaux et reproductifs

Il est avéré que le cancer du sein est un cancer hormono-dépendant¹², ce qui explique notamment l'importance de l'imprégnation hormonale de la femme tout au long de sa vie. Ainsi, la durée d'exposition aux hormones endogènes, en particulier les hormones produites par les ovaires, a une influence sur le risque de survenue d'un cancer du sein^{13,14}.

De fait, l'âge aux premières règles, qui détermine le moment où les ovaires commencent à produire les hormones stéroïdiennes (estrogène et progestérone), est associé au risque de survenue de cancer du sein. Plus les premières règles surviennent précocement, plus le risque de cancer du sein augmente¹⁵. La durée des cycles de la femme ainsi que leur régularité constituent également un facteur de risque ; des cycles courts et réguliers pourraient augmenter le risque de cancer du sein^{16,17}. Enfin, une femme ménopausée, dont les ovaires ne produisent plus d'estrogènes ni de progestérone, est à moindre risque qu'une femme du même âge qui n'a pas atteint la ménopause¹⁸. De plus, on observe une augmentation du risque de cancer du sein avec l'augmentation de l'âge à la survenue de la ménopause.

Les grossesses menées à terme influent sur le risque de cancer du sein, et ce de manière bi-phasique. On observe une légère augmentation du risque dans les cinq à dix années suivant le terme de la grossesse, suivie d'une diminution du risque à plus long terme¹⁹. En outre, pour un âge égal à la première grossesse, plus le nombre d'enfants augmente, plus le risque de cancer du sein diminue, de l'ordre de 8% par enfant¹⁵. L'âge à la première grossesse est également un facteur important pour le risque de cancer du sein²⁰. En effet, plus la première grossesse menée à terme a lieu tôt, plus le risque de cancer du sein est diminué. Ainsi, une femme ayant eu sa première grossesse menée à terme à 30 ans a un risque augmenté de 50% par rapport à une femme l'ayant eue à 20 ans²¹. Enfin, le risque diminue d'environ 4% par année d'allaitement (durée cumulée d'allaitement)²².

Les taux d'hormones endogènes sont liés au risque de cancer du sein. Les associations sont d'autant plus marquées en post-ménopause²³⁻²⁵ : des taux élevés d'estradiol, d'estrone, de sulfate d'estrone, d'androstènedione, de déhydroépiandrostérone et de testostérone seraient associés à un risque accru de cancer du sein : les femmes des quartiles supérieurs ayant un risque approximativement doublé par rapport aux femmes des quartiles inférieurs. En revanche, Missmer et al ne mettent pas en évidence d'association significative entre niveau endogène de progestérone et risque de cancer du sein postménopausique²⁵. Des études menées parmi des femmes pré-ménopausées ont mis en évidence un risque de cancer du sein accru, lorsque les taux endogènes de progestérone étaient faibles et lorsque les taux d'androgènes étaient élevés^{26,27}.

La consommation d'hormones exogènes a récemment été reconnue comme cancérigène par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC). L'utilisation de contraceptifs oraux – consistant généralement en une association d'estrogènes et de progestatifs – serait associée au risque de cancer du sein. En effet, ce risque serait augmenté de près de 20% chez les femmes en cours d'utilisation et perdurerait jusque dix ans après l'arrêt du traitement²⁸. En revanche, ni la composition de la pilule (type d'estrogène ou de progestatif) ni sa durée d'utilisation ne sembleraient faire varier le risque.

Le traitement hormonal de la ménopause (THM) consiste généralement en l'administration d'estrogènes associés ou non à un progestatif pour pallier les troubles climatiques de la ménopause. Un bon nombre d'études, observationnelles et randomisées, s'accordent sur le fait que l'utilisation de THM est associée au risque de survenue de cancer du sein. Quatre études majeures ont été publiées à ce jour^{18, 29-32}. Les résultats successifs des différentes études menées jusqu'à présent vont dans le sens d'une augmentation du risque de cancer du sein associée à la prise d'un THM estro-progestatif combinant un estrogène à un progestatif de synthèse. Cette augmentation semble d'autant plus marquée que la durée d'utilisation est longue.

1.3.3 Facteurs environnementaux

L'impact de l'alimentation sur le risque de cancer du sein n'est pas clairement défini. Des hypothèses ont été suggérées quant aux effets de l'apport énergétique, des

graisses alimentaires et des fibres, mais toutes ces hypothèses ont été largement remises en cause par les grandes études prospectives sur le plan international³³. Néanmoins, une méta-analyse a conclu au rôle bénéfique de la consommation de légumes sur le risque de cancer du sein³⁴. Il est également possible qu'un apport en graisses animales ou encore en acides gras trans, issus de la transformation par l'industrie agroalimentaire³⁵, augmentent le risque de cancer du sein. En revanche, des apports en certains acides gras poly-insaturés réduisent le risque de cancer du sein³⁵. Nous le verrons en détail dans cette thèse, le seul facteur de risque de cancer du sein alimentaire clairement établi est la consommation d'alcool. Le risque de cancer du sein augmenterait de façon progressive et quasi linéaire avec la quantité d'alcool consommée³⁶. Mais il semble que ce soit d'avantage le type d'alimentation qui soit important, plutôt qu'un aliment en particulier. L'alimentation est liée à une augmentation de risque s'il s'agit d'une alimentation de type occidental, à une diminution de risque si elle est de type méditerranéen³⁶.

La pratique d'une activité physique régulière semble être un facteur protecteur de cancer du sein admis aujourd'hui^{9,37}. La réduction de risque associée à la pratique d'activité physique serait dépendante de son intensité, une activité physique vigoureuse étant plus profitable qu'une activité de faible intensité³⁸.

Enfin, surpoids et obésité sont des facteurs associés au risque de cancer du sein. La corpulence est notamment associée au risque de cancer du sein de façon duale, en fonction du statut ménopausique : le surpoids diminue le risque de cancer du sein avant la ménopause, mais l'augmente en postménopause (après la ménopause, la taille et l'adiposité abdominale sont également des facteurs de risque de cancer du sein)³⁹. En postménopause, les tissus adipeux sont en effet l'unique source de production d'estrogènes et c'est par ce mécanisme que le risque de cancer du sein augmenterait avec le niveau de corpulence. En revanche, en préménopause, le tissu adipeux agirait comme capteur d'hormones. Ces associations seront largement développées par la suite dans cette thèse (cf page 145).

1.3.4 Les facteurs de santé

La densité mammaire est un marqueur majeur vis-à-vis du risque de cancer du sein. Sur une image du sein à la mammographie, les rayons X passent facilement à

travers le tissu adipeux, qui apparaissent en foncé ; par contre, les tissus épithéliaux et conjonctifs sont plus denses et apparaissent en blanc sur l'image aux rayons X. Des études ont montré que les femmes avec la densité la plus élevée ont 4 à 6 fois plus de risque de cancer du sein que les femmes dont les seins sont presque entièrement constitués de tissu adipeux^{40, 41}. La densité mammaire serait donc un indicateur à la fois du nombre de cellules mammaires à risque de transformation cancéreuse et du degré de prolifération qui augmente les chances d'accidents génétiques menant à la transformation cancéreuse. La densité mammaire diminue avec l'âge et certains facteurs de risque de cancer du sein sont également associés à la densité mammaire : cette dernière serait plus élevée chez les femmes n'ayant pas d'enfants, une première grossesse tardive, une consommation d'alcool élevée, ou un indice de masse corporelle (en postménopause) important. Il semble cependant que les variations interindividuelles de la densité mammaire s'expliquent en grande partie par des facteurs génétiques⁴⁰.

Les maladies bénignes du sein, ou mastopathies bénignes, sont des facteurs de risque de cancer du sein. Cependant le risque est modulé selon le caractère prolifératif de la maladie⁴². On classe usuellement les maladies bénignes du sein en trois catégories : les lésions non prolifératives, les lésions prolifératives sans atypie et les lésions prolifératives avec atypie. Les lésions non prolifératives et prolifératives sans atypie sont associées à un faible sur-risque de cancer du sein, tandis que les lésions prolifératives avec atypie multiplient le risque par 4 environ⁴².

Enfin, il y aurait une association entre diabète et cancer du sein. Les femmes diabétiques auraient un risque 16% plus élevé que les femmes non-diabétiques⁴³. Cet aspect sera lui aussi développé par la suite (cf page 159).

Section 2. Le diabète

On parle de diabète lors d'une déficience pancréatique à produire suffisamment d'insuline, l'hormone qui régule la glycémie, ou lorsque l'organisme ne l'utilise pas correctement. Il en résulte une affection métabolique caractérisée par la présence d'une hyperglycémie chronique. Le dépistage du diabète est effectué grâce à une charge orale de 75g de glucose (test d'hyperglycémie provoquée orale, ou

HGPO). Les critères diagnostiques du diabète revus par l’OMS en 1999 indiquent que le diagnostic peut être établi de trois façons différentes :

- présence de symptômes de diabète (polyurie, polydypsie, amaigrissement) et glycémie (sur plasma veineux) $\geq 2,00$ g/L (11,1 mmol/L),
- glycémie (sur plasma veineux) à jeun $\geq 1,26$ g/L (7,0 mmol/L),
- glycémie (sur plasma veineux) à deux heures de l’HGPO $\geq 2,00$ g/L (11,1 mmol/L). (ref 12. AFSSAPS – HAS / Traitement médicamenteux du diabète de type 2 – Recommandations de bonne pratique – novembre 2006).

2.1 L’insuline

L’insuline est une hormone formée dans les îlots de Langerhans. Elle permet au glucose d’entrer dans les cellules et de leur fournir l’énergie dont elles ont besoin. Elle joue un rôle majeur dans le mécanisme du diabète. Quand le niveau de glucose est élevé dans le sang (par exemple après un repas), les cellules du pancréas sécrètent de l’insuline.

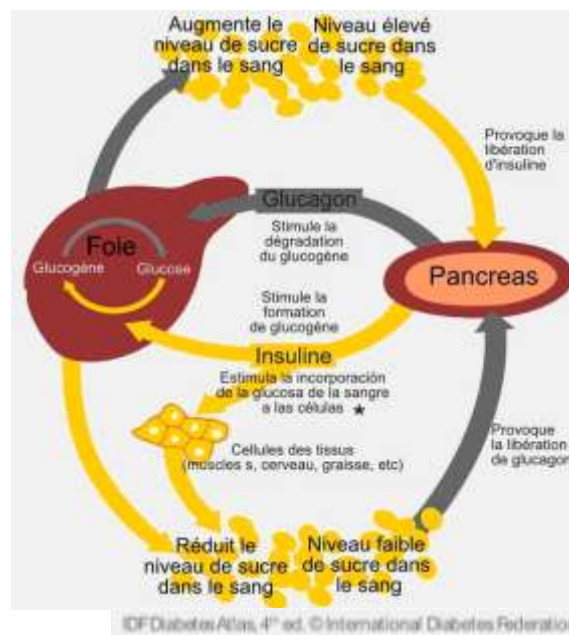


Figure 3 : Schéma de production et d’utilisation de l’insuline (IDF Diabetes Atlas, 4ed International Diabetes Federation 2009). * « Favorise l’incorporation du glucose par les cellules ».

On distingue deux types de diabète : le diabète de type I, anciennement appelé diabète insulino-dépendant, qui correspond à 10% des cas de diabète, et le diabète de type II, ou diabète non insulino-dépendant, qui correspond à 90% des cas.

2.2 Le diabète de type I

Ce type de diabète touche préférentiellement les personnes les plus jeunes et provient d'une destruction progressive des cellules β du pancréas, qui sécrètent l'insuline. Le seul traitement à l'heure actuelle consiste en une injection quotidienne d'insuline afin de compenser la destruction auto-immune de l'insuline sécrétée par le pancréas.

2.3 Le diabète de type II

Ce type de diabète touche généralement les personnes après 50 ans⁴⁴, même si on observe de nos jours une augmentation de l'incidence chez l'enfant⁴⁵. Longtemps asymptomatique, de nombreuses personnes ignorent leur état diabétique. En effet, c'est une pathologie qui se développe en deux étapes :

- Tout d'abord un état d'insulino-résistance s'installe, le pancréas devant produire toujours d'avantage d'insuline pour réguler la glycémie,
- Puis, après plusieurs années, vient la phase d'insulino-déficience, où le pancréas ne produit plus assez d'insuline.

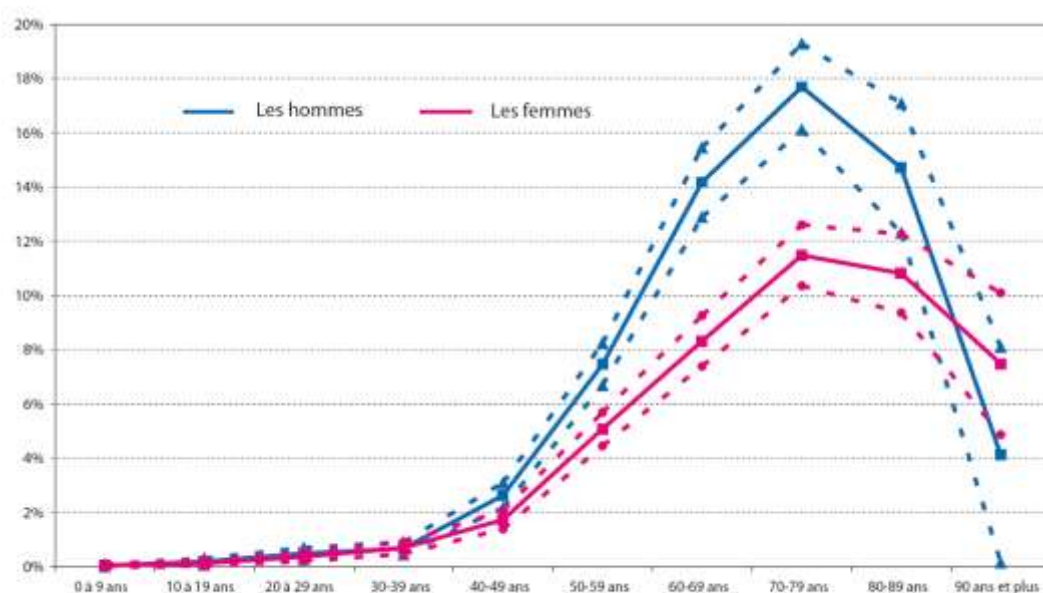
Il est ainsi très difficile d'évaluer la véritable incidence du diabète dans une population. Saudek et al⁴⁶ estiment à un tiers la proportion de personnes ignorant être diabétique, et le temps moyen entre la déclaration de la maladie et le diagnostic à 7 ans.

2.4 Epidémiologie descriptive du diabète

Wild et al⁴⁷ font état d'environ 171 millions de personnes diabétiques dans le monde en 2000⁴⁸ et prévoient jusqu'à 366 millions de diabétiques à l'horizon 2030.

Etre diabétique est associé à une diminution de l'espérance de vie, une augmentation du risque de comorbidité dû à des complications microvasculaires, une augmentation du risque de complications macrovasculaires (maladie cardiovasculaire ischémique, accident vasculaire cérébral) et une diminution de la qualité de vie (cf. Figure 5). L'Inde, la Chine et les Etats-Unis sont, et resteront, d'après les projections de King et al, les pays avec le plus grand nombre de diabétiques⁴⁹.

En France en 2007, on estimait, via les données de remboursement de traitement antidiabétique⁵⁰, à 2,5 millions le nombre de personnes diabétiques, ce qui représente une prévalence de l'ordre de 3,95%. On estime notamment que l'accroissement annuel de la prévalence du diabète traité en France se situe entre 3,2% (évolution calculée entre 1998 et 2000) et 5.7% (évolution calculée entre 2000 et 2005)⁵¹. D'autre part, Ricci et al estimaient qu'entre 2000 et 2009 la prévalence du diabète traité avait progressé de 2,6% à 4,4% et que le nombre de diabétiques traités était passé en France de 1,6 à 2,9 millions⁵². De plus, une disparité de la prévalence s'observe selon l'âge et le sexe de la personne (cf. Figure 4).



Les courbes en pointillés représentent les intervalles de confiance à 95 %.
 Source : CNAMTS – Direction de la stratégie, des études et des statistiques

Figure 4 : Prévalence du diabète traité par antidiabétiques oraux et/ou insuline, en France métropolitaine, en 2005 chez les personnes relevant du régime général de l'Assurance maladie stricto sensu (ref. evolution du diabete traite.pdf).

D'après le rapport de l'Afssaps de 2006 sur les traitements antidiabétiques (ref AFSSAPS antidiabetique full rapport.pdf), le diabète de type II serait la première cause de mise sous dialyse en France et l'une des premières causes de cécité ou

d'acuité visuelle altérée⁵³. De plus, les personnes diabétiques, en particulier les femmes, auraient un risque d'amputation de membre inférieur multiplié par 10 et de complications cardio-vasculaires multiplié par un facteur entre 2 et 3. D'autre part, c'est l'association très fréquente avec d'autres pathologies qui rend l'étude du diabète de type II particulièrement importante d'un point de vue de santé publique. En effet, parmi les adultes atteints d'un diabète de type 2 non diagnostiqué, 61 % sont hypertendus, 50 % hypercholestérolémiques, 30 % hypertriglycéridémiques. Une fois le diabète diagnostiqué, 50 % à 74 % sont hypertendus et 38 % à 60 % selon les pays sont porteurs d'une dyslipidémie⁵⁴⁻⁵⁶. On peut également citer l'augmentation du risque de maladies cérébrovasculaires (cf. Figure 5), de démence et d'accélération de la neurodégénérescence.⁵⁷

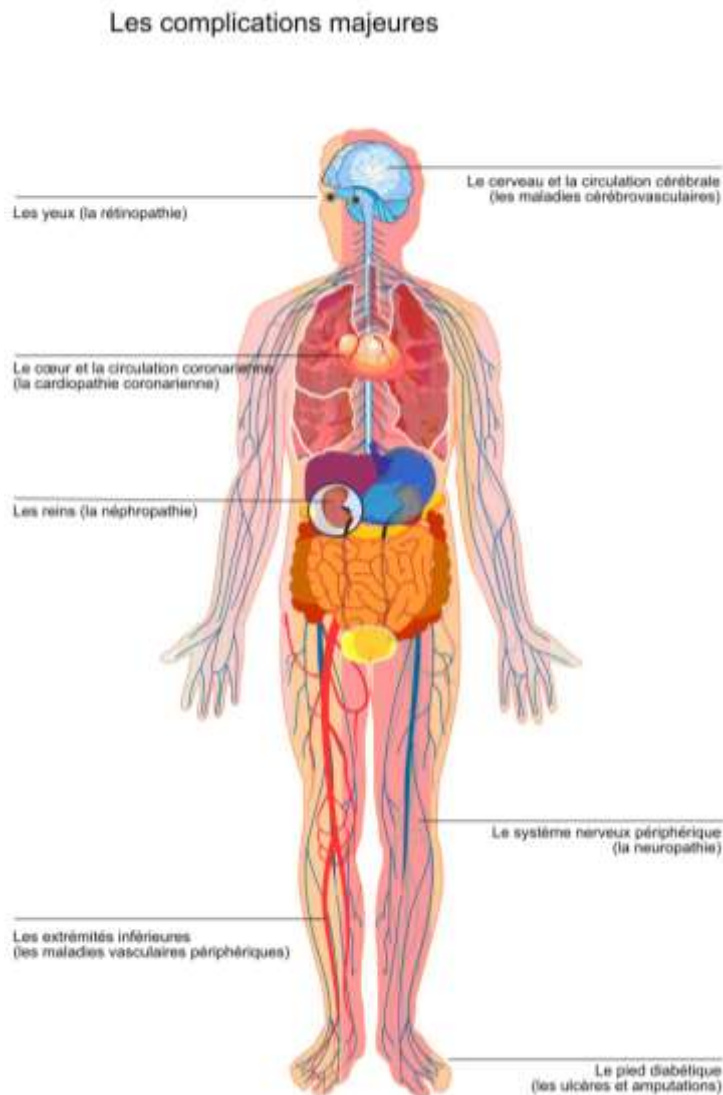


Figure 5 : Complications majeures des suites d'un diabète. (IDF Diabetes Atlas, 4ed International Diabetes Federation 2009)

L'étiologie du diabète est encore partiellement inconnue. Cependant de nombreux facteurs de risque sont déjà établis à l'heure actuelle.

2.5 Facteurs de risque de diabète

Si le diabète est une maladie possédant des facteurs de risque génétiques, Hu et al⁵⁸ ont néanmoins estimé que 91% des cas de diabète de type II féminin pourraient être évités avec un mode de vie sain (vis-à-vis du risque de diabète de type II) défini comme :

- ayant une activité physique vigoureuse ou modérée d'au moins 30 mn par jour,
- être non fumeuse,
- boire l'équivalent de 5 g d'alcool pur par jour (existence d'une relation en « U » entre consommation d'alcool et risque de diabète de type II),
- avoir une consommation faible d'acide gras trans et d'aliments à charge glycémique élevée,
- avoir une consommation élevée de fibres,
- avoir un ratio élevé d'acides gras polyinsaturés/acides gras saturés,
- et maintenir un IMC inférieur 25 kg/m².

Le facteur de risque environnemental principal est l'obésité. Son effet délétère est confirmé par la totalité des études de cohorte ou cas-témoin⁵⁹. L'étude majeure qui en fait état est celle de Hu et al en 2001⁵⁸, où 84,941 infirmières ont été étudiées entre 1980 et 1996. Les auteurs ont mis en évidence un risque de diabète multiplié par 20,1 (respectivement par 28,8) chez les personnes obèses (ou obèses sévères, IMC supérieur à 30 ou 35 kg/m² respectivement). Lorsque l'on regarde plus précisément les facteurs anthropométriques - que sont le tour de taille, le tour de hanche, ou le rapport tour de taille/tour de hanche - une méta-analyse a également conclu à une augmentation de risque de diabète de type II dans les mêmes proportions que celles observées pour l'IMC⁶⁰.

Parmi les autres facteurs de risque invoqués, le manque d'activité physique, un régime alimentaire riche en acides gras trans, ou encore le tabagisme, sont considérés comme avérés aujourd'hui^{61,62}.

En revanche, des études récentes ont suggéré un effet bénéfique de l'utilisation de THM. A partir des données de la cohorte E3N, De Lauzon-Guillain et al⁶³ ont trouvé qu'avoir déjà utilisé un THM, quel que soit son type et sa voie d'administration serait associé à une diminution du risque de 18% (RR=0,82 [0,72 – 0,93]). Cet effet serait renforcé lorsque l'on se restreint aux THM par voie orale (RR=0,68 [0,55 – 0,85]) en comparaison de ceux par voie cutanée (RR=0,87 [0,75 – 1,00]). En revanche, aucune différence de risque ne serait liée à la nature de la combinaison estrogènes-progestérones utilisée.

Le diabète est également une maladie à prédisposition familiale⁶⁴ impliquant des facteurs génétiques. En ce qui concerne le diabète de type I, environ 18 régions du génome ont été mises en avant comme influençant le risque. Plusieurs gènes se trouvent parfois dans ces régions, baptisées d'IDDM1 à IDDM18, la première région étant la plus étudiée à l'heure actuelle. La région IDDM1 contient notamment les gènes HLA (Human Leucocyte Antigens), dont les variations ont déjà été associés à un sur-risque de diabète de type I. Il existe par ailleurs deux autres gènes sur la région IDDM2 pour lesquels des études ont mis en évidence leur influence sur le risque de diabète de type I : le gène insuline et un gène proche du gène CTLA4 qui joue un rôle de régulation dans la réponse immunitaire⁶⁴. En revanche, pour le diabète de type II, qu'on nomme souvent le diabète « de l'adulte », des facteurs héréditaires seraient également impliqués même si toutefois les gènes en cause n'ont pas encore été identifiés aujourd'hui. Cependant, des études de liaison sur le génome entier ont permis, à l'heure actuelle, d'isoler deux gènes, CAPN10 et HNF4A⁶⁴ susceptibles d'être liés au risque de diabète de type II.

2.6 Syndrome métabolique

Outre l'obésité, c'est souvent un ensemble de facteurs métaboliques qui est mis en cause comme marqueur de risque de diabète de type II. Il s'agit du syndrome métabolique. Il désigne la présence, chez un individu, d'un ensemble de signes physiologiques qui accroissent le risque de diabète de type 2, de maladies cardiaques et d'accident vasculaire cérébral. Plusieurs définitions de l'OMS⁶⁵, de consensus américains⁶⁶ ou européens⁶⁷ existent, mais en 2005, la Fédération Internationale du Diabète (FID) a défini le syndrome métabolique comme la présence d'une obésité

abdominale (tour de taille égal ou supérieur à 80 cm pour les femmes, 94 pour les hommes) et d'au moins deux des facteurs de risque suivants :

- taux de triglycérides sanguins élevé (égal ou supérieur à 1,7 mmol/l ou 150 mg/dl) ou utiliser un traitement antitriglycéridique,
- hypertension (tension artérielle égale ou supérieure à 130 mm Hg/85 mm Hg) ou un traitement anti-hypertenseur,
- faible taux de cholestérol HDL (inférieur à 1,3 mmol/l ou 50 mg/dl chez les femmes),
- glycémie élevée à jeun (égale ou supérieure à 6,1 mmol/l ou 110 mg/dl).

L'inflammation (mesurée par le taux de protéine C-réactive) pourrait également faire partie de cette définition⁶⁸.

Le syndrome métabolique est lié au phénomène d'insulino-résistance, à savoir une réponse diminuée ou défectueuse à l'insuline. L'obésité, abdominale notamment, entrainerait une augmentation de la production de TNF α (*tumor necrosis factor alpha*), ce qui favoriserait l'insulino-résistance. Mais le syndrome métabolique ne serait pas uniquement un marqueur du diabète de type II puisqu'il stimulerait également, via le phénomène d'insulino-résistance, la croissance tumorale. Une stimulation indirecte des IGF (insuline-like growth factor) ou des mécanismes hormonaux serait en cause^{69,70}.

Cependant, il est important de noter que le syndrome métabolique défini comme tel n'est pas utilisé dans les recommandations pratiques de détermination des patients à risque cardiovasculaire et diabétique, promulguées par l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (ANAES) (www.has-sante.fr).

2.7 Les traitements du diabète

Il existe cinq classes principales d'antidiabétiques oraux (ADO) :

- Les biguanides : ces médicaments ont pour propriété de favoriser l'action de l'insuline dans l'organisme. Ils diminuent l'absorption du glucose au niveau de l'intestin et la production de sucre par le foie, mais ne peuvent jamais entraîner d'hypoglycémie. En France, il n'existe plus que les biguanides à base de metformine, les autres biguanides ne sont plus commercialisés.
- Les sulfamides hypoglycémisants : ils agissent directement sur le pancréas en stimulant la sécrétion d'insuline.

- Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase : ces médicaments agissent principalement sur l'augmentation du taux de glucose juste après les repas en ralentissant l'absorption des sucres contenus dans les aliments.
- Les glinides : ils agissent de la même façon que les sulfamides hypoglycémiantes en stimulant la sécrétion d'insuline.
- Les glitazones : ce sont les médicaments du diabète de type 2 les plus récents. Ils améliorent la sensibilité à l'insuline des tissus notamment musculaires et graisseux. Ils permettent de créer de nouvelles cellules graisseuses qui pourront stocker le sucre et les graisses circulant dans le sang.

En France, le traitement majoritairement utilisé pour lutter contre le diabète de type II est le glucophage[®], contenant de la metformine. Utilisée depuis 1957, la metformine est un agent anti-hyperglycémique, qui présente des effets bénéfiques pour le traitement du diabète, principalement pour les patients en surpoids ou obèses⁷¹. Son absorption intestinale est incomplète, puisque seulement 70 à 80% de la dose ingérée est effectivement utilisée, accumulée dans le tube digestif, les glandes salivaires et le rein. Parmi les effets indésirables répertoriés, les plus fréquents sont d'ordre digestif (anorexie, nausées, troubles du transit, diarrhée, goût métallique dans la bouche)⁷². Mais l'effet indésirable le plus grave demeure l'acidose lactique (excès d'acide lactique dans l'organisme), avec un taux de mortalité associé variant de 30 à 50%⁷³⁻⁷⁵.

Section 3. Etat de l'art sur les facteurs d'exposition étudiés

Le sujet de recherche de cette thèse porte sur le lien entre un ensemble de facteurs alimentaires ou environnementaux et les risques de cancer du sein et de diabète de type II. Nous allons passer en revue ici l'état des connaissances sur l'influence de chaque facteur sur nos deux pathologies d'intérêt.

3.1 Aliments et nutriments

3.1.1 Alcool

L'alcool est consommé dans le monde entier et en grande quantité. Il causerait, selon l'OMS, la mort de 2,5 millions d'individus chaque année. Evaluer les risques spécifiques de cancer du sein et de diabète de type II liés à ce facteur environnemental est primordial.

Consommation d'alcool et risque de cancer du sein

La consommation d'alcool est un facteur de risque avéré de cancer du sein. En 2002, Chen et al⁷⁶ ont relevé une augmentation significative de 33% du risque de cancer du sein pour les femmes buvant plus de deux verres par jour (soit 20 g d'éthanol par jour). La Million Women Study, plus récemment, a estimé qu'une augmentation de chaque verre supplémentaire accroissait le risque linéairement de 12%⁷⁷. Selon le statut en récepteur hormonal, l'augmentation de risque serait particulièrement marqué sur les cancers ayant un statut de type ER+⁷⁸.

S'agissant du type de boisson consommée, cette même étude suggère que la consommation de bière serait associée à un sur-risque de 15%.

En 2007, le WCRF³³ a classé la consommation d'alcool comme facteur de risque de cancer du sein « convaincant » à la fois en pré- et en postménopause, ce facteur bénéficiant d'un faisceau de preuves suffisant au vue de la littérature existante. Ce rapport a également établi qu'un incrément de 10 g d'éthanol par jour

(soit environ 1 verre d'alcool standard) était associé à une augmentation de 10% du risque de cancer du sein et que cette augmentation de risque était plus marquée chez les utilisatrices de THM. Par contre, ce rapport ne conclut pas à un effet propre d'un type d'alcool consommé en particulier.

Pour expliquer les associations précédentes, plusieurs mécanismes ont été suggérés, le premier étant celui lié à la production d'estrogène. Les études citées précédemment⁷⁶⁻⁷⁸ montrent que la consommation d'alcool est corrélée au taux d'estrogène, et cette relation serait plus marquée pour les tumeurs ER+ ou chez les femmes utilisant des THM. L'alcool agirait également en augmentant la densité mammaire (que l'on sait fortement associée au risque de cancer du sein). L'autre hypothèse serait que l'alcool agirait comme un cocarcinogène, en augmentant la perméabilité des membranes cellulaires aux carcinogènes, ou en inhibant la détoxification des carcinogènes.

Mais si l'alcool est considéré comme un facteur de risque global de cancer du sein, il persiste encore certaines incertitudes quant à la relation existante entre la consommation d'alcool et le risque de certains types de cancer du sein. En effet, s'il est avéré que la consommation d'alcool est associée à un sur-risque pour les tumeurs ER+, il persiste des zones d'ombre sur les cancers ER-/PR- par exemple. De même, peu d'étude de cohorte ont une information détaillée sur le type de boisson alcoolisée consommée. L'étude de cohorte E3N permet une évaluation globale de ces risques par type de cancer du sein et par type de boissons consommées dans une population française.

Consommation d'alcool et risque de diabète

Contrairement au cancer du sein, l'association entre le risque de diabète et la consommation d'alcool ne semble pas linéaire. Des revues de la littérature ont mis en évidence une relation en « U » ou en « J » entre le risque de diabète et la consommation journalière d'alcool⁷⁹⁻⁸². Ainsi une consommation modérée (inférieure à 4 verres par jour) serait associée à une diminution de risque de l'ordre de 30 à 40% par rapport aux non-consommatrices. En revanche, il y aurait un sur-risque pour les grandes consommatrices (> 4-5 verres/jour) par rapport aux non-consommatrices. S'il semble y avoir un consensus sur la forme de la relation entre consommation d'alcool pur et risque de diabète, peu de résultats permettent de statuer sur le rôle du

type d'alcool consommé dans cette relation, même si certaines études suggèreraient une diminution du risque liée au vin⁸³. Par contre, Wannamethee et al ont montré qu'une consommation élevée (> 30 g/jr) de liqueurs/digestifs serait associée à une augmentation de risque de 150% par rapport aux faibles consommations.

3.1.2 Café, thé, caféine

Consommation de café/thé/caféine et risque de cancer du sein

La littérature existante sur le lien entre le risque de cancer du sein et la consommation de café, de thé ou de caféine n'a pas permis, à l'heure actuelle, d'établir clairement le sens des relations : une revue récente de la littérature a montré, après agrégation des résultats d'études de cohorte et cas-témoins qu'il n'y aurait pas d'association⁸⁴. En revanche, deux études^{85, 86} ont suggéré un sur-risque en postménopause pour des tumeurs ER-/PR- ou de taille supérieur à 2cm pour des femmes buvant au moins 4 tasses de café quotidiennement, par rapport aux non-consommatrices. En préménopause en revanche, une revue de la littérature a évoqué un effet bénéfique léger pour les grandes consommatrices⁸⁷. Une hypothèse avancée par les auteurs^{88, 89} serait qu'une consommation élevée de café ou de thé, a fortiori de caféine, serait associée à une concentration plasmatique élevée d'hormones (estradiol, progestérone) et favoriserait la cancérogénèse. A notre connaissance, aucune étude à l'heure actuelle ne s'est intéressée à la fois au risque selon le statut ménopausique et le statut en récepteur aux hormones de la tumeur.

Consommation de café/thé/caféine et risque de diabète

Certains composants du café (magnésium, acides chlorogéniques, lignanes)⁹⁰ ont été soupçonnés d'avoir un rôle dans le métabolisme du glucose, laissant présager de possibles applications dans la prévention du diabète de type II. Par exemple, une consommation élevée de café est associée à une réduction dans l'absorption et le stockage du glucose^{91, 92}. Des études de cohorte⁹³⁻¹⁰² ont également suggéré une association inverse entre la consommation de café et le risque de diabète de type II, renforçant ces hypothèses biologiques. Dans une revue de la littérature de 2005, Van Dam et al⁹⁴ ont conclu à une diminution du risque de 35% liée à une consommation

d'au moins 6 à 7 tasses de café par jour, quels que soient le sexe, la région (Etats-Unis ou Europe), et l'IMC.

En ce qui concerne le thé, ses effets sont de plus en plus fréquemment étudiés, mais aucun consensus sur la relation avec le risque de diabète n'a été proposé à l'heure actuelle. Un certain nombre d'études ont conclu à une association inverse^{99, 103, 104} alors que d'autres ont conclu à une absence d'association¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. Mais le fait que, après l'eau, le thé soit la boisson la plus consommée au monde en fait un facteur environnemental d'intérêt majeur¹⁰⁸.

3.1.3 Viande

Il est établi que la viande, en particulier la viande rouge, est une source importante de protéines et de nutriments essentiels comme le zinc ou la vitamine B12. Cependant, des études récentes ont conclu que sa consommation pouvait augmenter le risque de maladie cardiovasculaire et de cancer du côlon^{109, 110}. Aux yeux du grand public, une image négative liée à ces résultats est de plus en plus fréquemment associée à la consommation de viande, en particulier de viande rouge. Son étude vis-à-vis du risque de cancer du sein et de diabète de type II permettra d'approfondir la littérature existante.

Consommation de viande et risque de cancer du sein

A l'heure actuelle, la relation entre la consommation de viande, quel que soit son type, et le risque de cancer du sein n'est pas établie : une méta-analyse regroupant les résultats de 20 études a conclu à une absence d'association¹¹¹. Comme évoqués précédemment, les rôles de la viande rouge et de la viande préparée industriellement sont avérés pour d'autres localisations de tumeur, comme le colon et le rectum³³. Des associations similaires sont suspectées pour les cancers de l'œsophage, du poumon, du pancréas, de la prostate et de l'endomètre¹⁰⁹. La question reste toutefois d'actualité pour le cancer du sein, puisque de nombreux composants de la viande ont des propriétés estrogéniques, comme les amines hétérocycliques, le fer et les résidus d'hormones. Un effet via les récepteurs hormonaux est possible : Cho et al¹¹² ont conclu à un effet de la viande rouge pour les cancers ER+/PR+ en préménopause. De même Taylor et al¹¹³ ont conclu, dans leur méta-analyse, que la consommation de

viande rouge était associée à un sur risque de cancer du sein en préménopause (RR=1,24 [1,08 – 1,42]). En 2007, une étude menée sur la Women's Cohort Study¹¹⁴ en Angleterre a révélé que c'était la viande préparée industriellement qui serait le plus fortement associée au risque de cancer du sein (RR=1,64 [1,14 – 2,37] pour les grandes consommatrices comparées aux non-consommatrices). Globalement, les auteurs de cette étude ont montré un effet dose, indépendamment du type de viande consommée et du statut ménopausique : les femmes qui consommaient le plus de viande étaient les plus à risque de déclarer un cancer du sein. D'autre part, il semblerait que le mode de cuisson dans la consommation de viande rouge n'influerait pas sur le risque de cancer du sein¹¹⁵, du moins en postménopause.

Dans les études sur l'impact d'une consommation élevée de viande, il est primordial d'étudier les différents types de viande séparément, puisqu'en effet, même si la viande préparée industriellement n'est pas directement associée au risque de cancer du sein³³, sa consommation fait souvent partie d'un régime alimentaire peu sain, qui serait associé au risque de cancer du sein¹¹⁶.

Consommation de viande et risque de diabète

S'agissant du diabète, de nombreuses études¹¹⁷⁻¹²¹ et une revue de la littérature/méta analyse¹²² ont conclu à un sur-risque lié à la consommation de viande, notamment préparée industriellement. Dans cette dernière étude, le risque relatif est estimé à 1,17 [0,92-1,48] pour la consommation totale de viande, à 1,21 [1,07-1,38] pour la viande rouge et à 1,41 [1,25-1,60] pour la viande préparée industriellement. Il faut néanmoins noter qu'une hétérogénéité des données a été détectée dans cette méta-analyse conduisant les auteurs à s'interroger sur une confusion résiduelle pour expliquer ces associations. Villegas et al¹²³ ont émis l'hypothèse d'une interaction avec la corpulence, puisqu'ils trouvent un sur-risque pour une consommation élevée de viande préparée industriellement chez les femmes obèses et une diminution de risque chez les plus maigres d'entre elles. Azadbakht et al¹²⁴ ont également suggéré une association statistique entre la consommation de viande rouge, le syndrome métabolique et l'inflammation, ce qui pourrait ainsi indirectement impacter le risque de diabète de type II.

3.1.4 Vitamine D

La vitamine D existe sous deux formes:

- L'ergocalciférol (vitamine D2) est d'origine fongique. Il est également produit grâce à l'irradiation par les rayons ultraviolets (UV) de l'ergostérol, présent dans les levures.
- Le cholécalciférol (vitamine D3) est la forme majoritaire, il peut provenir d'une source animale comme le poisson, mais est principalement produit par la photosynthèse cutanée à partir du 7 déhydrocholestérol¹²⁵. Au niveau de la peau, les rayons UVB permettent la formation de vitamine D3 à partir de longueurs d'onde comprises environ entre 290 – 315 nm.

Ces différentes formes sont soit stockées dans les cellules graisseuses, soit relarguées dans la circulation sanguine, liées à une protéine appelée « Vitamin D Binding Protein ». Elles subissent ensuite une série d'hydroxylations dans le foie, très étroitement régulées par le calcium mais également par l'hormone parathyroïdienne (PTH), pour former la 25 hydroxyvitamine D (25(OH)D), (25(OH)D2 ou 25(OH)D3 selon la forme de vitamine D absorbée). La 25(OH)D est le métabolite qui reflète le mieux la concentration réelle de vitamine D dans l'organisme. Sa demi-vie est de l'ordre de trois à quatre semaines. C'est le métabolite qui sert de référence pour l'évaluation du statut vitaminique D.

Vitamine D et risque de cancer du sein

Ce sont des études écologiques qui ont historiquement émis l'hypothèse d'une relation inverse entre exposition solaire et incidence et mortalité par cancer du sein¹²⁶⁻¹²⁹. Or, le statut vitaminique d'un individu est le reflet de la balance entre apports alimentaires vitaminiques et contribution des apports issus de l'exposition solaire^{130, 131}. Cette dernière peut être comprise entre 50 et 90% selon la latitude, la saison et selon les habitudes personnelles d'exposition¹²⁵.

Deux mécanismes biologiques ont été suggérés pour expliquer les associations entre la vitamine D et le risque de cancer du sein^{132, 133} : une voie endocrine par laquelle la 1,25(OH)2D circulante atteindrait directement la glande mammaire pour exercer son effet anticancéreux, et une voie paracrine impliquant la

25(OH)D, qui en atteignant le tissu mammaire, est catalysée en 1,25(OH)2D par une 1-alpha-hydroxylase présente localement dans les cellules du sein¹³³.

A l'heure actuelle, huit études cas-témoins¹³⁴⁻¹⁴¹ et six études de cohorte¹⁴²⁻¹⁴⁷ ont examiné l'association entre consommation alimentaire de vitamine D et risque de cancer du sein à l'échelle populationnelle. Parmi ces études, certaines ont suggéré une diminution du risque de cancer du sein avec des apports élevés en vitamine D chez les femmes ménopausées^{141, 147} alors que d'autres retrouvaient l'association en préménopause uniquement^{134, 143, 145}. Dans la récente méta-analyse de Chen et al de 2010¹⁴⁸, une diminution significative de 17% du risque est mise en évidence avec les apports les plus élevés en vitamine D chez les femmes préménopausées (RR = 0,83 [0,73 – 0,95] alors que cette diminution n'était pas retrouvée chez les femmes ménopausées (RR = 0,94 [0,83 – 1,07]). Mais il faut cependant garder à l'esprit que les populations étudiées étaient majoritairement issues des Etats-Unis ou du Canada, pays dans lesquels l'alimentation est fréquemment enrichie en calcium et en vitamine D par rapport à l'Europe^{149, 150}. De plus, même si certaines études précitées en ont tenu compte^{134, 138, 143, 145}, toutes n'ont pas ajusté sur l'activité physique, qui est potentiellement un facteur de confusion dans la relation vitamine D – risque de cancer du sein, ce qui pourrait entraîner un biais dans les estimations.

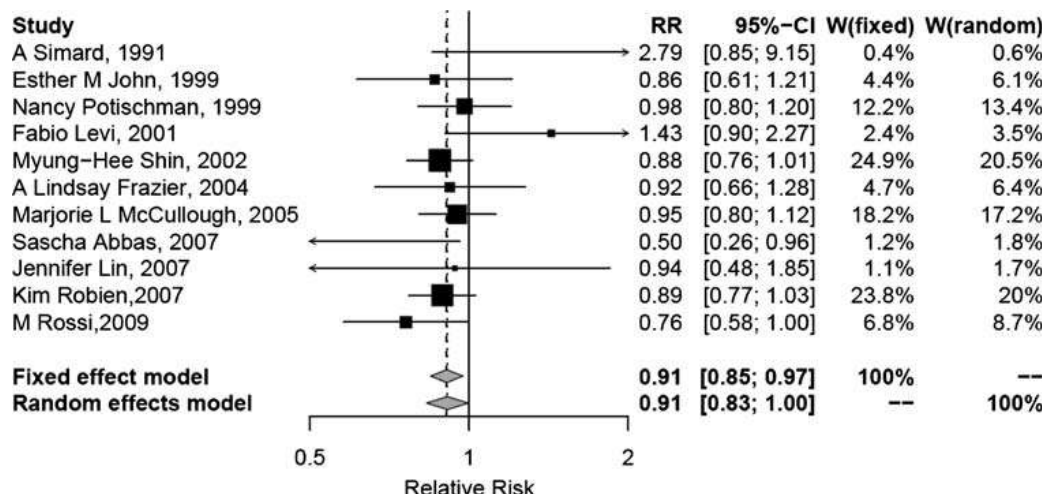


Figure 6 : Méta-risque de cancer du sein associé à l'apport en vitamine D (dernière vs. première catégorie), Chen et al. 2010

Vitamine D et risque de diabète

La pathogenèse du diabète de type II implique à la fois un dysfonctionnement des cellules β et une insulino-résistance. Des études *in vitro* ont

suggéré un rôle important de la vitamine D à la fois vis-à-vis des cellules β et vis-à-vis de l'insulino-résistance. Chiu et al¹⁵¹ ont montré que le taux de vitamine D était négativement corrélé au dysfonctionnement des cellules β et à l'insulino-résistance parmi 126 adultes ayant une glycémie normale.

Globalement, une littérature assez riche existe sur le lien entre la vitamine D et le risque de diabète, de type I et II, même si de nombreuses limites en terme de design d'étude peuvent être soulignées. Des effets sur le contrôle des mécanismes inflammatoires d'un individu ou encore sur sa sécrétion d'insuline sont donc suspectés *in vitro*¹⁵²; à l'échelle populationnelle, une association a été mise en évidence entre la carence en vitamine D et le risque de diabète de type II¹⁵³. Une revue de la littérature/méta-analyse en 2007 a déterminé qu'un taux élevé en vitamine D serait associé à une diminution du risque de 64% (OR = 0,36 [0,16 – 0,80])¹⁵⁴. En revanche, ces résultats ne permettent pas un consensus clair en santé publique sur le rôle de la vitamine D puisque la majorité des études de cette méta-analyse » sont transversales et n'ajustaient pas sur de nombreux facteurs de confusion¹⁵⁴. Les études interventionnelles existantes souffrent généralement d'une durée trop faible et d'un nombre de sujets limité.

La vitamine D pourrait également avoir un effet indirect sur le risque de diabète, via son effet sur l'obésité ou plus généralement sur des composantes du syndrome métabolique. En effet, il existe une corrélation inverse entre le taux de vitamine D et de nombreuses mesures anthropométriques, dont le poids, l'IMC et le tour de taille (TT)¹⁵⁵⁻¹⁵⁷ ainsi que vis-à-vis du taux de cholestérol HDL, de l'hypertension et de l'hypertryglycémie. Mais en revanche, les études qui se sont intéressées à l'effet d'une supplémentation en vitamine D sur la perte de poids n'ont pas mis en évidence de lien¹⁵⁸.

3.2 Composantes du syndrome métabolique

3.2.1 Le cholestérol

Le cholestérol est une molécule indispensable à l'organisme fabriquée aux deux tiers par le foie et apportée pour un tiers par l'alimentation. Il est présent dans

la paroi des cellules et leur donne la souplesse nécessaire. Le cholestérol utilise des transporteurs qui lui permettent de circuler dans le sang : les lipoprotéines HDL (High density lipoprotein) et LDL (Low density lipoprotein). Le HDL récupère le cholestérol dans les organes qui en ont trop pour le rapporter au foie où il est transformé avant d'être éliminé. On parle alors de "bon cholestérol". Le LDL, surnommé "mauvais cholestérol", transporte le cholestérol du foie et le cholestérol alimentaire vers toutes les cellules. Quand les LDL fonctionnent mal ou sont en excès, le taux de cholestérol dans le sang augmente. Le cholestérol s'accumule et forme des plaques qui peu à peu bouchent les artères, notamment celles du cœur. Les plaques réduisent leur calibre, rendent le passage du sang de plus en plus difficile et peuvent favoriser la formation de caillot. Quand le sang ne passe plus, les cellules, privées d'oxygène, meurent. C'est l'accident ischémique qui, selon l'artère obstruée, peut entraîner un infarctus du myocarde, un accident vasculaire cérébral ou une artérite des membres inférieurs.

Un taux de cholestérol élevé se traite, en premier lieu par une modification du régime alimentaire, puis, si nécessaire, par l'utilisation d'un traitement hypolipidémiant.

Traitement hypolipidémiant

Les hypolipidémiants sont des médicaments qui modifient les concentrations plasmatiques du cholestérol total, du LDL cholestérol, du HDL cholestérol et des triglycérides, et permettent ainsi une diminution du risque d'infarctus myocardique et de décès de cause cardiovasculaire. Les hypolipidémiants sont classés en fonction de leur mécanisme d'action. Il existe deux groupes majeurs d'hypolipidémiants, les statines et les fibrates :

- Les statines sont efficaces dans la diminution du taux de cholestérol dans le sang. Ce sont des inhibiteurs de l'« HMG CoA réductase », enzyme clé de la synthèse du cholestérol. La prise de statines se traduit par une baisse du LDL cholestérol. Les statines abaissent aussi les triglycérides et augmentent le HDL cholestérol, mais ces effets sont moins importants. Les principaux effets secondaires des statines sont d'ordre hépatique et musculaire. Elles peuvent provoquer des myalgies (douleurs musculaires) et des douleurs aux insertions tendineuses. Les statines exposent également au risque de cytolysse hépatique (destruction progressive des cellules du foie)
- Les fibrates interfèrent avec le métabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides et provoquent une baisse des triglycérides, ainsi qu'une élévation

du HDL cholestérol. Ces produits abaissent également le LDL cholestérol, mais cet effet est moins net. Les fibrates peuvent également provoquer des myalgies et exposent aux risques de cytolyse hépatique et de lithiase biliaire.

Taux de cholestérol et risque de cancer du sein

Le lien entre le taux de cholestérol, le HDL, LDL cholestérol et le risque de cancer du sein n'est pas clairement établi. Certaines études ont montré une relation inverse¹⁵⁹⁻¹⁶² alors que d'autres n'ont montré aucune association¹⁶³⁻¹⁶⁶. Cependant, ces études ne disposaient pas de l'information sur la prise de traitements hypolipémiants. Ainsi, les études considéraient dans une même catégorie les femmes à taux de cholestérol naturellement bas avec celles ayant un taux artificiellement bas grâce à l'utilisation de statines ou fibrates.

Une étude de Boyd and McGuire en 1990¹⁶⁷ avait mis en évidence une association entre le HDL cholestérol et le risque de cancer du sein, qui pouvait s'expliquer par le fait qu'un taux HDL est associé à une forte consommation d'alcool, qui est un facteur de risque avéré. En ce qui concerne les traitements hypolipémiants, aucune étude prospective n'a conclu à une association entre la prise de statines et le risque de cancer du sein¹⁶⁸⁻¹⁷³. Mais ces études ne disposaient pas d'information, ni sur le taux de cholestérol des femmes, ni sur le statut ménopausique, ou encore sur le statut en récepteur aux hormones de la tumeur.

Taux de cholestérol et risque de diabète

Un faible taux de cholestérol HDL (inférieur à 1,3 mmol/l ou 50 mg/dl chez les femmes) est l'une des composantes majeures du syndrome métabolique, que l'on sait fortement associé au risque de diabète de type II¹⁷⁴. Klein et al ont montré que, dans leur étude, le cholestérol total ou encore le rapport cholestérol total/HDL cholestérol étaient les facteurs de risque les plus importants de diabète, devant l'IMC, le taux d'acide urique ou la pression artérielle. Même si l'association n'était pas significative, le risque de déclarer un diabète pour les femmes dans la catégorie la plus élevée était augmenté de 55% par rapport à la classe la plus faible. Dans cette même étude, les auteurs ont estimé un risque relatif (ajusté sur l'âge et le sexe) à 33,67 [7,92 -142,96] pour les individus ayant 4 des composantes du syndrome métabolique. Il est à noter que, dès que l'une des composantes du syndrome métabolique était présente à l'inclusion de l'étude, il s'agissait à 83% d'un cholestérol trop élevé. En

2009, Ley et al¹⁷⁵ ont mesuré les risques associés aux différentes composantes du syndrome métabolique. Ils ont conclu d'une part, à un risque relatif de $RR=1,49$ [1,05 – 2,12] pour une augmentation d'1 mmol/L de LDL cholestérol, et en parallèle, une diminution de risque de 69% ($RR=0,31$ [0,12 – 0,79]) pour une augmentation d'1 mmol/L de HDL cholestérol.

3.2.2 Facteurs anthropométriques

De nombreux facteurs anthropométriques existent pour décrire la corpulence ou la répartition de la masse grasse d'un individu. L'indice de masse corporelle (IMC), le poids, le tour de taille (TT), le tour de hanche (TH) et le ratio tour de taille/tour de hanche (RTH) sont parmi les indicateurs les plus fréquemment utilisés pour traduire la distribution de tissu adipeux^{70,176}.

Anthropométrie et risque de cancer du sein

De nombreuses études et méta-analyses¹⁷⁷⁻¹⁸⁰ se sont déjà intéressées aux liens entre le risque de cancer du sein et les différents facteurs anthropométriques précités. La plupart de ces études ont analysé le risque selon le statut ménopausique et le statut en récepteurs aux hormones. Toutefois, certaines associations, concernant les risques de cancer du sein en préménopause et ER-/PR-, sont très controversées, ce qui est principalement dû au faible nombre de cas dans ces catégories.

L'IMC est le facteur de risque le plus fréquemment investigué dans la littérature. Il est associé à une augmentation de risque en postménopause, et ce, de manière plus marquée pour les tumeurs ER+, et à une diminution de risque en préménopause. Il semblerait que les populations asiatiques soient épargnées par cette association, ce qui pourrait s'expliquer par un manque de puissance dans les catégories de femmes ayant une adiposité élevée¹⁷⁷⁻¹⁸³.

Par contre, le lien entre l'obésité abdominale et le risque de cancer du sein n'est pas avéré. Caractérisée par un tour de taille élevée, l'obésité abdominale est souvent associée à une augmentation de risque pour les cancers du sein en postménopause, mais non en préménopause^{184, 185}. Mais cette association disparaît lorsque les modèles sont ajustés sur l'IMC. La forte corrélation entre ces deux

facteurs laisse penser qu'un tour de taille élevé n'est finalement que le reflet de la corpulence¹⁸⁵⁻¹⁸⁸.

Très peu d'études étudient spécifiquement l'effet d'un tour de hanche élevé sur le risque de cancer du sein¹⁷⁶. En revanche, certaines études ont combiné, via le RTH, l'information du tour de taille et du tour de hanche pour décrire la répartition de la masse grasse, mais les résultats ne sont pas consistants¹⁸⁵.

Des mécanismes hormonaux ont été mis en avant pour expliquer les associations mentionnées ci-dessus. Il semblerait que le taux d'estradiol soit inversement associé à l'IMC en préménopause (relation en « U inversé »)^{189, 190}, et positivement associée à l'IMC en postménopause (relation linéaire)¹⁸⁴. Comme l'obésité centrale est un prédicteur de l'insulino-résistance (indépendamment de l'obésité générale), le rôle de l'insuline est très souvent invoqué dans l'association potentielle entre le tour de taille élevé et le risque de cancer du sein en pré- et en postménopause^{184, 185, 191, 192}.

Anthropométrie et risque de diabète

L'obésité est le premier facteur de risque environnemental de diabète de type II. Son effet est clairement établi, à la fois en tant que facteur individuel et en tant que composante du syndrome métabolique.

Définie comme un IMC supérieur à 30 kg/m², l'obésité est clairement associée à une augmentation du risque de diabète de type II. La plus grande étude qui en fait état est celle de Hu et al en 2001⁵⁸, où ils ont étudié 84 941 infirmières entre 1980 et 1996 et ont mis en évidence le fait qu'avoir un IMC supérieur à 35 kg/m² multiplie le risque de diabète par 20,1 (respectivement par 28,8). D'autre part, certaines études⁴⁴ ont suggéré que l'obésité androïde (graisse principalement localisée au niveau du tronc ou un rapport tour de taille/tour de hanche (RTH) élevé) pouvait également être un facteur associé au risque de diabète. En 2007, une méta-analyse par Vazquez et al⁶⁰) a confirmé que l'IMC, le tour de taille, ou le RTH étaient associés au risque de diabète dans les mêmes proportions.

Si le lien entre les facteurs anthropométriques et risque de diabète est établi dans la littérature, le rapport est moins clair en ce qui concerne l'impact de ces facteurs à la naissance et différents âges sur le risque de diabète à l'âge adulte. A partir

des données de la cohorte E3N, De Lauzon- Guillain et al¹⁹³ ont mis en évidence qu'un faible poids de naissance et une silhouette mince aux alentours de 20-25 ans augmentaient le risque de diabète de type II, indépendamment de l'IMC au moment du diagnostic.

Le lien entre anthropométrie et risque de diabète ne sera donc pas détaillé dans le présent travail mais simplement discuté à la fin, à la lumière des résultats identifiés pour le risque de cancer du sein.

3.2.3 Diabète de type II, traitement antidiabétique et risque subséquent de cancer du sein

L'intérêt de l'étude conjointe de ces deux pathologies tient majoritairement en deux points.

Le premier est que les risques de cancer du sein et de diabète de type II sont associés, positivement ou négativement, à un certain nombre de facteurs d'expositions communs. A l'heure actuelle, on sait que les personnes diabétiques sont caractérisées par une forte insulino-résistance et une hyperinsulinémie¹⁹⁴, ce qui pourrait augmenter le risque subséquent de cancer du sein via des effets sur les tissus mammaires ou plus indirectement via l'augmentation des taux circulants d'estradiol, de testostérone et d'IGF^{195, 196}. D'autre part, le syndrome métabolique, que l'on sait d'une part fortement associé au risque de diabète, serait impliqué dans l'étiologie du cancer du sein également¹⁹⁷. En se basant sur des résultats d'études de cohorte et cas-témoins¹⁹⁸⁻²⁰⁵, une méta-analyse du risque de cancer du sein après un diabète de type II a été menée par Larsson et al¹⁹⁴ et a conclu à un sur-risque significatif de 20% par rapport aux femmes non-diabétiques. Cependant, dans la même année (2007), Xue et al⁴³ ont publié une revue de la littérature qui allait en faveur d'une augmentation de risque de cancer du sein mais restait prudente sur l'association entre diabète de type II et risque de cancer du sein. Les auteurs insistaient sur la nécessité de poursuivre l'étude de la relation entre diabète et cancer du sein afin de pouvoir conclure, notamment concernant l'implication du syndrome métabolique dans la carcinogenèse mammaire.

D'autre part, l'intérêt de l'étude conjointe de ces deux pathologies réside dans le fait que la prise de certains traitements antidiabétiques (ceux contenant de la

metformine) serait associée à une diminution de risque de cancer du sein²⁰⁶⁻²¹⁰. Il semblerait également que cette famille de traitement soit bénéfique en association avec la chimiothérapie pour des femmes diabétiques atteintes de cancer du sein^{69, 211, 212}.

Section 4. Justification et objectifs du travail doctoral

Le cancer du sein est une pathologie complexe, et ne peut plus, dans la mesure du possible, être étudié comme une unique entité. En effet, les facteurs de risque semblent différer selon qu'ils sont pré- ou postménopausiques, ou encore selon leur statut des récepteurs hormonaux. L'effet protecteur de l'obésité sur le risque de cancer du sein en préménopause et son effet délétère en postménopause en est le meilleur exemple.

Par ailleurs la mise en évidence de facteurs de risque de cancer du sein en préménopause et de statut ER-/PR- est souvent limitée par un problème de puissance statistique dans les études, dû au faible nombre de cas dans ces catégories. Mais d'un point de vue de prévention primaire, ces cancers sont d'intérêt majeur puisque les cancers en préménopause se déclarent chez des femmes relativement jeunes. De même, les cancers du sein ER-/PR- ont un taux de survie à court terme plus faible comparativement aux cancers du sein en postménopause ou ER+/PR+²¹³.

L'incidence du diabète de type II est en constante augmentation et des moyens de prévention doivent également être mis en place ; un ciblage des populations à risque permettrait notamment d'y parvenir plus efficacement. Or, à l'heure actuelle, mise à part l'obésité qui est un facteur de risque avéré pour le diabète de type II, d'autres candidats ont été proposés, mais aucun consensus n'est établi avec certitude. En particulier, les consommations de viande et de café/thé, que nous étudions dans le présent travail, sont toutes les deux suspectées d'être associées significativement à une augmentation (respectivement une diminution) de risque de diabète de type II. Et ces facteurs sont d'autant plus intéressants d'un point de vue de santé publique que des mécanismes biologiques pourraient confirmer ces associations retrouvées à l'échelle populationnelle.

L'effet de l'alimentation, en particulier des aliments ou des boissons largement consommés à l'échelle mondiale comme la viande, le café/thé et l'alcool, ou encore les conséquences d'une mauvaise alimentation (obésité, cholestérol) laissent présager des axes d'action possible de prévention pour les deux pathologies, qu'il est donc nécessaire d'étudier sur un même plan. De plus, le syndrome métabolique est fortement associée au risque de diabète mais également à l'insulino-résistance (cf. page 34 paragraphe 2.6), qui via une hyperinsulinémie, pourrait favoriser la croissance des tumeurs mammaires²¹⁴. Ainsi, s'intéresser conjointement aux facteurs précités permettra de rendre compte de l'implication potentielle d'un même facteur dans l'étiologie des deux pathologies mais également de préciser les associations statistiques qui peuvent être le reflet de mécanismes biologiques complexes.

L'objectif principal de cette thèse est de préciser l'ensemble des liens existants entre des facteurs alimentaires, certaines composantes du syndrome métabolique et le risque de cancer du sein et de diabète de type II. Les données riches et variées de la cohorte E3N permettent d'apporter des résultats supplémentaires à une littérature parfois insuffisante sur ces associations.

La première partie portera sur les effets des facteurs alimentaires que sont la consommation d'alcool, de café/thé/caféine, de viande et les apports en vitamine D. Ces facteurs seront tout d'abord étudiés en lien avec le risque de cancer du sein. Les analyses seront décomposées selon le statut ménopausique et le statut en récepteurs aux hormones de la tumeur, afin d'apporter le maximum d'information détaillée, par rapport à une littérature qui n'étudie que rarement ces sous-catégories de cancer du sein simultanément. Ensuite, les données de l'étude cas-témoin permettront d'évaluer le risque de cancer du sein selon les taux sériques de vitamine D des femmes. Nous nous limiterons dans cette étude à évaluer le risque selon le statut ménopausique, puisque le découpage selon le statut en récepteurs hormonaux n'est pas pertinent, au vu du faible nombre de cas dans certaines catégories.

Dans un second temps, ces mêmes facteurs alimentaires seront mis en relation avec le risque de diabète de type II, ce qui permettra de comparer les différents effets des facteurs alimentaires vis-à-vis des deux pathologies d'intérêt.

La seconde partie de ce travail de thèse s'attardera sur le lien entre certaines composantes du syndrome métabolique et le risque de cancer du sein. Le syndrome métabolique étant un facteur de risque de diabète établi dans la littérature, il faut à présent approfondir le lien potentiel entre les différentes composantes de ce syndrome et le risque de cancer du sein, encore une fois défini selon le statut ménopausique et en récepteurs aux hormones. Nous analyserons en particulier le taux de cholestérol, la prise de traitements hypolipémiants, puis différentes mesures anthropométriques en relation avec le risque de cancer du sein. Les associations entre facteurs anthropométriques et risque de diabète ayant déjà été étudiés dans la cohorte E3N¹⁹³, **nous discuterons simplement ces associations afin de les mettre en relation avec les résultats trouvés pour le risque de cancer du sein.**

Et enfin, **la troisième partie** de ce travail portera sur le lien conjoint entre le statut diabétique et le risque de cancer du sein. Nous apporterons des éléments de réponse aux questions suivantes : « Les femmes diabétiques présentent-elles un sur-risque de cancer du sein par rapport aux femmes non-diabétiques ? Quel est le risque de cancer du sein d'une femme traitée par un antidiabétique par rapport à une femme non-traitée ? »

MATERIELS ET METHODES

Section 1. La cohorte E3N

L'étude française E3N^{215, 216}, Étude Épidémiologique auprès de femmes de l'Éducation Nationale, est une étude prospective menée auprès de 98 995 femmes volontaires, âgées de 40 à 65 ans qui résidaient en France métropolitaine au moment de l'inclusion en 1989-1990. La logistique de cette étude, de l'envoi des questionnaires au recueil de l'information, ainsi que son analyse, s'effectue au sein de l'équipe 9 du Centre de Recherche en Epidémiologie et Santé des Populations (CESP, Inserm UMR 1018), implantée à l'Institut Gustave Roussy. L'objectif de la cohorte E3N est d'étudier les associations entre des facteurs hormonaux, reproductifs, alimentaires ou liés au mode de vie et les risques de cancer et d'autres pathologies chroniques chez les femmes.

Une phase pilote initiée en janvier 1989 a été réalisée dans trois départements (le Nord, le Pas-de-Calais et le Tarn-et-Garonne). Le questionnaire pilote a été envoyé à toutes les femmes de ces trois départements, affiliées à la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale (MGEN) âgées de 40 à 65 ans. 2 720 femmes ont accepté d'y participer. Ce questionnaire pilote avait pour but de déterminer le taux de réponse et de tester la compréhension et l'acceptabilité des questions posées. L'étude nationale a été lancée en juin 1990. Sur les 500 000 femmes sollicitées initialement adhérentes à la MGEN, près de 100 000 ont accepté de participer. L'étude a été approuvée par la Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL). Chaque femme a signé un accord de participation au moment de son recrutement.

En 1993, E3N est également devenue la composante française d'une vaste étude prospective européenne : EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and nutrition). Soutenue par le programme Europe contre le Cancer et pilotée par l'antenne cancer de l'OMS, EPIC est aujourd'hui menée dans dix pays à savoir la France, l'Allemagne, le Danemark, l'Espagne, la Grèce, l'Italie, les Pays-Bas, le Royaume-Uni, la Suède et la Norvège, rassemblant ainsi près de 300 000 personnes, moitié d'hommes et de femmes²¹⁷.

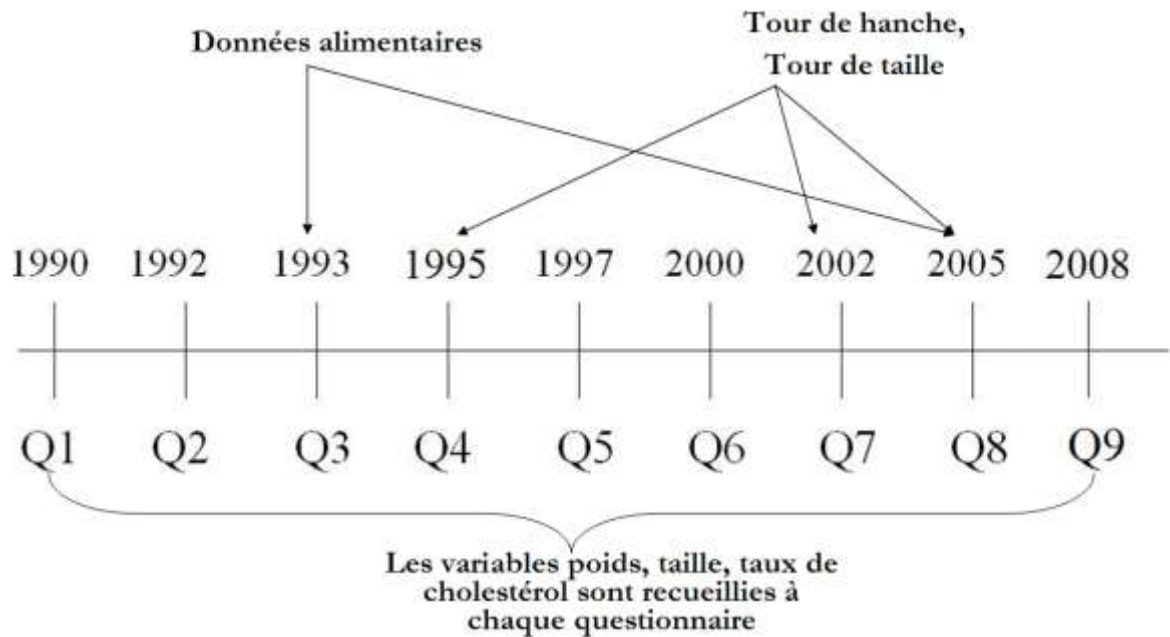


Figure 7 : Chronologie des auto-questionnaires E3N et recueil des variables d'exposition principales

Section 2. Recueil de l'information sur le cancer du sein et le diabète de type II

2.1 Les cas de cancer du sein

Chaque questionnaire comporte une section consacrée au suivi de l'état de santé de la femme. Celle-ci y déclare en particulier le(s) cancer(s) éventuel(s) qu'elle a eu(s) et la date de diagnostic correspondante. Chaque participante est également invitée à communiquer les coordonnées de son médecin traitant et les comptes-rendus anatomopathologiques en sa possession. Le cas échéant, un courrier est adressé au médecin traitant pour demander confirmation des cancers déclarés et obtenir le compte-rendu anatomopathologique correspondant.

Par ailleurs, les décès advenus par cancer sont également pris en considération pour identifier des cas de cancer non rapportés dans les questionnaires de suivi. Néanmoins, l'investigation de l'histoire du cancer demeure impossible si, par exemple, la femme n'a jamais indiqué de médecin traitant. Dans ce cas, la date de diagnostic reste inconnue et nous censurerons systématiquement ces femmes à la date de leur dernier questionnaire (leur suivi s'arrête à ce moment et elles sont

considérées comme des non-cas jusqu'à cette date). Au total, les comptes-rendus anatomopathologiques ont été obtenus pour 96 % des cas incidents de cancer du sein identifiés dans la cohorte entre 1990 et 2005. Le recueil des comptes-rendus anatomopathologiques pour les cancers déclarés à l'occasion du neuvième questionnaire (Q9, envoyé en juillet 2008) est en cours.

2.2 Les cas de diabète

Afin de valider les cas de diabète dans la cohorte E3N, une procédure en deux étapes a été mise en place. Un premier ensemble de cas potentiels de diabète a été construit, contenant les femmes qui ont déclaré dans au moins un des 8 questionnaires envoyés jusqu'à 2005, soit un diabète, soit suivre un régime alimentaire spécifique aux individus diabétiques, soit avoir pris des antidiabétiques, soit enfin avoir déclaré une hospitalisation pour cause de diabète. 4 289 femmes ont donc été identifiées. Parmi elles, 2 315 cas ont été validés à partir des renseignements sur la prescription d'antidiabétiques des fichiers de remboursement de la MGEN entre le 1er janvier 2004 et le 30 juin 2007. Pour les autres, un questionnaire dédié à la validation des diabètes a été envoyé aux femmes avec une adresse valide (N=1 735). Il y était question de la circonstance du diagnostic (date, symptômes, données biologiques sur la glycémie), des traitements en cours (traitement antidiabétique, régime alimentaire, activité physique), et du suivi du diabète (dernier examen des taux de glucose et d'A1C (hémoglobine)). Environ 84% des femmes ont répondu au questionnaire et 342 cas de diabète supplémentaires ont été validés. Ainsi, dans ce premier ensemble de cas potentiels, 2 657 cas de diabète ont été validés. Parmi les 1 632 cas non-validés, 1 144 ont reporté n'avoir été diabétiques qu'une seule fois durant le suivi.

Un second ensemble de femmes potentiellement diabétiques a ensuite été construit exclusivement à partir des fichiers de remboursement de la MGEN (N= 1 216) sans déclaration préalable de diabète dans les questionnaires. Le questionnaire envoyé au premier groupe de femmes a été envoyé à ce deuxième ensemble de femmes et 734 ont répondu. Les non-cas ont été considérés comme les femmes qui déclaraient être non-diabétiques et qui avaient été remboursées pour un antidiabétique seulement une fois entre le 1er janvier 2004 et le 30 juin 2007

(N=233). Les cas retenus sont les femmes ayant confirmé être diabétiques (N=458) ainsi que celles qui ne répondaient pas au questionnaire spécifique, mais qui avaient au moins deux remboursements d'antidiabétique sur la période considérée (N=381). Les 144 cas restants sont considérés comme non-validés. A partir des deux ensembles de femmes, un total de 3 496 cas de diabète a été validé à l'heure actuelle.

Cette procédure ne permet pas de différencier de manière systématique les diabètes de type I et de type II : un nombre très faible de cas de diabète de type I est attendu, au vu de l'âge des femmes de la cohorte. Ainsi, on considèrera que l'ensemble des cas de diabète de la cohorte est de type II.

Section 3. Recueil des données biologiques

Des données biologiques sont utilisées dans l'étude du lien entre taux de vitamine D sérique et risque de cancer du sein dans l'étude cas-témoin nichée dans la cohorte E3N.

Des échantillons sanguins ont été recueillis entre novembre 1994 et février 1999 et constituent la banque de matériel biologique (BMB) ou biothèque E3N. La création de la BMB a été approuvée par le Comité de Protection des Personnes (CPP). Ouvrir un centre de prélèvement par département étant inenvisageable pour des raisons matérielles, les femmes ont été sélectionnées dans des départements métropolitains choisis selon des critères d'importance de l'effectif initial (>1 000 participantes) et de facilité d'organisation. Le taux de participation des femmes invitées à donner leur sang était de 37%, ce qui représente 24 505 prélèvements, qui ont été aliquotés et séparés en 28 paillettes de 500 µL par sujet (sérum, plasma, couche leucoplaquettaire, hématies).

Ces paillettes sont stockées dans de l'azote liquide (-196°C) sur 2 sites différents, (CIRC, Lyon et Etablissement Français du Sang (EFS), Annemasse) et sont décongelées pour les besoins d'études cas-témoins nichées dans le but d'analyser par exemple des bio-marqueurs chez des sujets ayant développé une pathologie donnée au cours du suivi et chez des sujets indemnes.

Les prélèvements sanguins des femmes étudiées qui ont servi pour l'étude cas-témoin (environ 2 000 échantillons, cf. page 109) pour l'analyse du risque de

cancer du sein ont ensuite été triés et séparés aléatoirement en batch de 9. Les dosages de vitamine D, de parathormone (PTH), d'estradiol et de progestérone, qui sont utilisés dans certaines analyses de cette thèse, ont été effectués à l'aveugle au laboratoire de Biochimie de l'hôpital Bichat (Paris) sur l'automate Elecsys Roche® par electro-immuno-chimiluminescence (ECLA). Le jour du dosage, les échantillons congelés sont laissés deux heures à température de la pièce pour être décongelés. Ils sont ensuite agités au vortex dix secondes, puis centrifugés à 3 000 rpm (tours par minutes) pendant dix minutes avant d'être disposés sur l'analyseur. Après étalonnage de l'appareil, les dosages ont été effectués selon les recommandations du fournisseur. Pour le dosage de la vitamine D, cette méthode détermine spécifiquement la 25(OH) vitamine D3, la forme circulante prédominante sans interférence avec la 25(OH) vitamine D2 minoritaire, provenant de l'alimentation. Les concentrations sériques de calcium ont quant à elles été déterminées sur l'automate Hitachi 911 Roche® Autoanalyzer. Bien que les automates puissent détecter des valeurs inférieures, les limites de mesure, fournies par le constructeur, oscillaient pour la 25(OH)D3 entre 10 et 40 ng/mL ; 2,25 et 2,55 mmol/L pour le calcium et 15 à 65 pg/mL pour la PTH.

Section 4. Les données alimentaires

L'information sur les comportements alimentaires a été recueillie à 2 reprises entre 1993 et 1995 et en 2005 à l'aide de questionnaires d'histoire alimentaire (Q3 et Q8) validés par des rappels de 24 heures²¹⁸ et accompagnés d'un livret de photos également validé facilitant les estimations de la taille des portions d'aliments ou de certaines boissons²¹⁹. Pour le premier envoi entre 1993 et 1995, le questionnaire a été envoyé à 95 644 participantes et le taux de réponse a été de 81% après deux relances postales; parmi les 77 613 questionnaires retournés, 74 524 ont pu être analysés. L'objectif était de décrire les habitudes alimentaires de l'année précédente, en tenant compte des variations saisonnières et journalières. Le questionnaire comprenait deux parties, l'une quantitative (1) et l'autre qualitative (2). (1) Le questionnaire de fréquence quantitatif recueillait les fréquences de consommation et les tailles de portions habituelles d'une liste de 66 aliments structurée autour de huit repas journaliers (petit-déjeuner, collation de la matinée, apéritif précédant le déjeuner, repas de midi, collation de l'après-midi, apéritif précédant le dîner, repas du soir, collation suivant le dîner). Pour chaque type d'aliment, le sujet devait indiquer la fréquence de consommation parmi 11 modalités proposées (jamais ou moins d'une fois par mois, 1 à 3 fois par mois, 1 à 7 fois par semaine) et la quantité consommée estimée soit en unité standard (nombre d'oeufs, nombre de cuillères à café, etc.) soit à l'aide du livret de photographies en couleurs représentant les portions; (2) La seconde partie du questionnaire revêtait un aspect plus qualitatif. Elle visait à préciser l'alimentation du sujet en détaillant, dans chaque groupe alimentaire (fruits, fromage, crudités, yaourt, fromage blanc, fromage etc.), les types d'aliments simples que les femmes ont l'habitude de consommer, leur fréquence relative de consommation (Jamais, 1, 2, 3 fois par mois ou 1, 2, 3, ..., 7 fois par semaine) ainsi que des questions détaillées sur les matières grasses, le sucre et les modes de cuisson utilisés.

Après pondération de la première par la deuxième partie, le questionnaire a permis d'évaluer la consommation quotidienne moyenne d'un total de 208 items d'aliments ou boissons.

Nous allons passer en revue ci-après les différentes variables alimentaires étudiées lors de cette thèse.

4.1 L'alcool pur et les boissons alcoolisées

Les femmes de la cohorte ont pu estimer leur consommation d'alcool grâce au cahier photographique (cf. Figure 8) fourni, permettant de détailler le type d'alcool et la fréquence consommée aux différents repas proposés (apéritif avant le déjeuner, repas de midi, apéritif avant le dîner, repas du soir). A partir de ces informations, la table de composition alimentaire, basée sur les données du Ciqual 1995, permet d'estimer une quantité d'alcool pur consommée quotidiennement. Cette variable s'exprime donc en grammes d'éthanol (alcool pur) par jour (g/jr). La consommation par type d'alcool a également été étudiée. Nous avons aussi classé les alcools selon les catégories suivantes :

- La consommation de bière/cidre
- La consommation de vin/champagne
- La consommation d'apéritifs (muscat, porto, vermouth,...)
- La consommation d'alcools forts (whisky, gin, vodka, pastis, cocktail,...)

Toutes ces variables sont décrites en mL/jr ou mL/semaine, éventuellement converties en verre/semaine.

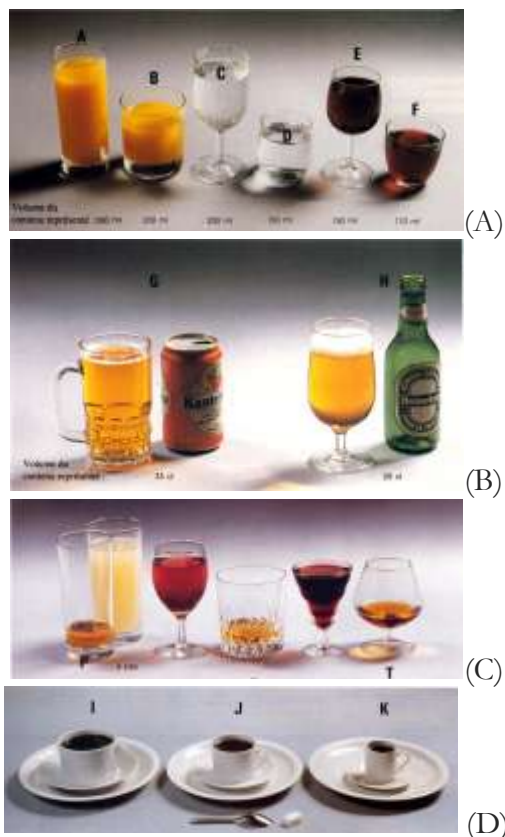




Figure 8 : Photos d'aide au remplissage du questionnaire alimentaire. Volumes standards de vin (A), bière (B), apéritifs (C) et de café/thé (D).

4.2 Le café/thé et caféine

De même que la consommation d'alcool, celle de café ou de thé a été demandée à différents moments de la journée (petit-déjeuner, collation de la matinée, repas de midi, collation de l'après-midi, repas du soir, collation du soir/nuit) (cf. Figure 8). Une consommation journalière est ensuite calculée, puis éventuellement convertie en nombre de tasses standards (1 tasse = 125 mL). La quantité de caféine ingérée quotidiennement est majoritairement dérivée, via la table de composition alimentaire E3N, de la consommation des aliments suivants : café, thé, chicorée, boisson chocolatée, sodas, barres chocolatées et chocolat en tablette. D'autres aliments contribuent très légèrement à l'estimation de la quantité de caféine.

4.3 La viande

A partir de l'information détaillée fournie par les femmes dans le questionnaire alimentaire, des variables récapitulatives de la consommation des différents types de viande ont été compilées. Ainsi, on a pu séparer les consommations journalières de :

- viande rouge (cheval, mouton, porc, bœuf...),
- viande blanche (viande de lapin, volaille,...),
- viande préparée industriellement (lardons, jambon, saucisse, foie...).

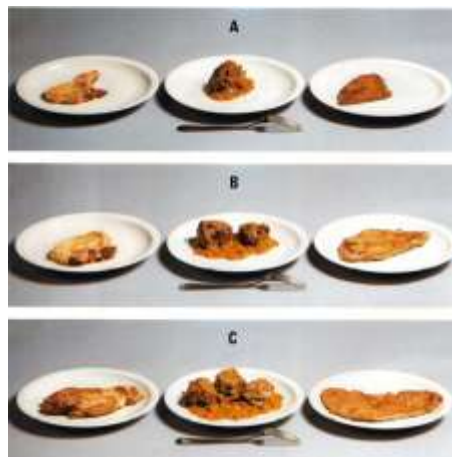


Figure 9 : Photos d'aide au remplissage du questionnaire alimentaire. Exemple de portions standards de viande.

4.4 Apport en vitamine D alimentaire et exposition solaire

L'apport en vitamine D issue de l'alimentation a été estimé via une table de composition alimentaire, à partir de la déclaration des consommations des aliments riches en vitamine D au 3^{ème} questionnaire. Les principaux aliments contributeurs à la quantité de vitamine D sont les poissons, produits laitiers, œufs, matières grasses, champignons.

Lorsque l'on analyse les effets des apports alimentaires en vitamine D, les hypothèses de la littérature invitent à évaluer un effet différentiel des associations selon la dose d'exposition solaire perçue par l'individu. A cet effet, nous disposons, grâce à la collaboration avec le Docteur Verdebout du Centre de Recherche Commune de la Commission Européenne JRC (Joint Research Centre of the European Commission), de données mensuelles satellitaires évaluant les radiations ultraviolettes (UVA, UVB et UVC) de chaque département Français entre 1984 et 2003. A partir de celles-ci, des doses journalières moyennes érythémales ont été déterminées pour chaque mois et chaque département français²²⁰. L'algorithme qui a permis ces mesures tenait compte précisément de la saison et de la nébulosité. La plage de longueurs d'ondes des UVB, responsables de la photosynthèse cutanée de la vitamine D, va environ de 290 à 315 nm. Les UVB représentent 2 % de la partie UV qui atteint la surface de la terre et sont très énergétiques. Ils pénètrent partiellement dans la peau et 10 à 20 % d'entre eux atteignent le derme (couche située sous l'épiderme). Les UVB sont responsables de l'érythème solaire (coup de soleil) qui a son maximum

d'intensité 24 heures après l'exposition. Cette réaction stimule le processus de mélanogénèse de la peau à l'origine de la pigmentation retardée, processus attribué aussi en grande partie aux UVA. Leur forte énergie peut provoquer la nécrose des cellules de l'épiderme. Ces cellules endommagées portent le nom de « sunburn cells » et libèrent des médiateurs chimiques qui contribuent aux manifestations inflammatoires du coup de soleil. Parallèlement, différents facteurs phénotypiques ont été recueillis dans le premier questionnaire comme la pigmentation de la peau (« albinos », « très claire », « claire », « brune », « mate », « noire »), ou la sensibilité de la peau au soleil : la femme devait déclarer sa résistance générale aux coups de soleil (faible, modérée, forte).

Section 5. Les données sur le syndrome métabolique

5.1 Le cholestérol

5.1.1 Le taux de cholestérol total

L'information sur le dosage du taux de cholestérol total est demandée à chaque questionnaire, à l'exception du 5^{ème}. La question posée était : « Avez-vous fait faire un dosage du cholestérol total ? Si oui les résultats sont ils normaux, anormaux, ne sait pas ? Préciser les valeurs relevées lors du dosage, exprimées en mmol/L ou en g/L ». Les deux unités sont proportionnelles et ne diffèrent que d'un facteur 2,6 (1 g/L = 2,6 mmol/L). Certaines valeurs aberrantes ont été exclues, et n'ont été considérées comme physiologiquement probables que les valeurs comprises dans l'intervalle [1 ; 4] g/L (ou [2,6 ; 10,4] mmol/L).

La variable « taux de cholestérol total » est entachée d'une proportion élevée de valeurs manquantes, puisqu'environ 60% des femmes n'ont pas pratiqué un tel examen entre deux questionnaires consécutifs. Cependant, sur l'ensemble des questionnaires, 76% des femmes ont déclaré au moins une fois un dosage de cholestérol total.

5.1.2 Les traitements hypolipidémiant

L'information sur la prise de traitement hypolipidémiant a été recueillie au 4^{ème} questionnaire uniquement (1995) et permet de savoir si oui ou non, une femme était traitée par un traitement hypolipidémiant. En revanche, cette question ne permettait pas de savoir de quel traitement il s'agissait (fibrates ou statines). Cependant une femme qui déclarait être traitée par un traitement hypolipidémiant au 4^{ème} questionnaire a été considérée comme utilisatrice sur l'ensemble du suivi, puisque l'arrêt de ce genre de traitement est peu probable²²¹.

5.1.3 Combinaison des deux informations

Afin de ne pas avoir de biais de classification entre les femmes ayant un taux de cholestérol artificiellement bas du fait de la prise d'un traitement hypolipidémiant et les femmes avec un taux naturellement bas, la variable finalement utilisée a été découpée en 4 catégories :

- les femmes traitées constituaient une première catégorie, indépendamment du taux de cholestérol rapportée dans les questionnaires,
- puis parmi les femmes non-traitées, l'information sur le taux de cholestérol était découpée en trois catégories (cholestérolémie faible $\leq 6,6$ mmol/L, correspondant à la valeur du 2^{ème} tertile, cholestérolémie élevée $> 6,6$ mmol/L, et cholestérolémie manquante).

5.2 Facteurs anthropométriques

Les facteurs utilisés pour décrire l'anthropométrie ont été recueillis à différents moments selon leur type :

- le poids a été demandé à chaque questionnaire
- la taille a été demandée aux questionnaires 1, 4, 6, 7 et 8. A partir de ces informations, une taille unique sur l'ensemble du suivi a été également créée.
- le tour de taille (TT) et le tour de hanche (TH) ont été récupérés aux questionnaires 4, 7 et 8

La femme bénéficiait d'un schéma explicatif pour mesurer le plus précisément possible le tour de taille et le tour de hanche (cf. Figure 10).

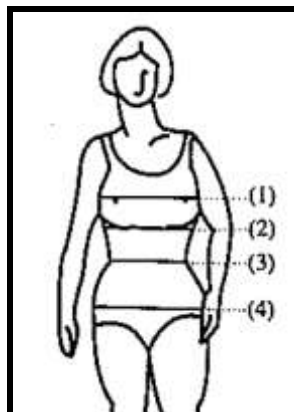


Figure 10 : Schéma explicatif des questionnaires 4, 7 et 8 pour aider les femmes à mesurer leur tour de taille (mesure 3) et tour de hanche (mesure 4)

A partir de ces informations, les indicateurs classiques en anthropométrie, comme l'indice de masse corporelle (IMC) ou le ratio tour de taille/tour de hanche (RTH), ont été construits. L'IMC a été calculé à chaque questionnaire comme le poids divisé par le carré de la taille en mètre, en utilisant l'information sur le poids la plus proche et la taille standardisée sur l'ensemble des questionnaires. Le RTH a été construit au 4^{ème}, 7^{ème} et 8^{ème} questionnaire pour le RTH en faisant le rapport entre le TT et le TH en cm.

Section 6. Les traitements antidiabétiques

Afin d'étudier le risque de cancer du sein après avoir déclaré un diabète de type II, on a recueilli l'information concernant les traitements antidiabétiques dans différents questionnaires. Ainsi, aux questionnaires Q4, Q6 et Q7, les femmes pouvaient répondre à la question : « Prenez-vous actuellement, au moins 3 fois par semaine, des antidiabétiques ? ».

Comme pour l'information sur les traitements hypolipémiants, il n'a pas été possible de dissocier le type de traitement antidiabétique utilisé. Cependant, la littérature sur le sujet indique que la relation entre les traitements antidiabétiques contenant de la metformine et le risque de cancer du sein serait particulièrement intéressante à étudier.

Section 7. Le statut ménopausique

Le statut ménopausique est une variable d'importance majeure dans l'étiologie du cancer du sein. Le terme ménopause signifie étymologiquement "arrêt des règles", et désigne ainsi la période qui survient au moment où les ovaires arrêtent définitivement de produire les hormones de la reproduction : les estrogènes et la progestérone. On convient que la ménopause est confirmée après douze mois d'aménorrhée.

Le statut ménopausique des femmes ainsi que l'âge de la ménopause ont été déterminés à partir des informations disponibles dans les différents auto-questionnaires.

Il a été déterminé de la façon suivante :

1) Préménopause :

a) si la femme se déclarait non ménopausée ou réglée, et affirmait ne pas utiliser de traitement hormonal

b) si elle se déclarait réglée sous pilule contraceptive ou sous progestatif seul

2) Postménopause :

a) si la femme se déclarait ménopausée

b) si elle prenait un traitement hormonal de la ménopause

c) si elle déclarait une absence de règles depuis plus d'un an et qu'elle n'était pas sous traitement progestatif seul continu et si elle n'avait pas subi d'hystérectomie

d) si elle avait subi une ovariectomie bilatérale ou une chimiothérapie/radiothérapie ayant provoqué un arrêt définitif des règles

3) Statut inconnu : si la femme ne répondait à aucun des critères susmentionnés

Une fois le statut ménopausique de la femme établi, nous avons déterminé l'âge de la ménopause en utilisant les informations suivantes par ordre décroissant de priorité :

1) l'âge d'arrêt définitif des règles si celui-ci avait lieu avant toute prise de THM.

2) l'âge au moment d'une éventuelle ovariectomie bilatérale, d'une radiothérapie ou d'une chimiothérapie ayant provoqué l'arrêt définitif des règles, si ces interventions avaient eu lieu avant l'arrêt définitif des règles et avant toute prise de THM.

3) l'âge auto-déclaré de ménopause

4) l'âge au début de la prise d'un THM

5) l'âge aux premiers effets secondaires de la ménopause

Une fois ces deux étapes effectuées, et si le statut et/ou l'âge à la ménopause n'avaient pas pu être déterminés, nous avons procédé à des imputations en cas de valeurs non établies.

Si le statut ménopausique était inconnu et si la femme était âgée de moins de 51 ans, elle était considérée comme non-ménopausée. Dans le cas contraire, elle était considérée comme ménopausée et d'âge à la ménopause égal à 51 ans.

Si l'âge de la ménopause était inconnu, alors il était imputé à 51 ans en cas de ménopause naturelle, 47 en cas de ménopause artificielle (i.e. provoquée par

ovariectomie bilatérale ou par chimiothérapie/radiothérapie). Ces âges d'imputation ont été déterminés à partir des médianes respectives des âges des femmes ménopausées naturellement (51 ans, âge déterminé autrement que par l'âge à la prise de THM ou l'âge de survenue des effets secondaires) et artificiellement (47 ans). Ces données sur l'âge et le statut ménopausique ont été validées dans la cohorte E3N²²².

Section 8. Méthodes statistiques

8.1 Analyses descriptives

Pour décrire les différentes populations, les caractéristiques des femmes ont été établies :

- à l'inclusion pour les études portant sur la cohorte, selon la variable d'exposition principale, ou selon le statut cas/non cas des femmes.
- au moment du prélèvement sanguin pour l'étude cas/témoin, selon le statut cas/témoin.

Dans les deux cas, la moyenne ou la médiane des variables quantitatives ont été présentées, avec l'indicateur de dispersion usuelle qu'est l'écart-type. Les variables qualitatives ont quant-à-elles été décrites par les fréquences des différentes modalités.

8.2 Analyses de risque

8.2.1 Etude cas-témoins non appariés : la régression logistique

Dans les études du risque de cancer du sein, l'influence des dosages sanguins (la vitamine D principalement) a été analysée à partir d'une étude cas-témoin nichée dans la cohorte E3N. Les témoins étaient appariés au cas, mais l'analyse faite ne tenait plus compte de cet appariement. Ainsi, la modélisation adéquate pour ce type d'enquête se fait à partir d'un modèle de régression logistique non-conditionnelle.

Définition

La régression logistique est un modèle permettant d'exprimer la relation entre une variable dichotomique d'intérêt (le statut cas/témoin pour nous) et des variables quantitatives ou qualitatives (nos variables d'exposition principales et les covariables d'ajustement)²²³. Ce modèle permet de calculer la probabilité de survenue de la maladie (ici cancer du sein) mais ne permet pas de prendre en compte la date de survenue (ou la durée jusqu'à l'événement) de la maladie. $X=1$ signifie que l'individu a déclaré un cancer du sein dans la période de suivi et $X=0$ que l'individu est sain. Soit Z le vecteur des covariables et β les coefficients associés, on modélise la probabilité d'être malade par :

$$P(X=1|Z) = \frac{1}{1 + e^{-\beta Z}}$$

Dans un échantillon de variable (X_1, \dots, X_n) , chaque variable dichotomique X_i a pour densité de probabilité :

$$f(x_i) = p_i^{x_i} (1 - p_i)^{1-x_i}, \text{ avec } p_i = P(X_i = 1 | Z).$$

Par suite, la log-vraisemblance d'un modèle logistique s'écrit ainsi :

$$L(X_1, \dots, X_n, \beta) = \sum_{i=1}^n \left\{ X_i \log\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) + \log(1-p_i) \right\}$$

Les coefficients du vecteur β sont ensuite estimés via la méthode du maximum de vraisemblance.

Odds-Ratio

L'utilisation du modèle logistique a l'avantage, grâce à la fonction de lien Logit, d'interpréter facilement les coefficients estimés avec le calcul d'un odds-ratio (OR). Dans le cas simple d'un modèle à une seule variable dichotomique, que l'on nomme par exemple Z_1 , avec β_1 son coefficient, et si on appelle P_1 la probabilité d'être malade chez les exposés ($Z_1=1$), et P_0 la probabilité d'être malade chez les non exposés ($Z_1=0$), l'odds ratio se définit comme suit :

$$OR = \frac{P_1/(1-P_1)}{P_0/(1-P_0)} = e^{\beta_1}$$

Cette formule se généralise dans le cas d'un modèle de régression logistique multivariée, avec Z un vecteur de variables et β les coefficients associés.

8.2.2 Etude de cohorte : le modèle de Cox

Définition

Pour l'ensemble des autres analyses présentées dans cette thèse, nous avons utilisé des modèles de durée semi-paramétriques de Cox. Le modèle de régression de Cox²²⁴ permet de modéliser un phénomène dépendant du temps (la durée jusqu'à la maladie pour notre cas) en fonction de covariables²²³. Il fait partie de la famille des modèles de régression à risques proportionnels. L'objectif est de quantifier la relation entre le facteur d'exposition principal et la survenue d'un événement (ici, un cancer du sein ou un diabète de type II, selon l'étude). Ce type de modélisation est évidemment très classique en épidémiologie dans le cadre des études de cohorte, puisque nous avons la capacité de suivre les individus dans le temps et notamment de mettre à jour les différentes variables au cours du suivi (étude prospective).

Dans le cas d'un modèle multivarié, on modélisera le risque instantané $h(t)$ (ou incidence instantanée) de déclarer l'événement d'intérêt à l'instant t pour un individu, sain jusqu'à l'instant t , et ayant un profil $Z = (Z_1, Z_2, \dots, Z_p)$ par:

$$h(t, Z) = h_0(t) \exp(\beta Z) = h_0(t) \exp(\beta_1 Z_1 + \beta_2 Z_2 + \dots + \beta_p Z_p),$$

$$\text{avec } h(t, Z) = \lim_{dt \rightarrow 0} \frac{P(t \leq T \leq t + dt, T \geq t)}{dt}$$

Cette modélisation du risque instantané est semi-paramétrique, puisque $h(t)$ n'a pas de forme paramétrique propre, puisqu'il n'est défini qu'à un paramètre de nuisance près, $h_0(t)$, que nous n'estimerons pas. Ce paramètre peut s'interpréter comme le risque de base s'il n'y a pas de covariables ou si elles ont des valeurs nulles.

Nous pouvons rappeler les relations entre fonction de risque cumulé et fonction de survie

$$S(t) = 1 - F(t), \forall t > 0$$

avec $F(t) = P(T \leq t)$, la fonction de répartition de la variable durée jusqu'à l'événement, et S sa fonction de survie. On peut relier cette fonction à la fonction de risque cumulé H , qui à l'instant t se définit comme :

$$H(t) = -\text{Ln}[S(t)] = \int_0^t h(s) ds, \forall t > 0$$

Par la suite, lorsque l'on souhaite faire de l'inférence, et que l'on observe par exemple les triplets $(T_i, \delta_i, Z_i)_{1 \leq i \leq n}$, avec T_i les durées d'observation, δ_i l'information sur la censure ($\delta_i = 0$ si l'individu i est censuré, vaut 1 sinon) et Z_i le vecteur des covariables pour l'individu i , on peut écrire la vraisemblance L_n sous cette forme :

$$L_n((T_i, \delta_i, Z_i)_{1 \leq i \leq n}, h_0, \beta) = \prod_{i=1}^n (h_0(T_i) \exp(\beta Z_i))^{\delta_i} S_0(T_i)^{\exp(\beta Z_i)}$$

avec $S_0(t)$ la fonction de survie associée au risque de base $h_0(t)$. Comme $h_0(t)$ est inconnue on ne peut donc pas maximiser la vraisemblance des observations. Nous sommes amenés à définir une vraisemblance partielle, qui ne dépend plus que de β , que l'on cherche à estimer :

$$PL_n((T_i, \delta_i, Z_i)_{1 \leq i \leq n}, \beta) = \prod_{i=1}^n \left(\frac{\exp(\beta Z_i)}{\sum_{l \in R_i} \exp(\beta Z_l)} \right)^{\delta_i},$$

avec R_i le nombre de personnes à risque (individus non censurés et qui n'ont pas encore déclaré la maladie) juste avant T_i . Le $\hat{\beta}$ que l'on obtient en maximisant PL_n est consistant (c'est-à-dire qu'il converge en probabilité vers β) et est asymptotiquement normalement distribué.

Risque relatif

La forme semi-paramétrique de la fonction de risque instantané permet d'avoir une évaluation du risque entre deux individus ayant des profils différents. Si l'on veut comparer à l'instant t les risques entre un individu A ayant le profil Z_A et un individu B ayant le profil Z_B on a :

$$RR = \frac{h(t, Z_A)}{h(t, Z_B)} = \frac{h_0(t) \exp(\beta Z_A)}{h_0(t) \exp(\beta Z_B)} = \exp[\beta (Z_A - Z_B)]$$

Dans le premier modèle multivarié présenté ci-dessus, les variables que l'on mesure sont constantes dans le temps et sont mesurées à l'inclusion. Mais il peut être souhaitable d'avoir une mise à jour de certaines variables au cours du suivi et ainsi faire dépendre du temps la valeur de la variable. Si on prend l'exemple du statut ménopausique d'une femme dont la ménopause intervient au cours du suivi, cette femme devrait pouvoir contribuer aux personnes-années en tant que femme non-ménopausée jusqu'à la date de ménopause et ensuite contribuer dans la catégorie des femmes ménopausées jusqu'à la fin de son suivi. La variable doit donc changer de valeur au cours du suivi. Si nous considérons uniquement des variables fixes dans le temps, une femme non ménopausée à l'inclusion qui le devient au cours du suivi serait « mal-classée » entre la date de sa ménopause et sa fin de suivi.

Les variables dépendantes du temps

Les modèles finalement utilisés s'écrivent sous cette forme :

$$h(t, Z) = h_0(t) \exp(\beta Z) = h_0(t) \exp(\beta_1 Z_1 + \dots + \beta_i Z_i + \beta_{i+1} Z_{i+1}(t) \dots + \beta_p Z_p(t))$$

avec i variables constantes dans le temps et $p-i$ variables dépendantes du temps. Pour une variable donnée, l'information dépendante du temps a été actualisée de la manière suivante : entre deux questionnaires i et j (avec j le dernier questionnaire répondu depuis i , $j \geq i+1$), la valeur de la variable utilisée entre i et j était celle rapportée au questionnaire i , la valeur rapportée au questionnaire j ne servant qu'à la mise à jour de la valeur de la variable sur la période de suivi postérieure à j .

Les hypothèses du modèle de Cox

Les modèles de Cox sont basés sur deux hypothèses : la proportionnalité des risques et la log-linéarité des covariables du modèle.

La proportionnalité des risques

Cette hypothèse se traduit par le fait que le rapport de risque entre deux individus de profil différent doit être indépendant du temps auquel on évalue ce risque. En pratique, c'est souvent de manière visuelle que l'on vérifie cette hypothèse.

En effet, la définition du modèle de Cox permet d'en déduire rapidement, dans le cas d'une variable d'exposition binaire 1/0, que l'on a la relation :

$$\text{Ln}[-\text{Ln}(S_1(t))] = \beta + \text{Ln}[-\text{Ln}(S_0(t))],$$

avec $S_1(t)$ et $S_0(t)$ les survies dans les groupes 1 et 0 respectivement. Si l'on trace ainsi les courbes représentant $\text{Ln}[-\text{Ln}(S(t))]$ dans les groupes exposés et non-exposés en fonction du temps, les courbes correspondantes doivent être parallèles.

Une manière complémentaire d'évaluer cette hypothèse est d'introduire une interaction entre le temps et la variable dans le modèle de Cox et de regarder la significativité du paramètre correspondant. Si ce dernier n'atteint pas la limite de significativité, on peut alors supposer que l'hypothèse de proportionnalité des risques est vérifiée. De plus, il est usuel d'avoir une attitude conservatrice vis-à-vis de la validité du modèle de Cox dans une étude de cohorte de taille si importante, sauf lorsqu'il y a une forte évidence de non proportionnalité. Dans le cas où il existe une interaction avec le temps, il faut stratifier sur les différentes périodes où l'on peut supposer que l'hypothèse est vérifiée.

La Log-linéarité des variables

Il faut également vérifier que la fonction de risque instantané d'un sujet est log-linéaire en les covariables $(Z_i)_{i \in [1:p]}$. Or à partir de la relation $h(t, Z) = h_0(t) \exp(\beta Z)$, on en déduit que :

$$\text{Ln}[h(t, Z)] = \text{Ln}[h_0(t)] + \beta Z = \text{Ln}[h_0(t)] + \sum_{i=1}^p \beta_i Z_i$$

Le risque instantané augmente log-linéairement avec le niveau des covariables du modèle. Par exemple, si on considère l'âge à la ménopause en continu dans le modèle, on suppose que le risque de déclarer un cancer du sein est multiplié d'un facteur $e^{5\beta_{Age}}$ pour une femme qui est ménopausée 5 ans plus tard qu'une autre, de la même manière entre 45 et 50 ans ou entre 50 et 55 ans. Cette hypothèse, souvent très forte, impose un codage correspondant cohérent. D'autant plus que ce choix de codage doit se faire en parallèle des exigences médicales, de la précision des données et de la pertinence statistique.

L'âge comme échelle de temps

Dans un modèle de Cox, la variable correspondant au temps est un délai jusqu'à la survenue de l'événement d'intérêt. Trois paramètres caractérisent cette durée :

- l'origine, qui correspond au début de l'exposition au risque de survenue de l'événement d'intérêt,
- l'entrée, qui correspond au début de l'observation,
- et la sortie, qui correspond à la fin de l'observation et/ou de l'exposition au risque.

Par exemple, dans les essais randomisés qui étudient la survie de patients après le diagnostic d'une pathologie donnée, l'entrée dans l'étude, c'est-à-dire la randomisation dans un bras de traitement correspond généralement à l'origine, à savoir la date de diagnostic. En revanche, dans les études de cohorte, entrée et origine sont rarement identiques : pour un grand nombre de maladies, les sujets sont à risque de développer la maladie étudiée dès leur naissance, mais ne sont observés qu'à partir du moment où ils sont recrutés dans l'étude. Dans ce cas précis, il est souvent préférable d'utiliser l'âge comme échelle de temps, c'est-à-dire de fixer l'origine à la date de naissance de l'individu (âge nul). En effet, l'âge, beaucoup plus que la durée de suivi, est un déterminant de l'incidence de la maladie étudiée. Cependant choisir l'âge comme échelle de temps implique de considérer, d'une part, que les individus ne sont pas suivis depuis l'origine (on parle d'entrée retardée dans l'étude) et, d'autre part, que les individus ayant déjà rencontré l'événement (cas « prévalent » à l'inclusion) ne sont pas considérés dans la population d'analyse. Par ailleurs, lorsque l'âge est choisi comme échelle de temps, aucune hypothèse paramétrique n'est réalisée sur l'effet de l'âge puisque celui-ci est pris en compte dans la partie non-paramétrique de la fonction de taux instantané, c'est-à-dire dans $h_0(t)$. En particulier, on ne suppose pas que l'âge à l'inclusion vérifie l'hypothèse des risques proportionnels et que sa relation avec le taux instantané est de type log-linéaire. En s'affranchissant de ces hypothèses, on évite d'aboutir à des estimations erronées qui pourraient résulter de leur non-validité^{225, 226}. C'est pour ces raisons que plusieurs auteurs ont recommandé de choisir l'âge comme échelle de temps dans l'analyse des enquêtes de cohortes qui étudient la survenue d'une maladie dont l'incidence est fortement déterminée par l'âge^{225, 227}.

Test de tendance

L'ensemble des p-values présentées dans les tableaux de résultats de ce présent travail est issu de tests de tendance effectués en incluant une variable continue dans les modèles multivariés prenant comme valeur la médiane des différentes catégories testées.

Effet cohorte

Comme évoquée plus haut (cf. page 23), il existe un fort effet cohorte dans l'incidence du cancer du sein et du diabète de type II. Par conséquent, les modèles de Cox ont été stratifiés sur la cohorte de naissance, par classes de cinq années : 1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945 et 1945-1950. La stratification autorise en effet un risque de base $h_0(t)$ différent pour chaque cohorte de naissance. Elle suppose néanmoins que les associations entre les covariables et le risque de la maladie étudiée soient identiques, quelle que soit la cohorte de naissance²²⁶.

8.2.3 Risques compétitifs

Dans le cas particulier de l'étude du cancer du sein, nous avons été amenés à étendre la théorie du modèle de Cox « classique » au cas où la variable d'intérêt n'est plus binaire (du type sain/malade) mais polytomique. Lorsque l'on s'intéresse à des événements multiples, à savoir lorsque plusieurs pathologies distinctes peuvent survenir, cela devient de l'analyse de survie avec risques compétitifs. Les différents événements d'intérêt ne sont plus indépendants entre eux, la probabilité de faire un événement varie avant et après la survenue d'un autre événement, ou bien un événement empêche les autres événements de se produire. Nous sommes bien en situation d'événements compétitifs (ou concurrents). L'analyse du risque de survenue de cancer du sein est donc en situation de risques compétitifs, lorsque les cancers sont classés selon le statut en récepteurs hormonaux de la tumeur (positif ou négatif pour les récepteurs aux estrogènes, positif ou négatif pour les récepteurs à la progestérone). Cela nous a amené à séparer les cancers du sein en 4 groupes (ER+/PR+, ER+/PR-, ER-/PR+ et ER-/PR-). Une femme ayant eu un type de cancer du sein ne contribuera plus (à partir de la date du diagnostic) à l'étude d'un premier cancer du sein d'un autre type.

Ainsi pour chaque type d'événements j , $j \in \{1; K\}$, avec K événements possibles (par exemple, ici $K=4$), on modélise le risque instantané de déclarer l'événement j , que l'on note $h_j(t)$ par :

$$h_j(t, \mathbf{Z}) = h_{0j}(t) \exp(\beta^{(j)} \mathbf{Z})$$

$$\text{avec } h_j(t, \mathbf{Z}) = \lim_{dt \rightarrow 0} \frac{P(t \leq T \leq t + dt, a = j, T \geq t)}{dt}$$

Les hypothèses à tester

Avec les notations précédentes, nous avons été amenés à tester certaines hypothèses. Soit Z_r une variable du vecteur \mathbf{Z} précédemment défini. On note par $\beta_r^{(j)}$ le coefficient de la variable Z_r dans le modèle de Cox correspondant à l'événement j .

Hypothèse 1 : la variable Z_r n'a d'influence ni sur le type de l'événement, ni sur le temps de survenue d'un de ces événements. On posera alors : $\beta_r^{(1)} = \beta_r^{(2)} = \dots = \beta_r^{(K)} = 0$

Hypothèse 2 : la variable Z_r n'a pas d'influence sur le type d'événement. On pose alors : $\beta_r^{(1)} = \beta_r^{(2)} = \dots = \beta_r^{(K)}$

Hypothèse 3 : Conditionnellement au fait que Z_r n'a pas d'influence sur le type d'événement, Z_r n'a pas d'influence sur le temps de survenue de l'événement. On écrit alors $\beta_r^{(1)} = \beta_r^{(2)} = \dots = \beta_r^{(K)} = 0$ sachant que $\beta_r^{(1)} = \beta_r^{(2)} = \dots = \beta_r^{(K)}$.

L'hypothèse la plus fréquemment testée en pratique est l'hypothèse 2, notamment lorsque l'on souhaite évaluer l'hétérogénéité, entre les événements en compétition, des associations avec un facteur d'exposition. Dans ce cas là, la statistique de test correspondante est :

$$Q_2 = \frac{\sum_{j=1}^K \frac{\widehat{\beta}_r^{(j)2}}{\widehat{\sigma}_{rr}^{(j)}}}{\sum_{j=1}^K \frac{1}{\widehat{\sigma}_{rr}^{(j)}}},$$

avec $\widehat{\beta}_r^{(j)}$ le paramètre estimé de la variable Z_r dans la modélisation de l'événement de type j , $\widehat{\sigma}_{rr}^{(j)}$ la variance de $\widehat{\beta}_r^{(j)}$. Q_2 suit une loi de $\chi^2_{(K-1)}$.

8.2.4 Gestion des données manquantes sur les covariables des modèles

Lorsque la covariable présentait moins de 5% de données manquantes dans la population d'analyse, on imputait par la médiane (pour les variables quantitatives) ou par le mode (variables qualitatives). Dans le cas contraire, une catégorie « valeurs manquantes » a été créée à part et a été intégrée dans les modèles.

8.2.5 Logiciels utilisés

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS version 9.1 ou 9.2 (SAS Institute, Inc., Cary, NC) ou R version 2.10.

8.3 Prise en compte des données alimentaires dans les analyses de risque

Les apports alimentaires en nutriment (vitamine D, ou calcium) ont été préalablement ajustés sur l'apport énergétique (kcal/j) provenant des aliments (i.e apport énergétique quotidien total sans l'énergie apporté par l'alcool) par la méthode des résidus proposée par Willett et Stampfer²²⁸. L'ajustement sur l'apport énergétique réduit le biais de classement par erreur de mesure. Par ailleurs, les apports en nutriments et l'apport énergétique provenant des aliments sont corrélés (en effet, plus la quantité d'aliments consommés est élevée, plus l'apport énergétique et l'apport en nutriments énergétiques ou non énergétiques sont élevés). Enfin, il existe un lien entre l'apport énergétique et la survenue des deux pathologies que nous avons étudiés dans cette thèse (diabète et cancer du sein). L'apport énergétique alimentaire intervient donc comme un facteur de confusion dans l'association entre l'apport en un nutriment et le risque de maladie.

La méthode d'ajustement consiste à utiliser les résidus de la régression linéaire de la quantité brute de nutriment (variable expliquée, par exemple la vitamine D alimentaire) sur l'apport énergétique (variable explicative) auxquels on ajoute une constante égale à l'apport moyen du nutriment observé dans la population, afin d'exprimer des niveaux d'apports réels. Par construction, la distribution des résidus des apports se rapproche d'une distribution normale et les résidus sont indépendants

de l'apport énergétique (corrélation nulle); il arrive cependant que certains apports ajustés par la méthode des résidus soient négatifs du fait des valeurs extrêmes.

RESULTATS

Section 1. Facteurs de risque alimentaires, risques de cancer du sein et de diabète de type II

1.1 Introduction générale

Comme cela a été décrit dans la Section 3 (page 37), les facteurs alimentaires jouent un rôle prépondérant dans l'étiologie du cancer du sein. Des études sur population migrante ont déjà montré que l'évolution des taux d'incidence des migrants était fortement corrélée au changement de leurs habitudes alimentaires²²⁹. Mais à l'heure actuelle, mise à part la consommation d'alcool pur, les preuves concernant les autres facteurs de risque alimentaires sont insuffisantes ou contradictoires.

En ce qui concerne le risque de diabète, l'alimentation joue également un rôle prédominant, car elle est étroitement liée à l'obésité et au surpoids, qui sont des facteurs de risque avérés de diabète de type II. Indépendamment de la notion de corpulence, certains aliments auraient également des propriétés intéressantes. Mais encore une fois, le faisceau de preuves ne permet pas de statuer clairement sur le rôle de ces différents facteurs alimentaires.

Dans la Section 1 (page 78), nous allons présenter successivement les différentes études du volet alimentaire de cette thèse. Dans un premier temps, à partir des données de la cohorte E3N, nous avons pu évaluer le lien entre le risque de cancer du sein (défini selon le statut ménopausique et le statut en récepteurs hormonaux) et les expositions suivantes :

- la consommation de café/thé/caféine totale, puis en fonction du moment de la journée où la boisson est consommée (cf. 1.2.3 page 82),
- la consommation d'alcool pur, puis selon le type d'alcool consommé (cf. 1.2.4 page 88),
- la consommation de viande totale, puis selon le type de viande (cf. 1.2.5 page 96)
- et enfin l'apport en vitamine D alimentaire (cf. 1.2.6 page 101).

Ces 4 études sont suivies de l'étude sur la vitamine D sérique et le risque de cancer du sein (cf. 1.2.7 page 109), à partir des données de l'étude cas-témoin nichée dans la cohorte E3N.

Dans la partie 1.3 (cf. page 115), nous allons dérouler le même schéma que précédemment pour le risque de diabète, à la différence près qu'il n'existe pas encore d'étude cas-témoins nichée dans la cohorte E3N sur le diabète de type II. Ainsi l'analyse entre le taux de vitamine D sérique et le risque de diabète n'a pas été possible. Cependant, à partir des données de la cohorte E3N, nous avons pu évaluer le lien entre le risque de diabète de type II et les expositions suivantes :

- la consommation de café/thé/caféine totale, puis en fonction du moment de la journée où la boisson est consommée (cf. 1.3.2 page 116),
- la consommation d'alcool pur, puis selon le type d'alcool consommé (cf. 1.3.3 page 121),
- la consommation de viande (cf. 1.3.4 page 125),
- et enfin l'apport en vitamine D alimentaire (cf. 1.3.5 page 128).

1.2 Facteurs alimentaires et risque de cancer du sein

1.2.1 Population

Population d'étude pour le café/thé/caféine, l'alcool, la viande et le risque de cancer du sein

Pour cette analyse, nous avons inclu dans la population d'analyse les femmes qui avaient répondu au questionnaire alimentaire Q3. Parmi 77 613 femmes, il a fallu exclure 2 104 femmes pour cause de mauvais codage informatique et 985 femmes parce qu'elles n'ont pas donné de consentement pour que l'étude E3N récupère des informations auprès de la MGEN en cas de sortie de l'étude. Dans un second temps ont été exclues 4 510 femmes qui ont eu un cancer prévalent au questionnaire alimentaire, mais également 926 femmes qui n'avaient pas répondu à un

questionnaire après Q3. Puis 1 385 femmes ont été exclues à cause de données alimentaires physiologiquement impossibles (apport énergétique trop faible ou trop élevé). Au final, 67 703 femmes ont été incluses dans l'analyse. Parmi elles, 2 868 cas de cancer du sein incidents ont été répertoriés sur l'ensemble de la période de suivi (634 en préménopause, 2 234 en postménopause).

Population d'étude pour la vitamine D alimentaire et le risque de cancer du sein

La population d'analyse pour l'étude de la vitamine D alimentaire regroupait quant à elle 67 721 femmes. La différence d'effectif avec la population précédente (N=18) réside dans le fait que les deux études ont été menées à deux instants différents et, qu'entre les deux, un certain nombre de cancers incidents et prévalents (donc à exclure) ont été confirmés. Parmi les 67 721 femmes de la population, 2 871 cas de cancer du sein ont été diagnostiqués.

1.2.2 Modélisation

Cas général des analyses basées sur la cohorte E3N

Des modèles de Cox ont été mis en œuvre pour estimer les risques relatifs et les intervalles de confiance à 95%. Les modèles multivariés ont été ajustés sur l'apport énergétique total (sans l'apport énergétique issu de l'alcool), la consommation d'alcool (pour toutes les études sauf celle sur l'alcool où il s'agissait d'une des variables d'exposition principales), la prise de contraceptif oral au cours de la vie (jamais/déjà), l'âge à la ménopause, l'activité physique (Met-h/semaine), le nombre d'enfants et l'âge à la première grossesse, le nombre d'années d'études, ainsi que les variables dépendantes du temps suivantes : les antécédents familiaux de cancer du sein (aucun/au moins un), les antécédents personnels de mastopathie bénigne, le statut ménopausique, la prise de THM (pour les femmes ménopausées uniquement), et l'IMC.

Un ajustement supplémentaire a été fait pour l'étude de la vitamine D sur la dose moyenne UVB du lieu de résidence durant la période printemps-été, l'apport en calcium, la prise de complément en vitamine D et en calcium, la résistance aux coups

de soleil (faible, moyenne, haute) et la pigmentation de la peau (très claire, claire, moyenne, mate, noire).

Modélisation du lien entre le taux de vitamine D sérique et risque de cancer du sein dans l'étude cas-témoin

Pour l'étude cas-témoin niché dans la cohorte, des modèles de régression logistique non-conditionnelle ont été mis en place et différents ajustements ont été testés. La variable d'intérêt, à savoir la concentration en 25(OH)D3, a été découpée en tertiles, déterminés à partir de leur distribution chez les témoins. Les modèles multivariés ont été ajustés, dans un premier temps, sur les variables suivantes : l'âge, le statut ménopausique au moment du prélèvement sanguin, l'âge à la ménopause, le centre de prélèvement et la date du prélèvement. Puis d'autres modèles ont été construits en ajoutant à l'ajustement précédent les variables suivantes : l'IMC, l'activité physique, l'âge des premières règles, le nombre d'enfants, le statut tabagique, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'utilisation de traitements hormonaux de la ménopause (chez les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels d'exams mammographiques, de mastopathies bénignes, les antécédents familiaux de premier degré de cancer du sein. Puis un ajustement supplémentaire sur la consommation d'alcool, l'énergie totale sans alcool, les apports alimentaires en calcium et vitamine D et la prise de compléments en calcium en vitamine D a été effectué. Et enfin, les variables de concentrations sériques en calcium, PTH, estradiol et progestérone ont été ajoutées dans le modèle le plus complet. Des analyses stratifiées sur le statut ménopausique au moment du prélèvement et du diagnostic ont été menés. Des analyses de sensibilité selon les catégories d'âge au prélèvement, les catégories d'IMC et les tertiles de taux sérique de calcium ont été menées dans un second temps.

1.2.3 Lien entre consommation de café/thé/caféine et risque de cancer du sein

Caractéristiques de la population

Comme le montre la Figure 11, le café est consommé par 85% des femmes (médiane de consommation à 280 mL/jr, soit 2,2 tasses/jr) et le thé par 59% (médiane de consommation 214mL/jr, soit 1,7 tasse/jr). L'apport médian de caféine est de 164 mg/jr (étendue : 0,1 – 724 mg/jr) parmi les consommatrices de café et de thé.

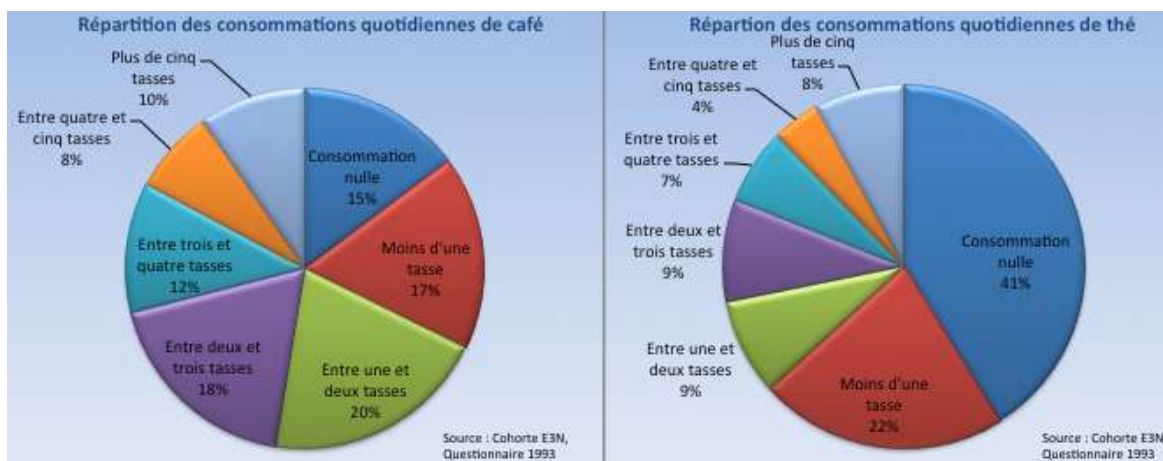


Figure 11 : Répartition de la consommation de café et thé dans la cohorte E3N

Le Tableau 1 présente les caractéristiques des femmes à l'inclusion selon leur consommation de café, thé et caféine. Globalement, les femmes de l'étude présentent des distributions similaires quelle que soit la catégorie de café, thé ou caféine dans laquelle elles se trouvent.

Risques dans la population entière et selon le statut des récepteurs hormonaux

Le Tableau 2 présente quant à lui les risques de cancer du sein associés à la consommation de café/thé/caféine selon le statut en récepteurs hormonaux de la tumeur. On constate que la consommation de café n'est pas associée au risque de cancer du sein dans la population entière (RR=1,02 [0,90-1,16] entre la catégorie de consommation élevée et les non-consommatrices), mais également dans chaque catégorie des récepteurs hormonaux. Il en va de même pour la consommation de thé

(RR=0,79 [0,62-1,01] entre la catégorie de consommation élevée et les non-consommatrices) dans la population entière même si l'association irait plutôt dans le sens d'une diminution de risque dans la population entière. Une grande consommation de thé n'est associée à aucun des risques de cancer du sein défini selon le statut en récepteurs hormonaux. Pour l'apport en caféine, les associations sont assez similaires à celles de la consommation de café. Ainsi, aucune catégorie d'apport en caféine n'est associée au risque de cancer du sein, quel que soit son type.

Ces résultats sont similaires en pré- et en postménopause (résultats non-tabulés car non-informatif). L'hypothèse d'un effet différentiel du café/thé/caféine selon le moment où ils sont consommés n'est pas soutenue par nos résultats puisque les analyses stratifiées par repas n'ont pas apporté d'information supplémentaire.

Des analyses de sensibilité ont été menées en incluant simultanément les consommations de café/thé/caféine dans le modèle ou en différenciant le type de café consommé (café normal ou décaféiné).

Résultats

Tableau 1 : Caractéristiques de la population à l'inclusion en fonction de la consommation de café/thé/caféine (N=67 703). Standardisation (1 tasse=125mL).

	Café (tasse/jr)				Thé (tasse/jr)				Caféine (mg/jr)			
	Non				Non							
	consommatrices	≤ 1	1.1-3	> 3	consommatrices	≤ 1	1.1-3	> 3	<88	88 - 163	164 - 262	> 262
	N= 9 963	N=11 905	N=26 269	N=19 566	N=27 631	N=15 204	N=12 001	N=12 867	N=16 807	N=16 995	N=16 891	N=17 010
Médiane (écart-type)												
Age (années)	51,8 (6,8)	52,6 (6,9)	52,0 (6,7)	50,4 (6,2)	51,7 (6,7)	51,8 (6,6)	51,4 (6,6)	51,1 (6,5)	52,4 (6,9)	52,3 (6,8)	51,4 (6,5)	50,2 (6,1)
Age aux premières règles (années)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)	13,0 (1,4)
Age à la première grossesse (années)	24,0 (3,9)	24,0 (3,9)	24,0 (3,7)	24,0 (3,8)	24,0 (3,7)	24,0 (3,8)	24,0 (3,8)	24,0 (3,8)	24,0 (3,8)	24,0 (3,8)	24,0 (3,7)	24,0 (3,8)
Age à la ménopause (années)	51,0 (3,8)	51,0 (3,8)	51,0 (3,7)	51,0 (3,7)	51,0 (3,8)	51,0 (3,7)	51,0 (3,7)	51,0 (3,7)	51,0 (3,8)	51,0 (3,7)	51,0 (3,7)	51,0 (3,7)
Nombre d'enfants	2,0 (1,1)	2,0 (1,2)	2,0 (1,2)	2,0 (1,1)	2,0 (1,2)	2,0 (1,1)	2,0 (1,1)	2,0 (1,1)	2,0 (1,2)	2,0 (1,1)	2,0 (1,1)	2,0 (1,1)
Indice de masse corporelle (kg/m²)	21,9 (3,2)	22,1 (3,2)	22,4 (3,2)	22,6 (3,4)	22,6 (3,4)	22,3 (3,2)	22,2 (3,1)	22,0 (3,0)	22,1 (3,3)	22,3 (3,2)	22,4 (3,2)	22,6 (3,4)
Apport énergétique total (kcal/jr)	2067 (580)	2085 (567)	2107 (561)	2168 (593)	2094 (582)	2169 (576)	2115 (564)	2095 (567)	2055 (567)	2097 (559)	2128 (567)	2185 (598)
(%)												
Niveau d'étude												
Avant Bac	14,7	14,7	15,2	15,1	18,5	14,2	13	10,6	15,8	15,4	14,4	14,5
Bac/Bac +5	69,7	66,2	67,1	67,6	67,6	67,8	68,1	65,9	68,5	66,3	67,6	67,3
Après Bac +5	15,6	19,1	17,7	17,3	13,9	18	18,9	23,5	15,7	18,3	18	18,2
Utilisation de contraceptifs oraux au cours de la vie												
Jamais	41,6	42	39,2	35,6	42,4	39,3	36,6	33,5	43,7	40,3	37,3	34,7
Déjà	58,4	58	60,8	64,4	57,6	60,7	63,4	66,5	56,3	59,7	62,7	65,3
Utilisation de THM en cours												
Non	69,7	67,2	67,8	71,4	70,3	68,5	68,1	67,7	68,4	67,4	68,4	71,8
Oui	30,3	32,8	32,2	28,6	29,7	31,5	31,9	32,3	31,6	32,6	31,6	28,2
Antécédents personnels de mastopathie bénigne												
Non	70,4	71,8	71,9	71,2	71,9	71	71,8	70,7	71,4	71,9	71,4	70,9
Oui	29,6	28,2	28,1	28,8	28,1	29	28,2	29,3	28,6	28,1	28,6	29,1
Antécédents familiaux de cancer du sein												
Non	88,4	88	88,3	88,4	88,6	88,2	88	87,9	88,2	88	88,5	88,3
Oui	11,6	12	11,7	11,6	11,4	11,8	12	12,1	11,8	12	11,5	11,7
Statut ménopausique												
Préménopause	42,1	39,2	40,5	47,2	41,5	41,9	42,9	44,7	39,3	39,9	42,6	48,1
Postménopause	57,9	60,8	59,5	52,8	58,5	58,1	57,1	55,3	60,7	60,1	57,4	51,9

Tableau 2 : Risques relatifs multivariés de cancer du sein selon la consommation de café/thé/caféine selon le statut en récepteurs hormonaux de la tumeur (N=67 703).

Boisson	Apport médian (/jr)	Cas	Population entière	Statut en récepteurs hormonaux							
				Cas	ER+/PR+	Cas	ER+/PR-	Cas	ER-/PR+	Cas	ER-/PR-
Café (tasse**/ jr)											
Non-consommatrices	0	410	1 (référence)	179	1 (référence)	65	1 (référence)	21	1 (référence)	61	1 (référence)
≤ 1	70 mL	491	1,02 (0,91-1,15)	233	1,00 (0,84-1,20)	78	0,87 (0,65-1,16)	19	0,88 (0,48-1,61)	51	0,67 (0,47-0,95)
1.1-3	240 mL	1133	0,98 (0,85-1,11)	529	1,04 (0,90-1,21)	183	0,94 (0,74-1,20)	36	0,74 (0,44-1,25)	147	0,87 (0,66-1,15)
> 3	540 mL	834	1,02 (0,90-1,16)	379	0,98 (0,85-1,20)	156	1,05 (0,83-1,34)	24	0,66 (0,39-1,12)	105	0,81 (0,61-1,07)
P tendance *			0,79		0,57		0,05		0,1		0,62
Thé (tasse**/ jr)											
Non-consommatrices	0	1153	1 (référence)	542	1 (référence)	197	1 (référence)	34	1 (référence)	160	1 (référence)
≤ 1	33 mL	652	0,97 (0,84-1,18)	275	0,89 (0,92-1,23)	115	1,01 (0,81-1,27)	29	1,52 (0,94-2,44)	78	0,84 (0,64-1,10)
1.1-3	250 mL	525	1,01 (0,89-1,15)	257	1,06 (0,92-1,23)	81	0,90 (0,70-1,16)	18	1,17 (0,67-2,04)	59	0,81 (0,60-1,08)
> 3	586 mL	538	0,79 (0,62-1,01)	246	0,93 (0,82-1,06)	89	0,87 (0,70-1,09)	19	1,10 (0,69-1,79)	67	0,78 (0,60-1,01)
P tendance *			0,22		0,19		0,92		0,83		0,63
Caféine (mg/ jr)											
<88	48 mg	698	1 (référence)	320	1 (référence)	102	1 (référence)	32	1 (référence)	91	1 (référence)
88 - 163	125 mg	722	1,01 (0,93-1,11)	335	1,00 (0,88-1,15)	129	1,14 (0,90-1,19)	27	0,92 (0,58-1,15)	84	0,91 (0,70-1,15)
164 - 262	207 mg	733	1,04 (0,94-1,15)	339	1,03 (0,89-1,19)	124	1,15 (0,90-1,19)	19	0,60 (0,34-1,19)	96	1,04 (0,79-1,19)
> 262	351 mg	715	1,02 (0,93-1,13)	326	0,99 (0,86-1,16)	127	1,20 (0,94-1,16)	22	0,66 (0,39-1,16)	93	1,01 (0,77-1,16)
P tendance *			0,36		0,65		0,1		0,15		0,4

Abréviations: ER récepteurs aux estrogènes; PR, récepteurs à la progestérone

Modèles de Cox ajustés sur : l'apport énergétique total (sans l'apport énergétique issue de l'alcool), la consommation d'alcool, la prise de contraceptif oral au cours de la vie (Jamais/Déjà), âge à la ménopause, l'activité physique (Met-h/semaine), le nombre d'enfants et l'âge à la première grossesse, le nombre d'années d'études, et les variables dépendantes du temps suivantes : les antécédents familiaux de cancer du sein (Aucun/Au moins un), les antécédents personnels de mastopathie bénigne, le statut ménopausique, la prise de THM (pour les femmes ménopausées uniquement), et l'IMC.

* Test de tendance avec la valeur médiane dans chaque quartile incluse comme variable ordinale.

**1 tasse = 125ml

Discussion

Notre étude n'a pas mis en évidence d'association significative entre la consommation de café/thé/caféine et le risque de cancer du sein de manière générale, mais également selon le statut ménopausique de la femme et le statut en récepteurs hormonaux de la tumeur. Aucune association n'a été détectée en stratifiant sur le moment où la boisson a été ingérée. De plus, notre étude n'est pas en faveur d'une association différentielle selon le type de café consommé (normal ou décaféiné).

Ces résultats sont en accord avec la récente étude de cohorte néerlandaise²³⁰ et une méta-analyse regroupant 9 études de cohorte et autant d'études cas-témoin⁸⁴ qui ne trouvent pas d'association entre la consommation de café et le risque de cancer du sein. Mais il existe deux études prospectives^{85, 86} qui concluent à une association inverse dans certains sous-groupes de cancer du sein. L'étude de la Nurses' Health Study⁸⁵ montre un sur-risque de cancer postménopausique parmi les femmes qui consomment plus de 4 tasses (dans cette étude, 1 tasse = 233 mL, café/thé confondus) par jour. Dans la Women's Health Study, un apport élevé de caféine augmentait le risque de cancer du sein dont les tumeurs sont de type ER-/PR- ou plus grandes que 2 cm⁸⁶. Une autre étude⁸⁷ a suggéré une diminution du risque en préménopause uniquement, pour les femmes consommant au moins 4 tasses de café par jour, conclusion que les résultats de notre étude ne viennent pas confirmer. En Suède, où le café est très fréquemment consommé, une étude de cohorte n'a pas mis en relation sa consommation avec le risque de cancer du sein²³¹. Le manque de variabilité dans la consommation de café ou de thé de l'étude E3N pourrait expliquer l'absence d'association statistique. Les études de Michaud et al²³² et Bhoo et al²³⁰ permettent de comparer les habitudes de consommation de café et de thé de notre population aux consommations d'autres pays européens de la cohorte EPIC. En ce qui concerne le café, les femmes de la cohorte E3N, avec 280 mL/jr, se situent dans la moyenne des consommateurs moyens vis-à-vis des autres pays européens. Pour ce qui est de la consommation de thé, les femmes de la cohorte E3N se situent parmi les plus grandes consommatrices d'EPIC avec 214 mL/jr.

La littérature sur l'association entre la consommation de thé et le risque de cancer du sein est contradictoire. Alors que la majorité des études concluent à une

absence d'association^{85, 233, 234}, une étude suggèrerait une association positive entre la consommation de thé noir et le risque de cancer du sein ER+/PR+²³¹. Des études cas-témoins chinoises ont suggéré une association inverse entre le thé vert et le risque de cancer du sein^{235, 236}. Les données alimentaires de la cohorte E3N ne permettent pas de différencier le thé noir du thé vert, mais c'est traditionnellement le premier qui est le plus consommé en France.

Mécanismes biologiques

Des mécanismes biologiques impliquant la caféine ont été avancés pour expliquer d'éventuels effets de la consommation de café/thé. Un apport élevé de caféine serait associé à une augmentation du taux sanguin d'estrone, de SHBG, et à une diminution du taux plasmatique circulant d'estradiol²³⁷, tous ces facteurs étant eux associés à une diminution du risque de cancer du sein⁸⁶. La caféine pourrait également agir sur le métabolisme du glucose via une diminution de l'absorption et du stockage du glucose⁹². De plus, le café et le thé contiennent des polyphénols, qui ont des propriétés antioxydantes, et donc potentiellement intéressantes du point de vue du mécanisme de la carcinogénèse⁹¹.

En conclusion, cette analyse **ne supporte pas l'hypothèse d'un effet de la consommation de café/thé/caféine sur le risque de cancer du sein.**

1.2.4 Lien entre la consommation d'alcool et risque de cancer du sein

Caractéristiques de la population

La Figure 12 montre qu'environ 38% des femmes de l'analyse déclarent consommer au moins une fois par jour (ou 7 fois par semaine) un verre d'alcool, quel que soit son type. Seulement 12% d'entre elles ne consomment jamais d'alcool.

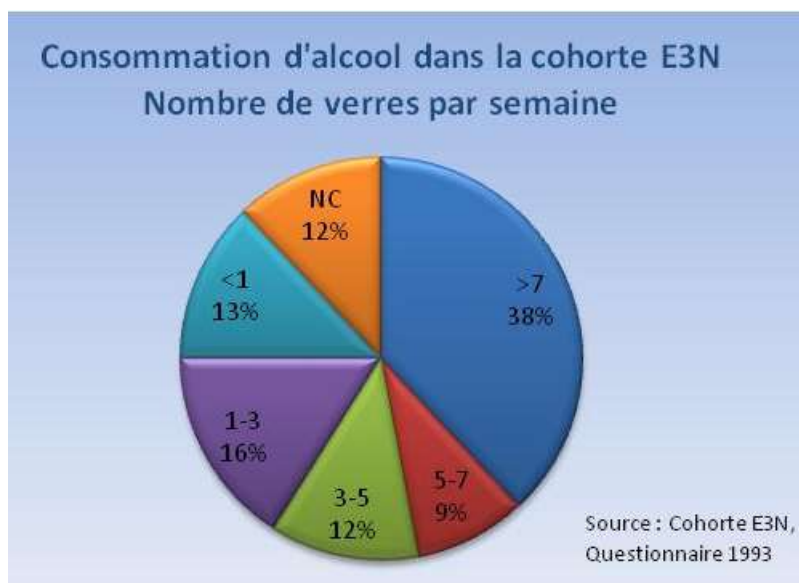


Figure 12 : Répartition de la consommation d'alcool pur en nombre de verres par semaine (Standardisation 1 verre= 10 g d'éthanol).

Environ 38% des femmes déclarent consommer au moins une fois par jour un verre d'alcool, quelque soit son type. Les grandes consommatrices ont un IMC moyen plus élevé, un apport énergétique plus important et une activité physique plus faible que les femmes qui ne boivent jamais d'alcool.

Dans la population totale, la médiane de consommation d'éthanol par semaine s'élève à 43,13 g, soit environ 4,31 verres par semaine. Restreinte aux consommatrices, cette médiane augmente à 55,58 g soit 5,56 verres par semaine. Le Tableau 3 récapitule les consommations médianes d'alcool pur mais également par type d'alcool consommé selon la fréquence hebdomadaire de consommation générale d'alcool.

Tableau 3 : Consommations médianes des différents types d'alcool et d'alcool pur selon la fréquence hebdomadaire de consommation (N=67 703).

Consommation par semaine (verre/semaine)	NC	< 1	1-3	3-5	5-7	>7
Bière/cidre (ml/semaine)	0	76,3	387,9	922,4	1500	2695
Vin/Champagne (ml/semaine)	0	69	275,9	587,9	839	1650
Alcools forts (Whisky,Gin,Vodka..., ml/semaine)	0	14,1	58,39	156,8	240	393,8
Apéritifs (Muscat,Porto,Vermouth..., ml/semaine)	0	29,9	103,5	253,5	410	656,6
Alcool pur (éthanol) (g/semaine)	0	4,74	18,95	39,34	59,61	139,2

Risques selon le statut ménopausique et les types de boissons consommées

Une grande consommation d'alcool est associée à un sur-risque de cancer du sein (cf. Tableau 4), mais en postménopause uniquement (RR=1,22 [1,05 – 1,41], alors que RR=0,98 [0,75 – 1,28] en préménopause). Le risque est augmenté de 4% à chaque verre consommé (RR=1,04 [1,01 – 1,06]). Lorsque l'on s'intéresse aux types d'alcool consommés, on se rend compte que seules les grandes consommations de bière/cidre ou vin/champagne sont associées à un sur-risque de cancer du sein en postménopause (RR=1,32 [1,00 – 1,75] pour la bière/cidre contre RR=1,20 [1,06 – 1,37] pour le vin/champagne). Aucune association n'est observée en préménopause pour ces deux types d'alcool. En préménopause, on note une augmentation du risque statistiquement significative pour les grandes consommatrices d'alcools forts (RR=1,88 [1,03 – 3,43]), mais seulement 11 cas de cancer du sein consomment plus de 7 verres d'alcools forts par semaine. Aucune association n'est à noter vis-à-vis des apéritifs, que ce soit en pré- ou en postménopause. En postménopause, les preneuses de THM (cf. Tableau 35 en Annexe) avaient un risque légèrement supérieur (RR=1,21 [1,02 – 1,43] chez les utilisatrices contre RR=1,14 [0,99 – 1,38] chez les non-utilisatrices, pour une consommation supérieure à 7 verres par semaine par rapport aux non consommatrices).

Une tendance linéaire positive est observée en postménopause pour les consommations d'alcool pur, de vin/champagne et d'apéritifs. En préménopause, une tendance linéaire positive a été observée uniquement pour la consommation de bière/cidre.

Tableau 4 : Risques relatifs multivariés de cancer du sein en pré- et postménopause selon la consommation d'alcool pur et des différents types d'alcool. (N=67 703).

Variable (verre/semaine)	Préménopause				Postménopause			
	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P
Alcool								
NC	74	1	référence		240	1	référence	
<1	87	1,02	[0,75 - 1,39]	0,88	276	1,08	[0,90 - 1,28]	<0,01
1-3	98	0,92	[0,68 - 1,35]		346	1,08	[0,92 - 1,28]	
3-5	72	0,89	[0,64 - 1,25]		241	1,04	[0,87 - 1,25]	
5-7	60	1,02	[0,73 - 1,44]		205	1,21	[1,00 - 1,45]	
>7	243	0,98	[0,75 - 1,28]		926	1,22	[1,05 - 1,41]	
Bière/cidre								
NC	377	1	référence		1433	1	référence	
<1	130	0,94	[0,77 - 1,15]	<0,01	457	1,03	[0,93 - 1,14]	0,09
1-3	70	1,11	[0,86 - 1,44]		199	1,17	[1,00 - 1,35]	
3-5	26	1,35	[0,90 - 2,01]		63	1,14	[0,88 - 1,47]	
5-7	10	1,1	[0,59 - 2,06]		30	1,06	[0,74 - 1,52]	
>7	21	1,51	[0,97 - 2,34]		52	1,32	[1,00 - 1,75]	
Vin/Champagne								
NC	148	1	référence		445	1	référence	
<1	105	0,96	[0,75 - 1,23]	0,2	362	1,16	[1,01 - 1,33]	<0,01
1-3	131	0,93	[0,74 - 1,18]		430	1,09	[0,96 - 1,25]	
3-5	76	1,02	[0,77 - 1,34]		262	1,25	[1,07 - 1,46]	
5-7	52	1,01	[0,74 - 1,39]		202	1,19	[1,00 - 1,40]	
>7	122	0,88	[0,69 - 1,12]		533	1,2	[1,06 - 1,37]	
Alcools forts (Whisky, Gin, Vodka...)								
NC	444	1	référence		1591	1	référence	
<1	118	1,05	[0,86 - 1,29]	0,07	402	1,08	[0,97 - 1,21]	0,45
1-3	43	0,86	[0,63 - 1,17]		175	1,09	[0,93 - 1,28]	
3-5	13	0,98	[0,5- - 1,70]		39	0,92	[0,67 - 1,26]	
5-7	5	1,45	[0,60 - 3,51]		9	0,82	[0,42 - 1,57]	
>7	11	1,88	[1,03 - 3,43]		18	0,8	[0,51 - 1,28]	
Apéritifs (Muscat, Porto, Vermouth...)								
NC	243	1	référence		922	1	référence	
<1	241	1,09	[0,91 - 1,30]	0,41	810	1	[0,91 - 1,10]	0,04
1-3	123	1,33	[1,07 - 1,65]		385	1,17	[1,03 - 1,32]	
3-5	15	0,83	[0,50 - 1,40]		67	1,1	[0,86 - 1,41]	
5-7	7	1,4	[0,66 - 2,97]		24	1,31	[0,88 - 1,98]	
>7	5	0,89	[0,37 - 2,17]		26	1,18	[0,80 - 1,75]	

* Modèles ajustés sur l'âge, le statut ménopausique, l'âge à la ménopause, l'IMC, l'activité physique, l'âge des premières règles, le nombre d'enfants, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'utilisation de traitements hormonaux de la ménopause (chez les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels d'examen mammographiques, de mastopathies bénignes, les antécédents familiaux de premier degré de cancer du sein, et l'énergie totale sans alcool. P : test de tendance, en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Risques selon le statut des récepteurs hormonaux et les type des boissons consommées

Lorsque l'on s'intéresse à l'effet de l'alcool sur le risque de cancer du sein défini par le statut des récepteurs hormonaux (cf. Tableau 5), on constate que le résultat précédemment obtenu vis-à-vis de l'alcool pur ne se retrouve que pour les cancers ER+/PR+. Pour les femmes qui consomment l'équivalent de plus de 7 verres d'alcool par semaine, le risque est 25% plus élevé que pour les non consommatrices (RR=1,25 [1,01 – 1,54]). En revanche, aucune association n'apparaît dans les autres catégories de cancer.

Tableau 5 : Risques relatifs multivariés associés à la consommation d'alcool pur, converti en verres d'alcool par semaine (1 verre = 10 g d'éthanol) selon le statut des récepteurs hormonaux des tumeurs.

	ER+/PR+				ER+/PR-			
	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P
Alcool (verre/semaine)								
NC	107	1	référence		45	1	référence	
<1	127	1,11	[0,86 - 1,44]		47	0,99	[0,65 - 1,49]	
1-3	157	1,09	[0,85 - 1,40]	0,03	64	1,07	[0,73 - 1,57]	0,57
3-5	109	1,05	[0,81 - 1,38]		41	0,95	[0,62 - 1,45]	
5-7	90	1,18	[0,89 - 1,57]		36	1,14	[0,73 - 1,77]	
>7	427	1,25	[1,01 - 1,54]		166	1,17	[0,84 - 1,62]	
	ER-/PR+				ER-/PR-			
	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P
Alcool (verre/semaine)								
NC	8	1	référence		37	1	référence	
<1	8	0,96	[0,36 - 2,57]		32	0,79	[0,49 - 1,27]	
1-3	7	0,68	[0,25 - 1,88]	0,61	35	0,69	[0,44 - 1,11]	0,02
3-5	9	1,22	[0,47 - 3,18]		38	1,08	[0,68 - 1,70]	
5-7	4	0,75	[0,23 - 2,50]		26	0,99	[0,60 - 1,65]	
>7	20	0,85	[0,37 - 1,93]		110	0,95	[0,65 - 1,39]	

* Modèles ajustés sur l'âge, le statut ménopausique, l'âge à la ménopause, l'IMC, l'activité physique, l'âge des premières règles, le nombre d'enfants, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'utilisation de traitements hormonaux de la ménopause (chez les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels d'examen mammographiques, de mastopathies bénignes, les antécédents familiaux de premier degré de cancer du sein, et l'énergie totale sans alcool. P : test de tendance, en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Risques des femmes en surpoids

Bien que le test d'interaction entre l'IMC (plus ou moins de 25 kg /m²) et l'alcool (plus ou moins d'un verre par jour) sur le risque de cancer du sein soit non significatif (P = 0,31), il faut noter que les sur-risques observés dans la population entière, puis en postménopause, se retrouvent uniquement chez les femmes en surpoids ou obèses lorsque l'on stratifie selon les classes d'IMC. Ainsi, dans le Tableau 6, on peut constater que l'augmentation de risque observée pour les grandes consommatrices, est davantage marquée parmi les femmes avec un IMC supérieur à 25 kg/m² que dans la population entière (RR=1,63 [1,22 – 2,18]). Cette augmentation de risque s'observe uniquement chez les grandes consommatrices de vin, lorsque l'on analyse les types de boissons consommées.

Tableau 6 : Risques relatifs multivariés associées à la consommation d'alcool pur en postménopause selon l'IMC.

IMC en postménopause	< 25 kg/m ²				≥ 25 kg/m ²			
	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P
Alcool (verre/semaine)								
NC	170	1	référence		70	1	référence	
<1	178	0,95	[0,75 - 1,20]	0,20	98	1,37	[0,98 - 1,93]	<0,01
1-3	220	0,88	[0,71 - 1,10]		126	1,52	[1,10 - 2,10]	
3-5	157	1,04	[0,83 - 1,31]		84	1,3	[0,91 - 1,86]	
5-7	142	1,10	[0,85 - 1,41]		63	1,27	[0,87 - 1,86]	
>7	604	1,05	[0,84 - 1,33]		322	1,63	[1,22 - 2,18]	
Bière/cidre								
NC	686	1	référence		747	1	référence	
<1	236	0,99	[0,85 - 1,14]	0,19	221	0,93	[0,74 - 1,18]	0,23
1-3	98	1,13	[0,92 - 1,40]		101	1,11	[0,82 - 1,53]	
3-5	32	1,14	[0,80 - 1,61]		31	1,02	[0,60 - 1,73]	
5-7	19	1,08	[0,66 - 1,75]		11	1,19	[0,58 - 2,42]	
>7	25	1,37	[0,93 - 2,00]		27	1,43	[0,84 - 2,43]	
Vin/Champagne								
NC	302	1	référence		143	1	référence	
<1	226	1,01	[0,83 - 1,21]	0,19	136	1,4	[1,04 - 1,88]	0,49
1-3	290	1,03	[0,86 - 1,23]		140	1,35	[1,02 - 1,80]	
3-5	174	1,21	[0,99 - 1,49]		88	1,16	[0,81 - 1,67]	
5-7	126	1,01	[0,81 - 1,26]		76	1,36	[0,98 - 1,90]	
>7	353	0,93	[0,73 - 1,18]		180	1,44	[1,01 - 2,06]	
Alcools forts (Whisky, Gin, Vodka...)								
NC	802	1	référence		789	1	référence	
<1	200	1,13	[0,98 - 1,30]	0,44	202	1,06	[0,84 - 1,33]	0,08
1-3	90	1,07	[0,90 - 1,26]		85	0,82	[0,62 - 1,07]	
3-5	18	1,13	[0,87 - 1,46]		21	0,91	[0,61 - 1,36]	
5-7	4	0,93	[0,60 - 1,42]		5	0,8	[0,42 - 1,52]	
>7	8	1,04	[0,75 - 1,44]		10	0,68	[0,41 - 1,13]	
Apéritifs (Muscat, Porto, Vermouth...)								
NC		1	référence		298	1	référence	
<1		0,89	[0,79 - 1,02]	0,36	248	1,04	[0,84 - 1,28]	0,83
1-3		0,99	[0,84 - 1,17]		131	1,3	[1,02 - 1,67]	
3-5		0,99	[0,71 - 1,41]		48	1,14	[0,69 - 1,88]	
5-7		1,34	[0,79 - 2,25]		24	1,02	[0,45 - 2,32]	
>7		1,01	[0,56 - 1,77]		14	0,77	[0,34 - 1,77]	

* Modèles ajustés sur l'âge, le statut ménopausique, l'âge à la ménopause, l'IMC, l'activité physique, l'âge des premières règles, le nombre d'enfants, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'utilisation de traitements hormonaux de la ménopause (chez les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels d'exams mammographiques, de mastopathies bénignes, les antécédents familiaux de premier degré de cancer du sein, et l'énergie totale sans alcool. P : test de tendance, en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Discussion

Notre étude a montré que le risque de cancer du sein était associé à la quantité d'alcool pur ingérée dans la population entière, mais l'effet observé s'est avéré être présent en postménopause uniquement, où une consommation d'au moins un verre par jour d'alcool est associée à une augmentation du risque de 22% par rapport aux non-consommatrices. En différenciant le type de boisson ingérée, on a constaté que l'augmentation du risque en postménopause était attribuable majoritairement à la consommation de vin/champagne et dans une moindre mesure à la consommation de bière/cidre. Et parmi les femmes en postménopause, les femmes en surpoids ou obèses (IMC > 25 kg/m²) présentent un risque accru par rapport aux autres catégories d'IMC.

Outre le rapport de la WCRF³³ qui classe l'alcool comme un facteur de risque de cancer du sein « convaincant », la littérature sur le lien entre la consommation d'alcool et le risque de cancer du sein est très riche, et les conclusions vont toutes dans le sens d'une augmentation du risque avec la consommation d'alcool. Chen et al⁷⁶ observe une augmentation de risque de 33% pour les femmes buvant 2 verres ou plus par jour (soit environ 20 g/jr) par rapport aux non-consommatrices. Chaque verre consommé serait, selon la Million Women Study, associé à un sur-risque de 12%^{76,77}. Cette augmentation de risque serait plus prononcée parmi les tumeurs ER+. Nos résultats sont tout à fait cohérents avec ces conclusions : notre résultat fait état d'une augmentation de risque de 4% par verre consommé. De plus on observe une augmentation de risque de 17% pour une consommation d'un verre par jour par rapport aux femmes qui ne boivent pas, et que l'association trouvée dans la population entière ne se retrouve que pour les tumeurs ER+/PR+, avec un risque augmenté de 25% pour les grandes consommatrices par rapport aux non-consommatrices.

Mécanismes biologiques

Des mécanismes faisant intervenir la voie estrogénique ont été avancés pour expliquer ces associations; les études citées précédemment⁷⁶⁻⁷⁸ montrent que la consommation d'alcool est corrélée au taux d'estrogène, que la relation est plus marquée pour les tumeurs ER+, ou parmi les femmes utilisant des THM. Une consommation d'alcool élevé est également associée à une augmentation de la densité

mammaire, que l'on sait fortement associée au risque de cancer du sein. Le fait que notre étude mette en évidence un sur-risque, uniquement parmi les tumeurs ER+/PR+ ou uniquement chez les femmes en surpoids ou obèses en postménopause vient conforter cette hypothèse ; on peut supposer un effet conjoint de l'alcool et des tissus adipeux sur l'augmentation du taux d'estradiol circulant, qui augmenterait ainsi le risque de cancer du sein.

L'autre hypothèse avancée dans la littérature serait que l'alcool agirait comme un cocarcinogène, à savoir soit qu'il augmenterait la perméabilité des membranes cellulaires aux carcinogènes, soit qu'il inhiberait la détoxification des carcinogènes.

Conclusion

Nos résultats vont en faveur d'un effet spécifique à la consommation de bière/cidre en population entière et de vin/champagne en postménopause, ce qui ne rejoint pas les conclusions du rapport du WCRF, qui ne conclut à une absence d'effet différentiel selon le type de boisson consommée³³. Mais on pourrait penser que ces associations avec les bière/cidre et vin/champagne ne sont que des miroirs de l'effet de l'éthanol, étant donné la quantité d'alcool relativement élevée que les grandes consommatrices de la cohorte ingèrent en moyenne.

En conclusion, cette étude est la première à notre connaissance, à modéliser l'association entre la quantité d'alcool pur consommée, les différents types d'alcool et le risque de cancer du sein défini selon le statut ménopausique et en récepteurs hormonaux. Elle a précisé les associations dans des sous-groupes de cancer du sein peu étudiés et a **confirmé l'association positive entre quantité d'alcool ingérée et risque de cancer du sein** existante dans la littérature. Cela renforce la nécessité des politiques de prévention de santé publique recommandant une consommation d'alcool modérée, d'autant plus que, même si la consommation d'alcool en France diminue (cf. Figure 13), les Français demeurent de grands consommateurs. Selon le rapport « Global Status Report on Alcohol » de l'OMS en 2004, en France, les hommes et femmes de plus de 15 ans consomment plus d'alcool que dans d'autres pays (14 L par personne en 2001 en France contre 10 L en Angleterre et 8 L aux Etats-Unis)²³⁸.

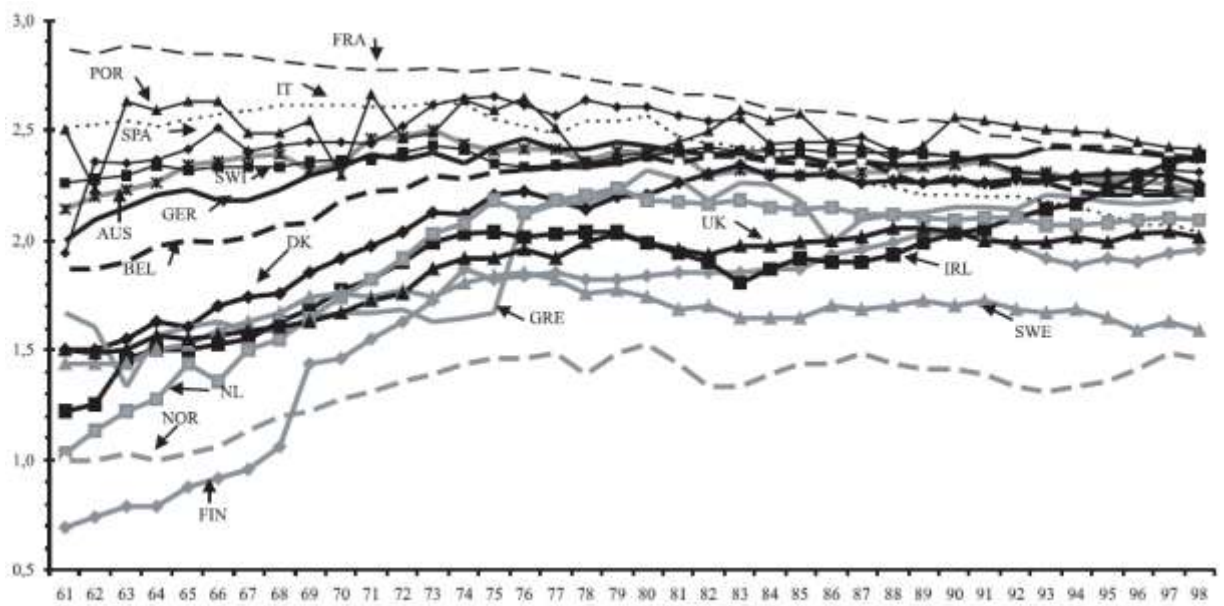


Figure 13 : Evolution de la consommation d'alcool pure (en L) en Europe de 1961 à 1998. Source : World Drink Trends 1999

1.2.5 Lien entre la consommation de viande et risque de cancer du sein

Caractéristiques de la population

Parmi les consommatrices de viande, la consommation médiane, tout type confondu, est de 83,62 g/jr. Parmi les consommatrices, le type de viande le plus consommé est la viande rouge, avec une médiane de 41,77 g/jr puis les viandes blanches avec 35,71 g/jr et enfin les viandes préparées industriellement avec une médiane de 12,81 g/jr.

Risques selon le statut ménopausique de la femme et le type de viande consommée

Dans le Tableau 7, qui répertorie les risques relatifs de cancer du sein selon le statut ménopausique, on constate que la majorité des associations sont non significatives. Seule une consommation élevée de viande rouge en postménopause est associée à une diminution de risque de 12% (RR = 0,88 [0,78 – 1,00]). Une tendance linéaire à la diminution a également été observée (P = 0,05) à travers les catégories de consommation de viande rouge.

Tableau 7 : Risques relatifs de cancer du sein associés à la consommation de viande selon le statut ménopausique (N=67 721)

Type de viande consommée(g/jr)	Préménopause				Postménopause			
	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P
Viande total								
< 62	181	1	(référence)		754	1	(référence)	
[62 - 106[192	0,96	[0,77 - 1,21]	0,60	752	1,02	[0,91 - 1,15]	0,08
>= 106	261	1,15	[0,92 - 1,44]		728	0,95	[0,84 - 1,08]	
Viande rouge								
< 30	219	1	(référence)		848	1	(référence)	
[30 - 55[207	1,02	[0,83 - 1,27]	0,52	716	1,04	[0,93 - 1,17]	0,05
>= 55	208	0,99	[0,80 - 1,23]		670	0,88	[0,78 - 1,00]	
Viande blanche								
< 24	230	1	(référence)		943	1	(référence)	
[24 - 48[177	0,98	[0,98 - 1,48]	0,23	680	1,10	[0,98 - 1,24]	0,43
>= 48	227	1,20	[0,65 - 1,35]		611	1,01	[0,89 - 1,13]	
Viande industrielle								
< 8	194	1	(référence)		837	1	(référence)	
[8 - 18[223	1,11	[0,89 - 1,39]	0,51	707	1,12	[0,99 - 1,25]	0,96
>= 18	217	1,04	[0,83 - 1,31]		690	1,06	[0,93 - 1,20]	

* Modèles ajustés sur l'âge, le statut ménopausique, l'âge à la ménopause, l'IMC, l'activité physique, l'âge des premières règles, le nombre d'enfants, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'utilisation de traitements hormonaux de la ménopause (chez les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels d'exams mammographiques, de mastopathies bénignes, les antécédents familiaux de premier degré de cancer du sein, la consommation d'alcool, et l'énergie totale sans alcool. P : test de tendance, en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Risques selon le statut ménopausique, le statut des récepteurs aux hormones et les types de viandes consommées

Les risques de cancer du sein en pré- et en postménopause et selon le statut en récepteurs hormonaux, sont présentés dans le Tableau 8 en fonction de la consommation de viande. En préménopause, l'ensemble des associations entre la consommation de viande totale, rouge, blanche et préparée industriellement et le risque de cancer du sein n'atteint pas la significativité statistique, quel que soit le statut en récepteurs hormonaux.

En postménopause, on peut remarquer une relation en U inversé entre la consommation de viande totale et le risque de cancer du sein ER+/PR+ puisqu'une

consommation modérée de viande totale est associée à un sur-risque (RR=1,21 [1,03 – 1,41] pour des consommations entre 62 et 106 g/jr par rapport à des consommations inférieures à 62 g/jr). Et lorsque l'on s'intéresse au type de viande consommé, on constate qu'une même association en U inversé est présente pour la viande blanche. En effet, une consommation modérée de viande blanche est à risque augmenté de cancer du sein ER+/PR+ en postménopause (RR=1,24 [1,07 – 1,43]). Quel que soit le type de viande consommée on constate une tendance à la diminution du risque de cancer du sein ER-/PR- pour des consommations élevées. Mais seules les consommations de viande totale et de viande rouge sont significatives (RR=0,73 [0,54 – 0,98] et RR=0,72 [0,54 – 0,97] respectivement pour des consommations de viande totale supérieure à 106 g/jr et de viande rouge supérieure à 55 g/jr par rapport aux consommations les plus faibles). Par conséquent, la diminution de risque observée plus haut pour les cancers du sein en postménopause – indifféremment du statut en récepteurs hormonaux – associée à une consommation élevée de viande rouge, ne se retrouve que chez les cancers du type ER-/PR-. Pour le risque de cancer du sein ER-/PR-, des tendances linéaires à la diminution sont observées pour la viande totale et la viande rouge.

Résultats

Tableau 8 : Risques relatifs de cancer du sein en pré- et en postménopause défini selon le statut en récepteurs hormonaux associés à la quantité et le type de viande consommée (N=67 703).

Type de cancer du sein	ER+/PR+ (N=1320)				ER+/PR- (N=482)				ER-/PR+ (N=100)				ER-/PR- (N=364)			
	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P
Viande totale																
< 62	97	1	(référence)		20	1	(référence)		14	1	(référence)		19	1	(référence)	
[62 - 106[94	0,9	[0,68-1,20]	0,84	24	1,14	[0,62-2,10]	0,72	11	0,76	[0,34-1,72]	0,95	25	1,24	[0,67-2,29]	0,21
≥ 106	112	0,95	[0,71-1,27]		39	1,56	[0,88-2,80]		19	1,19	[0,56-2,51]		42	1,74	[0,97-3,10]	
Viande rouge																
< 30	108	1	(référence)		32	1	(référence)		16	1	(référence)		27	1	(référence)	
[30 - 55[106	1,12	[0,85-1,47]	0,87	20	0,72	[0,41-1,26]	0,88	16	1,03	[0,51-2,10]	0,73	24	1,01	[0,58-1,77]	0,26
≥ 55	89	0,93	[0,69-1,24]		31	0,99	[0,59-1,67]		12	0,78	[0,36-1,70]		35	1,36	[0,80-2,29]	
Viande blanche																
< 24	112	1	(référence)		41	1	(référence)		18	1	(référence)		30	1	(référence)	
[24 - 48[84	0,92	[0,69-1,22]	0,69	32	1,43	[0,82-2,50]	0,29	7	0,54	[0,22-1,30]	0,75	25	1,1	[0,64-1,88]	0,34
≥ 48	107	1,1	[0,84-1,44]		10	1,56	[0,91-2,68]		19	1,36	[0,70-2,66]		31	1,22	[0,73-2,04]	
Viande industrielle																
< 8	96	1	(référence)		24	1	(référence)		12	1	(référence)		26	1	(référence)	
[8 - 18[99	1,06	[0,79-1,40]	0,17	28	1,22	[0,70-2,14]	0,41	18	1,46	[0,69-3,09]	0,28	31	1,09	[0,64-1,86]	0,48
≥ 18	108	1,06	[0,79-1,42]		31	1,14	[0,64-2,03]		14	1,13	[0,49-2,56]		29	0,86	[0,49-1,51]	
Viande totale																
< 62	303	1	(référence)		139	1	(référence)		24	1	(référence)		117	1	(référence)	
[62 - 106[375	1,21	[1,03-1,41]	0,85	135	0,98	[0,77-1,25]	0,13	17	0,72	[0,38-1,39]	0,31	72	0,63	[0,47-0,85]	0,01
≥ 106	339	1,07	[0,91-1,27]		125	0,92	[0,71-1,19]		15	0,64	[0,32-1,29]		89	0,73	[0,54-0,98]	
Viande rouge																
< 30	373	1	(référence)		145	1	(référence)		25	1	(référence)		129	1	(référence)	
[30 - 55[336	1,09	[0,94-1,26]	0,16	147	1,26	[0,99-1,59]	0,17	21	1,06	[0,58-1,94]	0,28	69	0,66	[0,49-0,89]	0,01
≥ 55	308	0,95	[0,81-1,11]		107	0,9	[0,69-1,17]		10	0,49	[0,23-1,07]		80	0,72	[0,54-0,97]	
Viande blanche																
< 24	395	1	(référence)		166	1	(référence)		28	1	(référence)		136	1	(référence)	
[24 - 48[326	1,24	[1,07-1,43]	0,82	121	1,1	[0,86-1,39]	0,1	14	0,83	[0,43-1,60]	0,84	68	0,77	[0,57-1,03]	0,55
≥ 48	296	1,08	[0,92-1,26]		112	1,02	[0,80-1,30]		14	0,81	[0,41-1,58]		74	0,81	[0,60-1,09]	
Viande industrielle																
< 8	359	1	(référence)		140	1	(référence)		22	1	(référence)		111	1	(référence)	
[8 - 18[329	1,12	[0,96-1,31]	0,52	138	1,21	[0,95-1,54]	0,45	20	1,01	[0,54-1,89]	0,41	92	1	[0,75-1,33]	0,07
≥ 18	329	1,14	[0,97-1,33]		121	1,12	[0,86-1,45]		14	0,65	[0,31-1,36]		75	0,79	[0,58-1,09]	

* Modèles ajustés sur l'âge, le statut ménopausique, l'âge à la ménopause, l'IMC, l'activité physique, l'âge des premières règles, le nombre d'enfants, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'utilisation de traitements hormonaux de la ménopause (chez les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels d'exams mammographiques, de mastopathies bénignes, les antécédents familiaux de premier degré de cancer du sein, la consommation d'alcool, et l'énergie totale sans alcool. P : test de tendance, en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Discussion

Dans cette étude qui a modélisé le risque de cancer du sein par sous groupe de statut ménopausique et de statut en récepteurs hormonaux de la tumeur, en fonction

des types de viande (totale, rouge, blanche et préparée industriellement), la majorité des résultats vont dans le sens d'une absence d'association. Aucune association n'a été relevée en préménopause. Seules des quantités modérées de viande totale et de viande blanche ont été associées à des sur-risques de cancer du sein de type ER+/PR+ en postménopause et des quantités élevées de viande totale ou rouge associées à une diminution de risque de cancer du sein ER-/PR- postménopausique. A l'heure actuelle, aucun travail, à notre connaissance, n'a obtenu le même genre de résultats dans ces catégories de cancer du sein et pour ces types de viande.

Une méta-analyse regroupant les résultats de 20 études a conclu à une absence d'association¹¹¹ entre la consommation de viande et le risque de cancer du sein. Nos résultats vont, pour la majeure partie d'entre eux dans ce sens. La relation positive avec les cancers du sein ER+/PR+ en préménopause retrouvée par Cho et al¹¹² pourrait être expliqué par les propriétés estrogéniques¹⁰⁹ de la viande rouge. Toutefois, notre étude ne confirme pas cette hypothèse.

Taylor et al¹¹³ ont conclu dans leur méta-analyse, que la consommation de viande rouge était associée à un sur-risque de cancer du sein en préménopause (RR=1,24 [1,08 – 1,42]). En 2007, une étude menée par le même auteur mais sur la Women's Cohort Study en Angleterre¹¹⁴ a révélé que la viande préparée industriellement serait le plus fortement associée au risque de cancer du sein (RR=1,64 [1,14 – 2,37] en comparant les grandes consommatrices aux non-consommatrices). Globalement, quel que soit le type de viande consommée, et quel que soit le statut ménopausique, il y aurait un effet dose. Aucun de ces résultats n'a été retrouvé dans notre analyse. De plus, il n'a pas été possible de différencier le type de cuisson, mais il semblerait que ce facteur ne soit pas associé au risque de cancer du sein¹¹⁵.

Conclusion

Même si la majorité des associations n'est pas significative, notre étude a permis de faire un bilan des associations par type de viande et par catégories de cancer du sein. **En postménopause, la consommation de viande totale et rouge est associée à une diminution de risque pour les cancers ER-/PR-. Une consommation modérée de viande totale ou blanche est en revanche à risque de cancer du sein ER+/PR+.** Il est primordial d'étudier les différents types de viande séparément, car même si la viande préparée industriellement n'est pas

directement associée au risque de cancer du sein³³, sa consommation fait souvent partie d'un régime alimentaire de mauvaise qualité qui lui pourrait être associé au risque de cancer du sein¹¹⁶.

1.2.6 Lien entre l'apport alimentaire en vitamine D, la prise de complément en vitamine D et le risque de cancer du sein

Caractéristiques de la population

Les femmes ayant des apports alimentaires élevés en vitamine D étaient plus fréquemment en surpoids (IMC > 25 kg/m²), elles étaient plus fréquemment en cours d'utilisation de THM en début de suivi et rapportaient plus souvent un antécédent récent d'examen mammographique (cf. Tableau 9). Les femmes qui résident dans les zones d'exposition solaire les plus fortes sont relativement plus âgées, ont un apport en vitamine D alimentaire plus faible, ont la peau plus fréquemment mate ou noire et ont une activité physique récréationnelle plus soutenue que les femmes vivant dans les zones de faible exposition aux UVB (cf. Tableau 10).

Tableau 9 : Caractéristiques des femmes à l'inclusion selon leurs apports alimentaires en vitamine D (N=67 721, 1 µg = 40 UI).

Caractéristique	Apport en vitamine D (UI/jr)		
	< 80	80 - 113	> 113
N	22573	22574	22574
Age	52,8 (6,8)	52,7 (6,6)	52,9 (6,5)
Age aux premières règles	12,9 (1,4)	12,8 (1,4)	12,7 (1,4)
IMC (kg/m²)	22,5 (3,0)	22,9 (3,2)	23,4 (3,5)
Age à la ménopause	50,6 (3,7)	50,6 (3,7)	50,4 (3,8)
Nombre d'enfants	2,0 (1,2)	2,0 (1,1)	2,0 (1,1)
En postménopause %	54,7 (12354)	54,1 (12218)	57,0 (12877)
Diplôme universitaire %	86,0 (19405)	86,3 (19476)	86,1 (19433)
Antécédents familiaux de cancer du sein %	11,9 (2674)	11,5 (2591)	11,6 (2623)
Antécédents personnels de mastopathies bénigne	3,3 (733)	3,1 (707)	3,3 (738)
Examen mammographique récent %	81,5 (18397)	82,8 (18683)	83,6 (18876)
Prise d'un contraceptif oral %	39,2 (8854)	41,7 (9421)	40,7 (9176)
Utilisation de THM %			
Jamais	45,4 (5608)	41,9 (5122)	40,7 (5241)
En cours	33,8 (4187)	37,9 (4630)	38,5 (4949)
Ancienne utilisatrice	20,6 (2539)	20,0 (2448)	20,5 (2645)
Inconnu	0,2 (20)	0,2 (18)	0,3 (42)
<i>Variables alimentaires</i>			
Consommation d'alcool (g/jr)	9,8 (13,3)	11,2 (13,9)	12,4 (15,1)
Apport moyen en calcium (mg/jr)	1008,3 (317,3)	1016,5 (299,5)	1039,8 (303,7)
Apport moyen en vitamine D (µg/jr)	1,5 (0,4)	2,4 (0,2)	3,9 (1,1)
Apport énergétique sans l'alcool (kcal/jr)	21,4 (5,6)	20,2 (5,4)	21,1 (5,7)
Complément en vitamine D % *	5,4 (1211)	5,1 (1143)	5,4 (1207)
Complément en calcium % *	20,4 (4609)	19,4 (4374)	19,4 (4387)
<i>Variables d'exposition solaire</i>			
Dose UV (kJ/m²/jr)	2,6 (0,3)	2,6 (0,3)	2,5 (0,3)
<2,38	28,6 (6454)	33,3 (7511)	36,4 (8217)
2,38-2,67	32,1 (7237)	33,7 (7612)	32,7 (7384)
>2,67	39,3 (8882)	33,0 (7451)	30,9 (6973)
Latitude du lieu de résidence	46,8 (2,2)	47,0 (2,2)	47,1 (2,2)
Sud	36,2 (8168)	32,4 (7323)	31,7 (7154)
Moyenne	33,6 (7588)	33,3 (7514)	32,5 (7335)
Nord	30,2 (6817)	34,3 (7737)	35,8 (8085)
Résistance aux coups de soleil			
Faible	28,1 (6342)	28,0 (6327)	27,8 (6278)
Moyenne	50,5 (11401)	49,7 (11223)	48,9 (11043)
Elevée	21,4 (4830)	22,3 (5024)	23,3 (5253)
Pigmentation de la peau			
Claire	1,0 (229)	1,1 (239)	1,2 (272)
Moyenne	58,7 (13260)	58,5 (13200)	58,0 (13097)
Mate	38,7 (8734)	39,1 (8833)	39,2 (8845)
Noire	1,6 (350)	1,3 (302)	1,6 (360)
Activité physique récréationnelle (Met-h/ semaine)			
<34	23,1 (5210)	24,1 (5434)	25,1 (5655)
34-46	24,2 (5468)	25,0 (5639)	24,5 (5523)
46-62	26,9 (6077)	26,3 (5942)	25,8 (5815)
>62	25,8 (5818)	24,6 (5559)	24,7 (5581)

* sur l'ensemble du suivi (Jamais/Déjà)

Tableau 10 : Caractéristiques des femmes à l'inclusion selon leur exposition solaire (dose UVB) (N=67 721)

Caractéristique	Dose UVB (kJ/m ² /jr)			
	≤ 2,4	2,4 - 2,5	2,5 - 2,7	> 2,7
N	17189	15946	17926	16660
Age	52,5 (6,7)	52,4 (6,6)	52,8 (6,7)	53,3 (6,6)
Age aux premières règles	12,8 (1,4)	12,8 (1,4)	12,7 (1,4)	12,7 (1,4)
IMC (kg/m²)	22,5 (3,0)	22,9 (3,2)	23,4 (3,5)	23,1 (3,1)
Nombre d'enfants	2,0 (1,2)	2,1 (1,1)	2,0 (1,1)	2,0 (1,1)
Postménopause %	53,2	53,2	55,2	59,5
Age à la ménopause	50,5 (3,5)	51,0 (3,7)	50,6 (3,7)	50,8 (3,8)
Diplôme universitaire %	85,9	86,5	85,8	86,3
Antécédents familiaux de cancer du sein %	11,4	12,1	11,1	12
Antécédents personnels de mastopathies bénigne %	26,4	25,9	26,1	26,4
Examen mammographique récent %	34,2	35	34,8	35,2
Prise d'un contraceptif oral %	41,1	41,9	40,4	38,8
Utilisation de THM %				
Jamais	68,7	67,5	69,2	67,4
En cours	20,7	21,5	19,6	20,1
Ancienne utilisatrice	10,6	11	11,2	12,5
Variables alimentaires				
Alcool (g/jr)	12,3 (1,5)	12,2 (1,4)	10,2 (1,3)	10,9 (1,5)
Apport alimentaire en calcium (mg/jr)	1012,5 (313,2)	1009,5 (297,4)	1020,2 (301,5)	1043,7 (315,1)
Apport alimentaire en vitamine D (UI/jr)	2,7 (1,2)	2,7 (1,2)	2,6 (1,2)	2,5 (1,2)
Apport énergétique sans l'alcool (kcal/jr)	2098,0 (563,9)	2103,1 (558,7)	2097,8 (553,8)	2063,9 (558,9)
Complément en calcium %	18,6	18,4	19,8	22,2
Variables d'exposition solaire				
Dose UVB (kJ/m² /jr)	2,3 (0,1)	2,4 (0,04)	2,6 (0,07)	2,9 (0,1)
Latitude de la zone de résidence	49,3 (0,7)	48,4 (0,4)	46,1 (1,1)	44,0 (0,8)
Résistance au coups de soleil				
Faible	29,2	29,4	27,1	26,4
Moyenne	50,6	50,1	49,8	48,4
Elevée	20,3	20,5	23,2	25,2
Pigmentation de la peau				
Claire	1,3	1,2	1	0,9
Moyenne	61,4	60,9	56,7	54,8
Mate	36,1	36,7	40,8	42,3
Noire	1,2	1,3	1,6	1,9
Activité physique récréationnelle (Met-h/sem)				
<34	26,1	25,5	24,1	20,6
34-46	25,9	24,8	23,8	23,7
46-62	25,8	26,4	26,4	26,8
>62	22,2	23,4	25,7	28,9

Risques dans la population générale et selon le statut ménopausique

De manière générale, il n'y a pas d'association entre les apports de vitamine D et le risque de cancer du sein (cf. Tableau 11), que ce soit dans la population générale (RR=0,94 [0,86 – 1,03] pour la catégorie > 113 UI/jr par rapport à < 80 UI/jr), en préménopause (RR=1,03 [0,85 – 1,25]) ou en postménopause (RR=0,92 [0,83 – 1,02]).

En ce qui concerne la prise de complément alimentaire en vitamine D, on irait dans le sens d'une diminution de risque, sans toutefois atteindre le seuil de significativité de 5%, et ce, quelle que soit la population étudiée (entière ou selon le statut ménopausique). Aucune tendance linéaire n'a été décelée à travers les différentes catégories.

Tableau 11 : Risques relatifs de cancer du sein associés aux catégories d'apports en vitamine D dans la population entière et selon le statut ménopausique (N=67 721). * P de tendance calculées en excluant la catégorie des femmes complémentées en vitamine D.

Vitamine D	Population entière				Préménopause				Postménopause			
	N	RR	IC 95%	P *	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P *
< 80 UI/jr	927	1 (référence)			212	1 (référence)			715	1 (référence)		
80 – 113 UI/jr	947	1,02	[0,93 - 1,11	0,1	199	0,93	[0,76 - 1,12	0,9	748	1,04	[0,94 - 1,16	0,08
> 113 UI/jr	987	0,94	[0,86 - 1,03		203	1,03	[0,85 - 1,25		684	0,92	[0,83 - 1,02	
Complément Vit D	110	0,9	[0,72 - 1,12	-	4	0,68	[0,25 - 1,87	-	106	0,91	[0,73 - 1,14	-

* Modèles ajustés sur l'âge, le statut ménopausique, l'âge à la ménopause, l'IMC, l'activité physique, l'âge des premières règles, le nombre d'enfants, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'utilisation de traitements hormonaux de la ménopause (chez les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels d'examens mammographiques, de mastopathies bénignes, les antécédents familiaux de premier degré de cancer du sein, la consommation d'alcool, l'énergie totale sans alcool, la dose moyenne UVB du lieu de résidence durant la période printemps-été, l'apport en calcium, la prise de complément en vitamine D et en calcium, la résistance aux coups de soleil et la pigmentation de la peau. P : test de tendance, en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Caractéristiques de la population selon les catégories d'exposition solaire

L'exposition solaire étant la source principale d'apport en vitamine D, nous avons testé l'hypothèse d'un effet différentiel d'un apport alimentaire élevé en vitamine D sur le risque de cancer du sein en fonction de la dose moyenne d'UVB en France (cf. Figure 14). Une variable croisant les catégories précédentes de vitamine D avec les quartiles de dose moyenne d'UVB a été construite. Les femmes qui résidaient dans les régions qui recevaient les doses les plus importantes d'UV, étaient en moyenne plus âgées et vivaient plus fréquemment dans le sud (<46°N). Elles consommaient le plus de calcium et buvaient moins d'alcool. La proportion de femmes ménopausées était la plus importante dans cette catégorie d'UV et ces femmes déclaraient également pratiquer davantage d'activité physique et avoir une plus grande résistance aux coups de soleil.

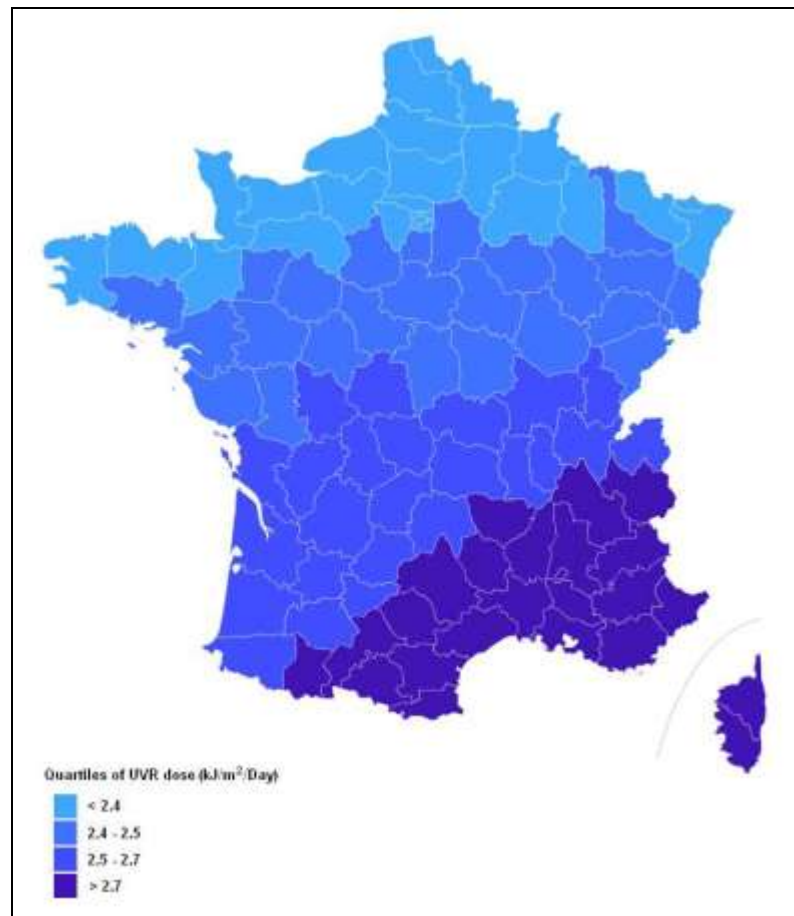


Figure 14 : Gradient de dose moyenne journalière de radiation aux UVB (UVR, kJ/m²/jr) du lieu de résidence des femmes de la cohorte E3N (N=67 721).

Dans la population entière, on observe une tendance à la diminution du risque de cancer du sein, que ce soit pour des apports élevés en vitamine D ou les doses moyennes d'UVB les plus élevées (cf. Tableau 12). Cependant, on constate que par rapport aux femmes ayant de faible exposition d'UVB et de faibles apports en vitamine D, les femmes qui ont conjointement des fortes doses d'UVB et un apport élevé en vitamine D étaient celles qui avaient le risque le plus faible de cancer du sein (RR=0,73 [0,60 – 0,90]). D'autre part, les femmes utilisant des compléments en vitamine D avaient un risque comparable à celles présentant des apports naturellement élevés de vitamine D (RR=0,63 [0,41 – 0,96]).

Risques selon le statut ménopausique et les catégories d'exposition solaire

Une interaction existe entre la dose d'UVB et l'apport alimentaire en vitamine D en postménopause (P = 0,02), mais pas en préménopause (P = 0,40). Lorsque l'on

stratifié selon le statut ménopausique, on retrouve les associations précédentes uniquement en postménopause, où le risque de cancer du sein est diminué pour les femmes résidant dans les régions à fortes expositions et ayant des apports élevés en vitamine D (RR=0,68 [0,54 – 0,85]). La même observation peut être faite pour les femmes complémentées en vitamine D (RR=0,57 [0,36 – 0,90]). Aucune association n'apparaît en préménopause.

Tableau 12 : Risques relatifs de cancer du sein associés aux catégories croisées d'apports en vitamine D et de dose journalière moyenne d'UVB dans la population entière et selon le statut ménopausique (N=67 721).

Dose moyenne d'UVB	Apports en vitamine D (UI/jr)											
	< 80			80 - 113			> 113			Complément		
	N	RR	IC 95%	N	RR	IC 95%	N	RR	IC 95%	N	RR	IC 95%
Population entière												
< 2,4	230	1 (référence)		248	0,91	[0,76 - 1,09]	248	0,86	[0,72 - 1,03]	30	0,88	[0,60 - 1,29]
2,4-2,5	203	0,89	[0,73 - 1,07]	244	0,99	[0,82 - 1,18]	238	0,92	[0,76 - 1,10]	22	0,72	[0,47 - 1,12]
2,5-2,7	243	0,85	[0,71 - 1,02]	236	0,88	[0,73 - 1,05]	232	0,89	[0,74 - 1,07]	35	1	[0,70 - 1,43]
>2,7	251	0,88	[0,74 - 1,05]	219	0,91	[0,75 - 1,09]	169	0,73	[0,60 - 0,90]	23	0,63	[0,41 - 0,96]
Préménopause												
< 2,4	48	1 (référence)		62	1,08	[0,74 - 1,57]	57	1,05	[0,72 - 1,55]	1	0,63	[0,09 - 4,54]
2,4-2,5	54	1,19	[0,81 - 1,75]	51	0,99	[0,67 - 1,47]	56	1,15	[0,78 - 1,69]	1	0,68	[0,09 - 4,96]
2,5-2,7	60	1,03	[0,70 - 1,51]	56	1,03	[0,70 - 1,52]	53	1,13	[0,76 - 1,66]	0	-	-
>2,7	50	0,95	[0,64 - 1,41]	30	0,71	[0,45 - 1,12]	37	0,97	[0,63 - 1,49]	2	1,57	[0,38 - 6,44]
Postménopause												
< 2,4	182	1 (référence)		186	0,86	[0,70 - 1,06]	191	0,81	[0,66 - 0,99]	29	0,87	[0,59 - 1,28]
2,4-2,5	149	0,81	[0,65 - 1,02]	193	0,98	[0,80 - 1,20]	182	0,86	[0,70 - 1,05]	21	0,7	[0,45 - 1,10]
2,5-2,7	183	0,8	[0,65 - 1,04]	180	0,83	[0,68 - 1,02]	179	0,83	[0,68 - 1,02]	35	1,01	[0,71 - 1,46]
>2,7	201	0,86	[0,70 - 1,05]	189	0,94	[0,77 - 1,15]	132	0,68	[0,54 - 0,85]	21	0,57	[0,36 - 0,90]

* Modèles ajustés sur l'âge, le statut ménopausique, l'âge à la ménopause, l'IMC, l'activité physique, l'âge des premières règles, le nombre d'enfants, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'utilisation de traitements hormonaux de la ménopause (chez les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels d'exams mammographiques, de mastopathies bénignes, les antécédents familiaux de premier degré de cancer du sein, la consommation d'alcool, l'énergie totale sans alcool, l'apport en calcium, la prise de complément en vitamine D et en calcium, la résistance aux coups de soleil et la pigmentation de la peau. P : test de tendance, en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Discussion

Dans l'analyse de la vitamine D alimentaire, il est apparu qu'un apport élevé en vitamine D d'origine alimentaire ou sous forme de compléments, n'était pas associé au risque de cancer du sein, quel que soit le statut ménopausique. Cependant, chez les femmes de l'étude qui vivaient dans les régions d'habitation les plus exposées au soleil (aux doses UVB les plus hautes), nous avons observé une diminution significative du

risque de cancer du sein associée aux apports alimentaires de vitamine D les plus élevés et à la prise de complément en vitamine D. Ce résultat suggère l'existence d'un seuil d'apports en vitamine D provenant à la fois de l'alimentation, des compléments et de l'exposition solaire qui réduirait le risque de cancer du sein. Cependant, il est possible que ce seuil varie d'un individu à l'autre et soit influencé par la capacité de chacun à métaboliser la vitamine D issue des deux sources.

Cette diminution de risque a été retrouvée chez les femmes ménopausées uniquement. Or la probabilité d'être carencé en vitamine D augmente avec l'âge : l'absorption intestinale diminue²³⁹, la production de 1,25(OH)2D au niveau rénal également et la synthèse cutanée de la vitamine D est moindre.(elle est diminuée de moitié à 70 ans¹²⁵. De plus, la chute des taux d'estrogènes circulant observée à la ménopause semble également réduire l'activité de la vitamine D¹³³. Pour ces différentes raisons, chez ces femmes le plus souvent carencé en vitamine D, l'effet d'une plus grande quantité de vitamine D sur le risque de cancer du sein pourrait être plus facilement identifié. Néanmoins, on ne peut pas exclure que l'absence d'association observée en préménopause résulte d'un manque de puissance statistique liée à un plus faible nombre de cas mais, aussi à d'autres facteurs confondants que nous n'avons pas pu évaluer.

Dans la littérature, certaines études suggèrent qu'une augmentation des apports en vitamine D^{139, 142, 146, 240} pourrait diminuer le risque de cancer du sein et à l'inverse d'autres ne montrent aucune association^{134, 143}. Nos résultats sont en accord avec ces dernières.

Historiquement, les premières études qui ont suggéré un lien entre vitamine D et incidence ou mortalité du cancer du sein étaient écologiques^{127, 241, 242} et émettaient déjà l'hypothèse d'un effet lié à l'exposition solaire. Puis les résultats de la première étude NHANES¹⁴⁴ publiés en 1999 ont également suggéré une diminution plus marquée du risque de cancer de sein avec la consommation alimentaire de vitamine D, dans les régions avec l'exposition solaire la plus conséquente. Parmi les autre études^{146, 243} examinant conjointement l'exposition solaire dans la zone de résidence et les apports alimentaires de vitamine D sur l'incidence du cancer du sein, une étude américaine a montré des résultats similaires chez les femmes ménopausées, mais, a contrario, la diminution de risque était observée uniquement dans les régions avec les index UV les plus faibles (p d'interaction entre consommation alimentaire de vitamine

D et UV index =0.05). Néanmoins, il est difficile de comparer notre population à cette population Nord-Américaine, en raison de la disparité des latitudes et des apports alimentaires observés, puisque l'alimentation y est très souvent fortifiée.

Le manque d'association avec la vitamine D seule pourrait s'expliquer également par la faible variabilité des niveaux de vitamine D alimentaire dans notre population. D'autre part, tout comme les études précédentes, l'étude de l'effet des apports en vitamine D souffre de quelques limites, inhérentes aux études alimentaires dans la cohorte E3N, qui sont discutées dans le paragraphe 1.4 (page 132).

Conclusion

En conclusion, notre étude renforce l'hypothèse selon laquelle l'alimentation seule ne peut contribuer suffisamment au statut vitaminiq ue individuel nécessaire pour observer une relation entre apports totaux en vitamine D et risque de cancer du sein.

Ce serait bien un effet conjoint des apports alimentaires et d'une exposition solaire adéquate qui serait bénéfique dans la cancérogénèse mammaire.

1.2.7 Lien entre le taux de vitamine D sérique et le risque de cancer du sein

Caractéristiques de la population

Les caractéristiques de la population sont présentées dans le Tableau 13. Une consommation plus importante d'alcool est observée parmi les cas, par rapport aux témoins. Les cas présentaient davantage d'antécédents personnels de maladie bénignes du sein et familiaux de cancer du sein, Parmi les cas, on observait des concentrations moyennes plus élevées en estradiol et en progesterone chez les femmes pré- (399,3 pmol/L et 10,1 nmol/L respectivement) et postménopausées (125,6 pmol/L et 4,0 nmol/L) par rapport à leur témoin correspondant (349,2 pmol/L et 9,0 nmol/L en préménopause et 105,8 pmol/L et 3,2 nmol/L chez les femmes ménopausées).

La concentration sérique moyenne de 25(OH) vitamine D3 était plus faible chez les cas que chez les témoins (24,4 ng/mL et 25,1 ng/mL respectivement). En revanche, la concentration moyenne en calcium était similaire. Sur l'ensemble de la population, 75% des femmes dosées avaient des concentrations en 25(OH)D inférieures à 30 ng/mL et 37,5% des taux inférieurs à 20 ng/ml. La corrélation entre le taux sérique de vitamine D et l'apport alimentaire était très faible ($\rho = 0,07$). Il en est de même pour le calcium ($\rho = 0,03$).

Tableau 13 : Caractéristiques des femmes de l'étude selon leur statut cas/témoin (N=1 908)

Caractéristiques	Cas	Témoins
	(N=636)	(N=1272)
	Moyenne (Ecart-type)	
Age	56,9 (6,4)	56,9 (6,4)
Age aux premières règles	12,7 (1,3)	12,9 (1,4)
IMC	23,8 (3,6)	23,8 (3,8)
Age à la ménopause	50,7 (3,7)	50,7 (3,6)
Nombre d'enfants	1,9 (1,2)	2,1 (1,2)
Activité physique récréationnelle (Met-h /semaine)	51,0 (31,0)	50,3 (22,6)
Consommation d'alcool (g/jr)	12,0 (15,0)	10,9 (13,8)
Concentration sérique de 25(OH) vitamine D3 (ng/mL)	24,4 (10,9)	25,1 (11,0)
Concentration sérique de calcium (mmol/L)	2,29 (0,1)	2,29 (0,1)
Concentration sérique de PTH (pg/mL)	26,7 (11,2)	27,2 (19,1)
Concentration sérique d'estradiol (pmol/L)	250,8 (296,5)	231,7 (292,9)
Concentration sérique de progestérone (nmol/L)	5,1 (11,6)	4,1 (9,5)
Apport alimentaire en calcium (mg/jr)	1017,5 (273,0)	1044,7 (289,9)
Apport alimentaire en vitamine D (µg/jr)	2,4 (1,2)	2,4 (1,2)
Apport énergétique hors alcool (kcal/jr)	21,2 (5,7)	20,7 (5,6)
Exposition moyenne d'UVB (kJ/m ² /jr)	1,5 (0,2)	1,5 (0,2)
	Effectif (%)	
En postménopause	489 (77,2)	990 (77,2)
Antécédents familiaux de cancer du sein		
Non	504 (79,3)	1104 (86,8)
Oui	132 (20,7)	168 (13,2)
Antécédents personnels de mastopathie bénigne		
Non	243 (38,2)	407 (32,0)
Oui	393 (61,8)	865 (68,0)
Antécédents d'examen mammographique		
Non	16 (2,5)	51 (4,0)
Oui	620 (97,5)	1221 (96,0)
Utilisation de contraceptifs oraux		
Jamais	383 (60,2)	761 (59,8)
Déjà	253 (39,8)	511 (40,2)
Utilisation de THM au cours de la vie	354 (72,4)	687 (69,5)
Saison au moment du prélèvement sanguin		
Printemps	160 (25,2)	279 (21,9)
Été	112 (17,6)	250 (19,6)
Automne	188 (29,6)	370 (29,1)
Hiver	176 (27,7)	373 (29,3)
Utilisation de complément en calcium		
Non	589 (92,6)	1183 (93,0)
Oui	47 (7,4)	89 (7,0)
Utilisation de complément en vitamine D		
Non	602 (94,6)	1210 (95,1)
Oui	34 (4,4)	62 (4,9)

Risques dans la population entière

Dans la population entière, on constate une diminution significative du risque de cancer du sein avec l'augmentation des concentrations de 25(OH)D sériques dans les modèles de régressions logistiques multivariées ajustés sur les facteurs alimentaires et sur les concentrations sériques de PTH, de calcium, d'estradiol et de progestérone (cf. Tableau 14) (P de tendance = 0,02). Lorsque l'on compare les femmes avec les concentrations les plus élevées (> 27 ng/ml)) aux femmes avec les concentrations les plus faibles (<19,8 ng/mL), on observe une diminution de risque de cancer du sein de 27 % (OR=0,73 [0,55 – 0,96]). De plus, une tendance linéaire à la diminution (p=0,02) est détectée dans le modèle le plus complet.

Tableau 14 : Odds-Ratios associés au risque de cancer du sein selon le taux sériques de vitamine 25(OH)D3 dans l'étude cas-témoins (N=1 908).

Tertiles de 25(OH) vitamine D3 (ng/mL)	Cas/Témoins	OR* [IC 95%]	OR ⁺ [IC 95%]	OR [‡] [IC 95%]	OR [§] [IC 95%]
Population entière	636/1272				
<19,8	226/404	1 (référence)	1 (référence)	1 (référence)	1 (référence)
19,8 – 27	198/402	0,87 [0,68 - 1,10]	0,84 [0,66 - 1,08]	0,84 [0,66 - 1,08]	0,81 [0,63 - 1,04]
>27	191/412	0,80 [0,62 - 1,03]	0,80 [0,62 - 1,04]	0,81 [0,62 - 1,06]	0,73 [0,55 - 0,96]
Données manquantes	21/54	0,66 [0,38 - 1,15]	0,63 [0,36 - 1,12]	0,63 [0,36 - 1,12]	0,70 [0,25 - 1,95]
P tendance*		0,09	0,1	0,12	0,02

* Les modèles de régression logistique multivariés ont été ajustés, dans un premier temps, sur les variables suivantes : l'âge, le statut ménopausique au moment du prélèvement sanguin, l'âge à la ménopause, le centre de prélèvement et la date du prélèvement.

+ L'ajustement sur les variables suivantes a été ajouté au précédent : l'IMC, l'activité physique, l'âge des premières règles, le nombre d'enfants, le statut tabagique, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'utilisation de traitements hormonaux de la ménopause (chez les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels d'exams mammographiques, de mastopathies bénignes, les antécédents familiaux de premier degré de cancer du sein.

‡ Idem avec un ajustement supplémentaire sur la consommation d'alcool, l'énergie totale sans alcool, les apports alimentaires en calcium et vitamine D et la prise de compléments en calcium en vitamine D.

§ Et enfin, en ajoutant les variables de concentrations sériques en calcium, PTH, estradiol et progestérone.

* P tendance : test de tendance en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue

Risques selon le statut ménopausique

L'hypothèse d'un effet différentiel des concentrations en vitamine 25(OH)D3 sur le risque de cancer du sein en fonction du statut ménopausique à la date du diagnostic a été testée, même si l'interaction n'était pas statistiquement significative (P=0,59). Ces résultats sont indiqués dans le Tableau 15. Bien qu'il n'y ait pas d'association significative, la diminution de risque de cancer du sein semble plus marquée chez les femmes avec les concentrations les plus élevées en 25(OH)D3,

préménopausées au diagnostic du cancer en comparaison des femmes avec les concentrations les plus faibles (OR = 0,37 [0,12 - 1,15]).

Tableau 15 : Odds-Ratios multivariés associés aux tertiles de concentrations sériques de 25(OH) vitamine D3 en fonction du statut ménopausique à la date de prélèvement et à la date de diagnostic

Tertiles de 25(OH) vitamine D3 (ng/mL)	Cas/Témoins	OR* [IC 95%]	OR ⁺ [IC 95%]	OR [‡] [IC 95%]	OR [§] [IC 95%]
Femmes en préménopause au prélèvement sanguin et au moment du diagnostic du cancer du sein					
<19,8	20/25	1	1	1	1
19,8 – 27	20/31	0,69 [0,30 – 1,62]	0,55 [0,21 – 1,42]	0,42 [0,15 – 1,18]	0,43 [0,14 – 1,25]
>27	14/34	0,41 [0,16 – 1,08]	0,37 [0,14 – 1,04]	0,35 [0,12 – 1,03]	0,37 [0,12 – 1,15]
P tendance *		0,07	0,06	0,07	0,11
Femmes en préménopause au prélèvement sanguin et en ménopausées au moment du diagnostic					
<19,8	40/61	1	1	1	1
19,8 – 27	22/65	0,52 [0,27 – 0,99]	0,54 [0,27 – 1,05]	0,50 [0,25 – 0,99]	0,50 [0,25 – 1,02]
>27	27/54	0,79 [0,41 – 1,50]	0,76 [0,39 – 1,50]	0,76 [0,38 – 1,52]	0,72 [0,35 – 1,45]
P tendance *		0,8	0,5	0,5	0,4
Femmes ménopausées au prélèvement sanguin et au moment du diagnostic ‡					
<19,8	166/318	1	1	1	1
19,8 – 27	156/306	0,97 [0,74 – 1,28]	0,96 [0,73 – 1,26]	0,96 [0,72 – 1,27]	0,91 [0,69 – 1,21]
>27	150/324	0,88 [0,67 – 1,16]	0,87 [0,66 – 1,15]	0,87 [0,66 – 1,16]	0,80 [0,60 – 1,07]
P tendance *		0,3	0,3	0,3	0,12

* Les modèles de régression logistique multivariés ont été ajustés, dans un premier temps, sur les variables suivantes : l'âge, le statut ménopausique au moment du prélèvement sanguin, l'âge à la ménopause, le centre de prélèvement et la date du prélèvement.

+ L'ajustement sur les variables suivantes a été ajouté au précédent : l'IMC, l'activité physique, l'âge des premières règles, le nombre d'enfants, le statut tabagique, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'utilisation de traitements hormonaux de la ménopause (chez les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels d'examen mammographiques, de mastopathies bénignes, les antécédents familiaux de premier degré de cancer du sein.

‡ Idem avec un ajustement supplémentaire sur la consommation d'alcool, l'énergie totale sans alcool, les apports alimentaires en calcium et vitamine D et la prise de compléments en calcium en vitamine D.

§ Et enfin, en ajoutant les variables de concentrations sériques en calcium, PTH, estradiol et progestérone.

* P tendance : test de tendance en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue

Discussion

Les études qui examinent spécifiquement la concentration sérique de 25(OH) vitamine D revêtent une importance particulière car la mesure de cette concentration est un bien meilleur indicateur du statut vitaminique d'un individu que l'apport alimentaire seul. De ce fait, elle est moins assujettie à un biais de classification que l'on pourrait retrouver dans les études sur la vitamine D alimentaire seule. De plus dans cette étude, aucune corrélation entre vitamine D alimentaire et taux sérique de 25(OH) vitamine D3 n'a été trouvée, soulignant l'importance de la contribution provenant de l'exposition solaire dans la concentration vitaminique.

Cette enquête cas-témoin nichée dans la cohorte E3N, nous a permis de montrer une diminution significative du risque de cancer du sein liée à l'augmentation des concentrations de 25(OH) vitamine D3. Néanmoins, si la relation inverse entre augmentation des concentrations sériques de vitamine D et diminution du risque de cancer du sein semblait être plus prononcée en préménopause, nos résultats ne permettent pas de conclure à l'influence du statut ménopausique. Nos résultats sont cependant renforcés après ajustement sur les concentrations en PTH, estradiol et progestérone, ce qui suggérerait une influence du milieu hormonal sur l'activité de la 25(OH) vitamine D3.

Deux méta-analyses ont examiné l'association entre les concentrations sériques en vitamine D et le risque de cancer du sein^{148, 244}. La première²⁴⁴ a notamment « poolé » les résultats de deux études : une issue de la Nurses' Health Study²⁴⁵ et une étude cas-témoins anglaise²⁴⁶. Selon cette méta-analyse, les femmes avec des concentrations sériques de plus de 52 ng/mL de 25(OH)D avaient un risque de cancer du sein diminué de près de 50% par rapport aux femmes avec des taux inférieurs à 13 ng/mL. Cette diminution de risque est compatible avec la diminution de risque de 27% que l'on observe en comparant les femmes avec des concentrations supérieures à 27 ng/mL aux femmes de concentrations faibles inférieures à 19,8 ng/mL.

La seconde méta-analyse¹⁴⁸, plus récente, qui a étudié l'association entre concentrations de 25(OH)D et risque de cancer du sein, a également mis en évidence une diminution significative du risque pour les femmes du quartile de concentrations les plus élevées par rapport au quartile de concentrations les plus faibles (OR=0,58 [0,50-0,66]). Soulignons toutefois des disparités de concentrations, avec des bornes supérieures des quintiles de ces études variant entre 27 ng/mL²⁴⁰ et 60 ng/mL²⁴⁶ et entre 13 ng/mL et 20 ng/mL pour les bornes inférieures. Ces disparités sont probablement dues à l'hétérogénéité des populations examinées - âge, latitude, exposition solaire - mais aussi à des différences dans la fortification et la complémentation des populations.

Mécanismes biologiques

Un effet plus marqué de concentrations élevées en 25(OH)D sur le risque de cancer du sein chez les femmes jeunes ou préménopausées pourrait s'expliquer par

l'interaction observée entre calcium, vitamine D et niveaux d'IGF, suggérée par une étude *in vitro*²⁴⁷ : le calcium et la vitamine D exerceraient un effet anticancérigène sur les cellules du sein qui sécrètent de grandes quantités d'IGF-1 et d'IGFBP3 (une protéine qui se lie à l'IGF). On rapporte que les femmes dont les apports en vitamine D et en calcium sont élevés ont une plus faible densité mammaire que celles dont les apports sont faibles, en particulier en préménopause²⁴⁸.

De récents travaux¹³⁶ ont montré par ailleurs que des concentrations élevées en 25(OH)D pouvaient réduire, chez les femmes jeunes, les concentrations sériques d'estradiol, facteurs de risque de cancer du sein. Ce mécanisme pourrait expliquer l'effet plus prononcé de la vitamine D chez les femmes préménopausées.

Enfin, il est important de souligner que nous ne disposons que d'un dosage unique de la vitamine D, effectuée en moyenne 4 ans avant le diagnostic du cancer de sein chez les cas. Etant donné que le statut vitaminique individuel reflète généralement l'exposition (solaire et alimentaire) du mois, voire des deux mois précédents, il n'est pas à exclure que ce statut ait pu varier durant le suivi. Plusieurs mesures répétées au cours du suivi permettraient de préciser la relation et devraient être envisagées dans des études ultérieures.

Toutefois il s'agit, à notre connaissance, de la première étude cas-témoins nichée dans une grande cohorte de femmes françaises, à analyser la relation entre concentrations sériques de 25(OH)D3 et risque de cancer du sein, en fonction du statut ménopausique, et en ajustant sur de nombreux facteurs à la date du recueil (dont l'exposition solaire), des apports en calcium et en vitamine D alimentaires et sous forme de compléments, et des concentrations de métabolites fortement corrélés avec la vitamine D dont la PTH, l'estradiol et la progestérone^{136, 249}.

Cette étude, en complément de l'étude alimentaire dans la cohorte entière, **soutient l'hypothèse d'un rôle bénéfique de la vitamine D dans la cancérogénèse mammaire.** Elle montre également **qu'une majeure partie des populations étudiées ici n'atteint pas les niveaux recommandés en vitamine D par les autorités.**

1.3 Facteurs alimentaires et risque de diabète de type II

Après avoir passé en revue l'ensemble des associations entre facteurs alimentaires et risque de cancer du sein, nous allons développer dans cette section l'ensemble des résultats alimentaires liés au risque de diabète de type II.

1.3.1 Population et modélisation

Population d'étude du lien entre les variables alimentaires et le risque de diabète

A partir des femmes qui ont répondu au questionnaire alimentaire Q3 (N=74 524), nous avons exclu les femmes qui n'avaient pas répondu à un questionnaire après Q3 (N=1 339), les cas prévalents de diabète (N=924), les cas non-validés (N=1 349) et les femmes ayant des données énergétiques incohérentes - premier et dernier percentiles de la distribution du ratio énergie ingérée/énergie requise (N=1 380). Au final, 69 532 femmes ont été retenues dans les analyses. Parmi elles, 1 415 cas de diabète validés ont été recensés.

Modélisation du risque de diabète de type II

Des modèles de Cox ont été mis en œuvre pour estimer les risques relatifs et les intervalles de confiance à 95%. Les modèles multivariés ont été ajustés sur les antécédents familiaux de diabète, l'activité physique (Met-h/semaine), la consommation d'alcool, l'apport en lipides, l'apport énergétique hors alcool et lipides, le niveau d'études, le taux de cholestérol total et la prise de traitement hypolipidémiant, l'hypertension, le statut tabagique et la prise de pilule. Ces variables ont été mesurées à l'inclusion alors que l'IMC, le statut ménopausique et la prise de THM sont dépendants du temps et ont été mis à jour au cours du suivi.

Un ajustement supplémentaire a été fait pour l'étude de la vitamine D sur la dose moyenne UVB du lieu de résidence durant la période printemps-été, l'apport en calcium, la prise de complément en vitamine D et en calcium, la résistance aux coups de soleil (faible, moyenne, haute) et la pigmentation de la peau (très claire, claire, moyenne, mate, noire).

1.3.2 Lien entre consommation de café/thé/caféine et risque de diabète de type II

Caractéristiques de la population

Le café et le thé ont été consommés par 59 222 (85%) et 41 335 (59%) femmes respectivement. Parmi les consommatrices uniquement, la médiane de consommation était de 280 mL/jr pour le café et 214 mL/jr pour le thé. Dans le Tableau 16, on constate que la consommation de café était associée positivement à l'IMC, au statut tabagique, aux apports énergétiques et aux apports en caféine. Les consommatrices de thé étaient plus jeunes et plus maigres. La proportion d'hypertension était plus faible parmi les grandes consommatrices de thé.

Tableau 16 : Caractéristiques de la population à l'inclusion selon la consommation de café et de thé

	Nombre de tasses par jour							
	Café				Thé			
	0	≤ 1	1 à 3	≥ 3	0	≤ 1	1 à 3	≥ 3
N	10 345	12 260	26 966	19 691	28 242	15 623	12 388	13 279
Nombre de tasses, médiane	0	0,5	1,9	4,3	0	0,3	2	5,4
Café (mL/jr), médiane	0 (0 ; 0)	70 (35 ; 90)	240 (175 ; 300)	538 (447 ; 694)	300 (150 ;	270 (121 ;	154 (50 ; 330)	95 (0 ; 224)
Thé (mL/jr), médiane	270 (0 ;	127 (0 ; 400)	21 (0 ; 257)	0 (0 ; 77)	0 (0 ; 0)	33 (15 ; 63)	250 (182 ; 300)	586 (443 ; 800)
Age	53 (6)	54 (7)	53 (7)	52 (6)	53 (6)	53 (6)	53 (6)	52 (6)
IMC (kg/m²)	22,4 (3)	22,7 (3)	22,9 (3)	23,2 (3)	23,1 (3)	22,9 (3)	22,7 (3)	22,5 (3)
Surpoids, %	15,4	18	20,3	22,7	22,3	20,4	18	15,8
Activité physique (MET-h/semaine)	39,6 (27)	40,2 (27)	40,0 (27)	39,8 (27)	39,2 (28)	40,6 (28)	39,9 (27)	40,6 (27)
Fumeuses, %	6,6	9,8	13,2	19,7	14,2	12,7	12,2	14,2
Antécédents familiaux de diabète, %								
Chez un parent	9,2	9	9,5	9,9	9,6	9,7	9,6	8,8
Chez les deux parents	0,7	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5
Hypertension, %	12,5	14,1	13,5	12,4	13,8	13,4	13	11,5
Hypercholestérolémie, %	28,8	31	31	27,1	29,8	29,7	30,2	28,1
Diplômée, %	15,7	19,1	17,8	17,5	13,9	18,1	18,9	23,7
Utilisation de THM, %	30,7	33,7	32,6	29,1	30,1	31,9	32,6	33
Apport énergétique sans l'alcool (kcal/jr)	2067 (569)	2075 (551)	2076 (542)	2134 (573)	2 068 (564)	2 142 (557)	2 093 (546)	2 077 (552)
Consommation d'alcool (g/jr), médiane	3 (0,1 ; 10)	6 (1 ; 14)	7 (2 ; 17)	7 (2 ; 18)	6 (1,1 ; 17)	6 (1,8 ; 15)	6 (1,5 ; 15)	6 (1,4 ; 15)
Caféine (mg/jr), médiane	43 (18 ; 72)	72 (50 ; 98)	167 (131 ; 201)	332 (275 ; 424)	184 (98 ; 291)	174 (92 ; 267)	171 (67 ; 128)	141 (90 ; 216)

† Médiane (P25 ; P75)

‡ Moyenne (Ecart-type)

Risques dans la population entière et selon le repas où le café est consommé

Une consommation élevée de café est associée à une diminution du risque de diabète de type II dans la population entière (RR=0,73 [0,61 - 0,87]). Dans les mêmes proportions, un apport élevé en caféine est associé à une diminution de risque de 33% (RR=0,67 [0,58 - 0,78]). Une tendance linéaire à la diminution de risque est observée à la fois pour la consommation de café et les apports en caféine (P < 0,001). En revanche, le thé n'est pas lié au risque de diabète de type II, quelle que soit la quantité consommée.

Tableau 17 : Risques relatifs de diabète de type II selon les catégories de consommation de café/thé/caféine (N=69 532).

Consommation (tasses/jr)	Apport médian (mL/jr)	N	RR	IC 95%	P _{tendance}
Café *					
NC	0	198	1	(référence)	< 0,001
≤ 1	63	279	1,04	0,87 - 1,26	
1 à 3	241	559	0,86	0,73 - 1,02	
≥ 3	613	379	0,73	0,61 - 0,87	
Thé					
NC	0	643	1	(référence)	0,46
≤ 1	44	324	0,99	0,87 - 1,14	
1 à 3	245	245	1,02	0,88 - 1,19	
≥ 3	680	203	0,89	0,76 - 1,05	
Caféine (mg/jr)					
< 88	48	393	1	(référence)	< 0,001
88 - 163	126	355	0,84	0,72 - 0,96	
164 - 262	209	344	0,77	0,66 - 0,89	
> 262	397	323	0,67	0,58 - 0,78	

* Les modèles multivariés ont été ajustés sur les antécédents familiaux de diabète, l'activité physique (MET-h/semaine), la consommation d'alcool, l'hypercholestérolémie et la prise de traitement hypolipidémiant, l'hypertension, le statut tabagique, l'apport en fibres et en acides gras, l'apport énergétique sans l'alcool, le statut ménopausique, l'utilisation de THM, la prise de pilule au cours de la vie, l'IMC. P tendance : test de tendance en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Les analyses sur le café ont été stratifiées selon le moment de la journée où le café est consommé. Les risques par repas vont tous dans le même sens que dans la population entière, seule la largeur des intervalles de confiance augmentent du fait de

la perte de puissance dans les différentes catégories. Cependant, parmi les 6 repas où sont consommés du café dans le questionnaire alimentaire, le repas de midi est le seul où persiste l'association statistique. A cet instant de la journée, le risque associé à la consommation de plus d'une tasse de café est diminué de 34% (RR=0,66 [0,57 – 0,76]) par rapport aux femmes non-consommatrices. Les associations aux autres repas ne sont pas significatives et les risques relatifs sont très proches de l'unité.

Tableau 18 : Risques relatifs de diabète de type II selon les catégories de consommation de café à différents moments de la journée (N=69 532).

Consommation de café (tasses/jr)		Apport médian (mL/jr)	N	RR	IC 95%	P _{tendance}
Petit-déjeuner						
	NC	0	543	1	(référence)	
	≤ 1	66	221	0,96	[0,85 - 1,17]	0,47
	> 1	280	651	1,04	[0,92 - 1,17]	
Matin						
	NC	0	945	1	(référence)	
	≤ 1	43	340	0,98	[0,85 - 1,12]	0,93
	> 1	150	130	0,97	[0,79 - 1,19]	
Midi						
	NC	0	493	1	(référence)	
	≤ 1	70	558	0,84	[0,74 - 0,95]	< 0,001
	> 1	150	364	0,66	[0,57 - 0,76]	
Après-midi						
	NC	0	1067	1	(référence)	
	≤ 1	29	272	0,96	[0,84 - 1,11]	0,64
	> 1	171	76	0,89	[0,69 - 1,15]	
Dîner						
	NC	0	1246	1	(référence)	
	≤ 1	15	129	0,84	[0,69 - 1,02]	0,12
	> 1	150	40	0,81	[0,58 - 1,12]	
Soir						
	NC	0	1338	1	(référence)	
	≤ 1	10	63	0,98	[0,75 - 1,26]	0,81
	> 1	179	14	1,18	[0,69 - 2,03]	

* Les modèles multivariés ont été ajustés sur les antécédents familiaux de diabète, l'activité physique (MET-h/semaine), la consommation d'alcool, l'hypercholestérolémie et la prise de traitement hypolipidémiant, l'hypertension, le statut tabagique, l'apport en fibres et en acides gras, l'apport énergétique sans l'alcool, le statut ménopausique, l'utilisation de THM, la prise de pilule au cours de la vie, l'IMC. * P tendance : test de tendance en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Que ce soit par repas ou dans la population entière, des analyses de sensibilité ont été menées en ajustant sur les apports en magnésium, les antécédents de maladies cardiovasculaires ou cancers, ou en excluant les femmes avec des maladies cardiovasculaires ou des cancers à l'inclusion. L'ensemble de ces analyses a donné des résultats similaires. Aucune interaction n'a été décelée. Le type de café – normal ou décaféiné – n'a pas d'influence sur le risque, pas plus que l'ajout de sucre ou de lait dans le café/thé.

Discussion

On a montré ici une association inverse entre la consommation de café ou de caféine et le risque de diabète de type II. En analysant les relations par repas, il semble que la diminution de risque soit limitée à la consommation lors du repas de midi. Aucune association n'a été remarquée pour la consommation de thé. Le type de café n'influe pas sur le risque de diabète, puisque les cafés normal et régulier sont tous deux associés à une diminution de risque dans les mêmes proportions.

Ces résultats sont en accord avec les études prospectives de la littérature^{93, 96-103, 105, 250-253}. De plus, les associations retrouvées dans nos analyses ont les mêmes ordres de grandeur que la méta-analyse de Van Dam et al⁹⁴ ; à savoir une diminution du risque de 34% pour une consommation de café supérieure à au moins 4 tasses par jour. Le lien entre caféine et risque de diabète est également concordant avec la littérature existante^{103, 106}. Mais, le fait que les résultats obtenus pour le café normal et décaféiné soient similaires permet de faire l'hypothèse d'un effet d'autres composants actifs du café que la caféine, comme les polyphénols par exemple⁹¹. L'ajout de sucre n'impacte pas le risque, ce qui conforte l'étude de cohorte danoise de Van Dam et al²⁵¹.

La consommation de café est associée à un mode de vie à risque^{105, 250, 251} – grande proportion de fumeurs, IMC élevé, apport en acides gras saturés élevé. Mais la présente étude a permis d'ajuster sur de nombreux de ces facteurs, limitant ainsi un biais de confusion trop important, et d'isoler l'effet propre de la consommation de café/thé.

En ce qui concerne le thé, la diminution de risque associée à sa grande consommation, déjà observée dans la littérature^{103, 104} n'a pas été retrouvée dans notre

population d'analyse. Il n'a pas été possible de différencier le type de thé consommé, même si c'est traditionnellement le thé noir qui est le plus fréquemment consommé en France.

Mécanismes biologiques

Plusieurs mécanismes biologiques ont été suggérés dans la littérature. Le premier fait intervenir le magnésium, qui augmenterait l'insulino-sensibilité²⁵⁴. Une analyse de sensibilité a été menée dans notre étude en co-ajustant sur l'apport alimentaire en magnésium : aucune modification de l'association avec le café n'a été observée. Le second mécanisme fait intervenir les propriétés des lignanes et les acides chlorogéniques présents dans le café. Ces effets sont méconnus à l'échelle populationnelle mais on sait que les acides chlorogéniques ont des propriétés antioxydantes intéressantes, mises en évidence *in vitro* ou sur des rats²⁵⁵⁻²⁵⁷.

La diminution de risque n'est retrouvée qu'au moment du repas de midi. Dans notre étude, peu de femmes déclarent consommer du café le soir, ce qui fait chuter la puissance statistique de l'étude du repas du soir. Mais une puissance suffisante au petit-déjeuner – 58% des femmes consomment du café le matin – n'a pas permis de mettre en évidence la même diminution de risque qu'au déjeuner. Cela laisse penser que l'effet du café pourrait être modifié s'il interagit avec un autre composé consommé pendant le repas, comme le fer²⁵⁸⁻²⁶¹.

Conclusion

A notre connaissance, notre étude est la première à différencier le risque de diabète selon le moment où le café est ingéré dans la journée. **Dans l'ensemble, elle supporte l'hypothèse d'un effet bénéfique du café sur le risque de diabète de type II, effet qui pourrait être indépendant de la caféine. D'autres études devront confirmer les résultats concernant l'effet du moment auquel le café est consommé et sa possible interaction avec les aliments ingérés au même repas.**

1.3.3 Lien entre consommation d'alcool et risque de diabète de type II

Caractéristiques de la population

Les caractéristiques de la population étudiée ici sont très proches en termes de consommation d'alcool et de caractéristiques à l'inclusion que celle étudiée pour le

lien entre la consommation d'alcool et le risque de cancer du sein (cf. 1.2.4 page 88). Environ 38% des femmes déclarent consommer au moins une fois par jour un verre d'alcool, quel que soit son type. Seules 12% des femmes ne consomment jamais d'alcool. Les grandes consommatrices ont tendance à avoir un IMC plus élevé, un apport énergétique plus important et une activité physique plus faible que les femmes qui ne boivent jamais d'alcool.

Risques associés à la consommation d'alcool pur et par type de boisson alcoolisée consommée

Aucune association n'est statistiquement significative en ce qui concerne les catégories de consommation d'alcool pur. Cependant, on devine une relation en « U » puisqu'une consommation modérée de 3 à 5 verres par semaine réduirait le risque de diabète de 15%, (RR=0,85 [0,68 – 1,05]) par rapport aux non-consommatrices. Lorsque l'on scinde les analyses par type d'alcool, les mêmes relations en « U » apparaissent, sans toutefois atteindre le seuil de significativité à 5% pour la majorité des boissons. Seule une consommation modérée de vin entraîne une diminution significative du risque de diabète. Pour les femmes consommant 1 à 3 (respectivement 3 à 5) verres de vin/champagne par semaine, le risque est diminué de 20% (respectivement 21%) par rapport aux non-consommatrices. En revanche, si l'on observe également une diminution du risque pour des consommations modérées d'apéritifs, les grandes consommatrices – plus d'un verre par jour – sont à risque augmenté par rapport aux non-consommatrices (RR=1,50 [1,01 – 2,20]). L'augmentation du risque pour les grandes consommatrices n'apparaît pas pour les autres types d'alcool ou pour les catégories d'éthanol (alcool pur).

Tableau 19 : Risques relatifs de diabète de type II selon les catégories de consommation d'alcool pur et des différents types d'alcools (N= 69 532).

Variable (verre/semaine)	N	RR	IC 95%	P
Alcool pur				
NC	199	1	référence	
<1	209	1,05	[0,87 - 1,28]	0,84
1-3	228	0,93	[0,77 - 1,13]	
3-5	146	0,85	[0,68 - 1,05]	
5-7	124	1	[0,80 - 1,25]	
>7	509	0,92	[0,78 - 1,08]	
Bière/cidre				
NC	890	1	référence	
<1	294	1,03	[0,89 - 1,18]	0,36
1-3	115	1,04	[0,86 - 1,27]	
3-5	47	0,95	[0,68 - 1,32]	
5-7	36	1,43	[0,93 - 2,18]	
>7	33	1,08	[0,76 - 1,56]	
Vin/Champagne				
NC	361	1	référence	
<1	289	0,93	[0,79 - 1,10]	0,8
1-3	231	0,8	[0,68 - 0,94]	
3-5	112	0,79	[0,64 - 0,97]	
5-7	132	0,95	[0,78 - 1,17]	
>7	290	0,87	[0,74 - 1,01]	
Alcools forts (Whisky, Gin, Vodka...)				
NC	690	1	référence	
<1	286	0,99	[0,85 - 1,14]	0,54
1-3	268	1,03	[0,88 - 1,21]	
3-5	87	1,12	[0,86 - 1,41]	
5-7	29	0,83	[0,56 - 1,26]	
>7	55	1,03	[0,78 - 1,35]	
Apéritifs (Muscat, Porto, Vermouth...)				
NC	651	1	référence	
<1	489	0,89	[0,79 - 1,01]	0,43
1-3	188	0,85	[0,72 - 1,00]	
3-5	39	0,78	[0,55 - 1,09]	
5-7	21	1,03	[0,63 - 1,70]	
>7	27	1,5	[1,01 - 2,20]	

* Les modèles multivariés ont été ajustés sur les antécédents familiaux de diabète, l'activité physique (MET-h/semaine), l'hypercholestérolémie et la prise de traitement hypolipidémiant, l'hypertension, le statut tabagique, l'apport en fibres et en acides gras, l'apport énergétique sans l'alcool, le statut ménopausique, l'utilisation de THM, la prise de pilule au cours de la vie et l'IMC. P : test de tendance, en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue

Discussion

Dans notre étude, une relation en « U » entre le risque de diabète et la consommation d'alcool pur est mise en évidence. Dans la littérature existante, la question du lien entre alcool et risque de diabète de type II reste ouverte, même si plusieurs études s'accordent également pour une relation de cette forme. Koppes et al⁷⁹, dans leur méta-analyse d'études prospectives, ont fait état d'une diminution du risque de 30% environ pour les consommations modérées (allant de 6 à 48 g d'éthanol par jour, soit l'équivalent d'un demi à 4 verres par jour). Dans cette même méta-analyse, le risque associé aux grandes consommatrices était comparable à celui des non-consommatrices. Nos résultats confirment les estimations de cette méta-analyse. Une autre méta-analyse de 2005 par Carlsson et al⁸⁰ retrouvait également une relation en « U ». Toutefois elle mettait en garde sur l'hétérogénéité des études « poolées ». Cette méta-analyse suggérait de mener d'avantage d'études sur l'effet de l'alcool sur le risque de diabète selon le sexe et le groupe ethnique des individus et selon le type d'alcool consommé. Les questions des doses et des fréquences de consommation sont également d'intérêt.

Influence du type d'alcool

Dans notre étude, il semblerait que ce soit la consommation modérée de vin/champagne qui soit le plus fortement associée à une diminution du risque de diabète de type II, avec une réduction de l'ordre de 20% pour des consommations entre 1 et 5 verres par semaine, par rapport aux non-consommatrices. En revanche, la consommation d'apéritifs apparaît être liée en « J » avec le risque de diabète, puisqu'on observe une augmentation significative du risque de diabète de 50% pour les femmes consommant plus d'un verre par jour, par rapport aux non-consommatrices.

Mécanismes d'action

Aucun mécanisme biologique n'a été mis en évidence à l'heure actuelle. Cependant, un effet bénéfique d'une consommation d'alcool pourrait s'expliquer par une augmentation de l'insulino-sensibilité. En effet, dans leur revue de la littérature, Pietraszek et al²⁶² ont conclu à une augmentation du contrôle de la glycémie avec la consommation d'alcool chez des patients diabétiques, qui serait dû à une sensibilité à

l'insuline accrue. D'autre part, il a été montré que l'alcool inhiberait la production de glucose²⁶³, ce qui pourrait positivement influencer sur le risque de diabète de type II.

Limites de l'étude

Le recueil de données sur l'alcool sous forme d'auto-questionnaires peut engendrer un biais de classification avec une sous-déclaration des consommations habituelles des femmes. Un transfert des grandes consommatrices vers les catégories de consommations plus « modérées » pourrait expliquer l'absence d'association entre les fortes consommations et le risque de diabète, mais cela ne permet pas d'expliquer l'association retrouvée avec la consommation d'apéritifs. Par ailleurs, la répartition des consommations dans la cohorte E3N empêche une étude optimale des très grandes consommations par type d'alcool – supérieures à plusieurs verres par jour – faute de puissance statistique suffisante dans certaines catégories.

Conclusion

Cette étude confirme **un effet bénéfique d'une consommation modérée d'alcool, et ce de manière plus prononcée pour le vin ou champagne. De plus, elle permet d'émettre l'hypothèse d'un effet délétère d'une consommation d'alcool fort supérieure à 1 verre par jour sur le risque de diabète de type II.**

1.3.4 Lien entre consommation de viande et risque de diabète de type II : rappel des résultats E3N

Dans cette partie, nous reprenons à titre indicatif les résultats d'une étude menée sur les données de la cohorte E3N par Martin Lajous et Laura Tondeur. Ces résultats n'ont pas encore été publiés à l'heure actuelle, mais mon expérience des données alimentaires ainsi que des données sur le diabète m'ont amené à collaborer avec eux et à réaliser notamment une relecture critique du manuscrit de l'article en préparation, dont je suis co-auteur. Cette partie met en évidence les effets de la consommation de viande rouge et de la viande préparée industriellement sur le risque de diabète de type II.

Caractéristiques de la population

Les femmes qui consommaient le plus de viande préparée industriellement étaient plus jeunes, plus fréquemment fumeuses, plus corpulentes, consommaient d'avantage d'alcool, avaient une activité physique moins importante et avaient un apport énergétique total plus élevé que les femmes qui en consommaient peu ou faiblement. Les grandes consommatrices de viande rouge consommaient plus d'alcool et avaient un IMC plus élevé que les faibles ou non-consommatrices.

Tableau 20 : Caractéristiques de la population selon leur consommation de viande préparée industriellement et viande rouge (N=69 532)

	Viande préparée industriellement (portions/semaine)				Viande rouge (portions/semaine)			
	<1	1-3	3-5	≥5	<1	1-3	3-5	≥5
Médiane de consommation (g/jr)	2,96	13,83	27,22	46,37	1	30,79	55,43	90,07
Age	53,8	52,8	52,2	51,9	53,4	52,8	52,2	52
Tabac								
Jamais	55	54	53	51	53	54	54	53
Ancienne fumeuse	32	33	34	34	32	33	33	33
En cours	13	13	13	16	14	13	13	14
Alcool (g/jr)	8,2	10,4	12,2	14,3	10,9	9,8	11	12,9
IMC (kg/m²)	22,2	22,6	23	23,4	22,8	22,4	22,7	23,1
Hypertension traitée (%)	7	8	8	8	8	8	8	8
Hypercholestérolémie traitée (%)	6	6	5	5	6	6	6	6
THM en cours (%)	35	34	31	31	34	34	32	32
Activité Physique (Met-h/semaine)	40,3	40,2	39,8	39,1	40,6	41,6	39,8	37,7
Etude post-bac (%)	89	89	89	88	87	89	90	91
Apport énergétique total (kcal/jr)	1840	2009	2196	2393	1976	2025	2138	2269

Risque dans la population entière

On observe une diminution du risque pour une consommation modérée à élevée de viande rouge, par rapport aux faibles ou non-consommatrices (RR=0,77 [0,65 – 0,92] pour la catégorie 1 à 3 portions par semaine, RR=0,84 [0,71 – 0,98] pour la catégorie 3 à 5 portions par semaine et RR=0,88 [0,75 – 1,04] pour les femmes consommant plus de 5 portions par semaine).

Des résultats allant dans le sens opposé ont été mis en évidence pour une consommation élevée de viande préparée industriellement. Une augmentation du risque est présente dans la catégorie des femmes consommant plus de 5 portions de viande préparée industriellement par semaine, par rapport aux faibles et non-

consommatrices (RR=1,36 [1,09 – 1,70]). Une tendance linéaire est également présente à travers les catégories de consommation (P = 0,0005).

En revanche, aucune association ou tendance linéaire n'ont été mises en valeur pour la consommation de viande totale ou pour la consommation de viande blanche (résultats non tabulés).

Tableau 21 : Risques relatifs de diabète de type II associés à la consommation de viande rouge et viande préparée industriellement (N= 69 532)

Type de viande (portions par semaine)	N	RR	IC 95%	P tendance
Viande rouge				
<1	478	1	(référence)	0,14
1-3	226	0,77	[0,65 - 0,92]	
3-5	334	0,84	[0,71 - 0,98]	
≥ 5	377	0,88	[0,75 - 1,04]	
Viande préparée industriellement				
<1	163	1	(référence)	0,0005
1-3	468	1,04	[0,83 - 1,29]	
3-5	344	1,16	[0,92 - 1,44]	
≥ 5	440	1,36	[1,09 - 1,70]	

* Les modèles multivariés ont été ajustés sur les antécédents familiaux de diabète, l'activité physique (MET-h/semaine), la consommation d'alcool, l'hypercholestérolémie et la prise de traitement hypolipidémiant, l'hypertension, le statut tabagique, l'apport en fibres et en acides gras, l'apport énergétique sans l'alcool, le statut ménopausique, l'utilisation de THM, la prise de pilule au cours de la vie et l'IMC. P tendance : test de tendance en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue

Discussion

Dans cette étude, qui reprend des travaux déjà effectués dans la cohorte E3N, il est apparu que la consommation de viande rouge était associée à une diminution de risque de diabète, alors qu'une consommation élevée de viande préparée industriellement était associée à un sur-risque.

Le résultat concernant la consommation de viande préparée industriellement est en accord avec la littérature existante. Une revue de la littérature/méta-analyse d'Aune et al¹²² regroupant 12 études de cohorte, met en évidence une augmentation de risque de l'ordre de 41% pour une consommation élevée. Nous sommes, avec

54% d'augmentation du risque, dans des proportions similaires à cette méta-analyse. En revanche dans notre étude, l'absence d'association que l'on observe pour la viande totale et surtout la diminution de risque associée à une grande consommation de viande rouge ne sont pas en accord avec les résultats présentés dans la méta-analyse¹²². Cette dernière conclue au contraire à une augmentation du risque pour ces types de viande consommée en grande quantité (17% pour la viande totale et 21% pour la viande rouge). Cependant, leurs résultats souffrent d'une hétérogénéité avérée, en partie expliquée par l'agrégation d'études utilisant des designs et des seuils d'exposition différents.

Mécanismes d'action

Un mécanisme souvent avancé pour expliquer une association positive entre consommation de viande et risque de diabète fait intervenir l'obésité comme élément intermédiaire dans la relation. En effet, une consommation de viande élevée est préférentiellement associée à une augmentation du risque de diabète chez les femmes avec un IMC élevé¹²⁴. De plus, la consommation de viande préparée industriellement fait souvent partie d'un régime alimentaire de mauvaise qualité, qui lui peut être associé à l'obésité, au syndrome métabolique et par cette voie au risque de diabète de type II¹¹⁶. Cela se vérifie dans cette étude puisque les grandes consommatrices de ce type de viande ont un IMC plus grand, un apport énergétique supérieur aux femmes qui n'en consomment pas ou très peu.

Conclusion

Cette étude met en évidence d'une part **une augmentation du risque de diabète pour les femmes ayant une consommation élevée de viande préparée industriellement**, et d'autre part **une diminution du risque de diabète associée à une consommation modérée ou élevée de viande rouge**.

1.3.5 Lien entre apport en vitamine D alimentaire et risque de diabète de type II

Caractéristiques de la population

Le descriptif des femmes selon leur catégorie d'apport alimentaire en vitamine D est, à la décimale près, identique à celui effectué sur la population d'étude

du risque de cancer du sein (cf. 1.2.6 page 101). Toutefois rappelons que les femmes ayant des apports alimentaires élevés en vitamine D sont généralement plus corpulentes, plus fréquemment ménopausées, consomment d'avantage d'alcool et résident dans des latitudes légèrement plus au Nord que les femmes ayant des faibles apports en vitamine D. Par ailleurs, les femmes de la catégorie des apports en vitamine D les plus élevés ont en moyenne plus d'antécédents familiaux de diabète.

Risque dans la population totale

On a constaté une augmentation du risque de diabète avec l'apport en vitamine D alimentaire (cf. Tableau 22). En effet, les femmes ayant un apport supérieur à 114 UI/jr ont 16% de risque supplémentaire par rapport aux femmes consommant moins de 80 UI/jr (RR=1,16 [1,02 – 1,33]). Une tendance linéaire à l'augmentation a été observée à travers les catégories de vitamine D (P= 0,02, calculée uniquement sur les 3 catégories d'apports en vitamine D). En revanche, la prise de compléments en vitamine D n'est pas associée au risque de diabète de type II, même si elle semble diminuer le risque par rapport aux non utilisatrices de complément ayant les apports en vitamine D les plus faibles (RR=0,80 [0,55 – 1,16]).

Tableau 22 : Risques relatifs de diabète de type II selon les apports alimentaires et compléments en vitamine D (N= 69 532).

Vitamine D (UI/jr) *	N	RR	IC 95%	P	tendance
< 80	360	1	(référence)		
80 - 114	453	1,31	[0,98 - 1,30]		
> 114	570	1,16	[1,02 - 1,33]	0,02	
Complément Vit D	32	0,8	[0,55 - 1,16]		-

* Rappel : 40 UI = 1 µg. Modèles ajustés sur les antécédents familiaux de diabète, l'activité physique (Met-h/semaine), la consommation d'alcool, l'apport en lipides, l'apport énergétique sans l'alcool et les lipides, le niveau d'études, le taux de cholestérol total et la prise de traitement hypolipidémiant, l'hypertension, le statut tabagique, la prise de pilule, la dose moyenne UVB du lieu de résidence durant la période printemps-été, l'apport en calcium, la résistance aux coups de soleil (faible, moyenne, haute) et la pigmentation de la peau (très claire, claire, moyenne, mate, noire). Ces variables ont été mesurés à l'inclusion alors que l'IMC, le statut ménopausique, la prise de complément en calcium et la prise de THM dépendent du temps et ont été mis à jour au cours du suivi. P tendance : test de tendance en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue

Risques de diabète selon les apports alimentaires en vitamine D et selon l'exposition solaire

Nous avons stratifié les analyses précédentes selon la dose d'UVB reçue en moyenne par la femme par jour (cf. Tableau 23). On peut ainsi dissocier l'effet d'un apport élevé en vitamine D alimentaire chez une femme selon son exposition solaire.

Tableau 23 : Risques relatifs de diabète de type II selon les catégories d'apports en vitamine D et d'exposition solaire (N=69 532)

Dose moyenne d'UV (kJ/m ² /jr)	Apports en vitamine D (UI/jr)											
	< 80			80 - 113			> 113			Complément		
	N	RR	IC 95%	N	RR	IC 95%	N	RR	IC 95%	N	RR	IC 95%
< 2,4	79	1	(référence)	118	1,12	[0,84 - 1,48]	168	1,23	[0,94 - 1,60]	7	0,6	[0,26 - 1,35]
2,4-2,5	78	1,05	[0,77 - 1,43]	105	1,19	[0,89 - 1,59]	132	1,18	[0,89 - 1,55]	6	0,68	[0,28 - 1,64]
2,5-2,7	105	1,19	[0,89 - 1,59]	120	1,22	[0,92 - 1,62]	152	1,39	[1,06 - 1,82]	14	1,45	[0,77 - 2,72]
>2,7	98	1,07	[0,79 - 1,43]	110	1,34	[1,01 - 1,79]	118	1,2	[0,90 - 1,60]	5	0,49	[0,19 - 1,27]

* Rappel : 40 UI = 1 µg. Modèles ajustés sur les antécédents familiaux de diabète, l'activité physique (Met-h/semaine), la consommation d'alcool, l'apport en lipides, l'apport énergétique sans l'alcool et les lipides, le niveau d'études, le taux de cholestérol total et la prise de traitement hypolipidémiant, l'hypertension, le statut tabagique, la prise de pilule, l'apport en calcium, la résistance aux coups de soleil (faible, moyenne, haute) et la pigmentation de la peau (très claire, claire, moyenne, mate, noire). Ces variables ont été mesurés à l'inclusion alors que l'IMC, le statut ménopausique, la prise de complément en calcium et la prise de THM dépendent du temps et ont été mis à jour au cours du suivi.

On remarque une augmentation du risque de diabète de type II avec l'augmentation des apports alimentaires en vitamine D, quelles que soient les catégories d'exposition aux UVB. Cependant, aucun risque relatif n'atteint le seuil de significativité de 5%. L'influence de l'UVB paraît plus prononcée dans les hautes catégories d'apports en vitamine D que dans la catégorie des apports inférieurs à 80 UI/jr. En ce qui concerne la prise de compléments en vitamine D, les risques relatifs vont tous dans le sens d'une diminution de risque à l'exception de la strate 2,5 - 2,7 kJ/m²/jr, où le risque est non significativement augmenté de 45% par rapport aux femmes faiblement exposées qui ont des apports faibles en vitamine D (RR=1,45 [0,77 - 2,72]). Mais les associations concernant les compléments ont reposé sur un très faible nombre de cas.

Discussion

Nos résultats sont en faveur d'une augmentation du risque de diabète liée à un apport élevé en vitamine D. Une augmentation de 16% est observée dans la population générale. L'hypothèse d'un effet cumulatif de l'exposition solaire et de

l'apport alimentaire en vitamine D a été testée. Elle n'est pas confirmée par les données, même si les risques les plus élevés ont été observés dans les catégories d'exposition et d'apport les plus élevées.

La littérature suggère une diminution du risque avec l'augmentation de l'apport en vitamine D, que ce soit *in vitro*¹⁵² ou en population¹⁵³. Une revue de la littérature/méta-analyse en 2007¹⁵⁴ a déterminé qu'un taux élevé en vitamine D serait associé à une diminution du risque de 64% (OR = 0,36 [0,16 – 0,80]). Cependant, la majorité des études « poolées » sont transversales et n'ajustaient pas sur de nombreux facteurs de confusion¹⁵⁴, ce qui pourrait biaiser l'estimation de la relation. Les études interventionnelles existantes souffrent quant-à-elle d'une durée d'exposition souvent trop faible et d'un nombre de sujets limité. Notre étude ne retrouve pas les associations répertoriées dans la littérature et conclut même à une association dans le sens opposé.

Outres les problèmes éventuels liés au design des études dans la littérature, plusieurs éléments peuvent expliquer les divergences de résultat. Les réductions de risque observées dans la littérature correspondent à des doses importantes d'apports en vitamine D alimentaire. Dans l'étude de la Nurses Health Study²⁶⁴, qui analyse le risque de diabète pour des femmes résidant aux Etats-Unis – où l'alimentation est fréquemment fortifiée et supplémentée, en vitamine D notamment – les auteurs constatent une diminution de risque pour des consommations supérieures à 800 UI/jr. Or, la catégorie des apports en vitamine D la plus élevée dans notre étude a une limite inférieure à 113 UI/jr. La faible étendue des apports en vitamine D dans la cohorte E3N pourrait expliquer l'absence de réduction du risque pour les apports les plus élevés. En revanche, cela ne permet pas d'expliquer l'augmentation de risque observée pour cette catégorie dans notre étude. De plus, l'effet délétère observée dans notre étude pourrait également s'expliquer en partie par la consommation d'aliments riches en vitamine D (comme le poisson gras par exemple) dont certains composants comme les acides gras oméga-3 sont associés positivement au risque de diabète de type II²⁶⁵.

Mécanismes d'action

Des études *in vitro* ont suggéré un rôle important de la vitamine D à la fois vis-à-vis des cellules β et vis-à-vis de l'insulino-résistance. Chiu et al¹⁵¹ ont montré

que le taux de vitamine D était négativement corrélé au dysfonctionnement des cellules β et à l'insulino-résistance parmi 126 adultes ayant une glycémie normale. La vitamine D pourrait également influencer sur le risque de diabète via une association négative avec l'obésité, mais nos analyses ne le confirment pas¹⁵⁴. On pourrait également penser que les femmes les plus corpulentes sont celles qui mangent le plus, y compris des aliments riches en vitamine D. Ainsi, les apports en vitamine D pourraient agir positivement sur le risque de diabète. Dans notre étude, les femmes ayant les apports en vitamine D les plus élevés sont, en moyenne, plus corpulentes que les femmes aux apports en vitamine D faibles.

En conclusion, notre étude suggère une augmentation du risque de diabète avec les apports élevés en vitamine D dans la population entière et une augmentation, certes non-significative, pour les femmes ayant des expositions solaires les plus importantes. **Cependant, les faibles niveaux d'exposition en vitamine D dans la cohorte E3N empêchent de comparer nos résultats avec ceux des autres études, principalement Nord-américaines où l'alimentation est fortifiée, qui concluent plutôt en faveur d'un effet bénéfique de la vitamine D sur le risque de diabète.**

1.4 Discussion générale sur le volet alimentaire

Dans les sections précédentes, nous avons évalué les associations entre divers facteurs alimentaires et les **risques de cancer du sein et de diabète de type II**. Nous avons travaillé à partir des données de l'ensemble de la cohorte E3N, mais également à partir de données issues d'une étude cas-témoin nichée dans la cohorte pour l'étude du lien entre le taux de vitamine D sérique et le risque de cancer du sein.

Les analyses ont permis de mettre en évidence des facteurs associés au risque de certains cancers du sein et de diabète de type II. Les données alimentaires E3N sont suffisamment riches pour permettre une étude détaillée des effets de la consommation de café/thé/caféine, d'alcool pur et de différents types d'alcools existants, de types de viandes et de la vitamine D alimentaire et sérique.

1.4.1 Forces et limites des données alimentaires et biologiques

Un des nos atouts majeurs de nos données réside dans la capacité à utiliser une table de composition alimentaire très détaillée et validée²¹⁸. Il en résulte la prise en compte d'apports en alcool, caféine et vitamine D provenant de sources multiples. Les données de consommation par aliment ont permis une étude détaillée des types d'alcool et des types de viande. Une autre force de l'étude E3N repose sur le recueil prospectif des données qui permet d'exclure un biais de mémoire différentiel entre les cas et les non cas. Par ailleurs, l'enregistrement de nombreux facteurs hormonaux et reproductifs a permis d'ajuster les analyses alimentaires sur de nombreux facteurs de confusion potentiels, pouvant jouer un rôle confondant sur la survenue du cancer du sein. Nous ne pouvons pas exclure l'existence d'un biais de classement à cause d'erreurs de mesure, qu'elles proviennent des consommations déclarées dans le questionnaire alimentaire ou de la table de composition alimentaire. Cependant, un tel biais (non différentiel grâce au recueil prospectif) tend d'une part à atténuer tout effet réel en ramenant les risques relatifs estimés vers l'unité²²³. D'autre part, l'utilisation de quantiles conduit également un tel biais à diluer les associations. Par conséquent, les associations significatives que nous avons mises en évidence sont peu vraisemblablement liées à ce type d'erreur.

Néanmoins, il faut souligner qu'une seule mesure de la consommation alimentaire a été effectuée au début du suivi (Q3) reflétant une consommation moyenne sur l'année écoulée. Il est envisageable que les femmes aient pu changer leurs habitudes de consommation durant le suivi, ce qui aurait pu engendrer un biais de classification et fragiliser les associations observées.

En ce qui concerne l'étude de la vitamine D alimentaire, les questionnaires n'étant pas construits pour recueillir les doses précises des compléments en calcium et en vitamine D au cours du suivi, nous n'avons pu examiner avec précision l'effet de différentes doses de compléments. Toutefois, la mise à jour prospective des données sur les compléments alimentaires (utilisation en cours ou non, à chaque questionnaire de suivi), a permis de limiter le biais de classification entre les femmes qui modifiaient leurs apports en calcium ou en vitamine D au cours du suivi.

Pour l'étude de la vitamine D sérique et le risque de cancer du sein, par opposition à l'étude alimentaire, nous avons pu mesurer spécifiquement la

concentration de 25(OH) vitamine D3 qui reflète le mieux les apports totaux en vitamine D. Si des concentrations plus élevées en 25(OH)D3 étaient effectivement retrouvées chez les femmes qui déclaraient prendre des compléments en vitamine D au moment de la prise de sang, les apports en vitamine D alimentaire n'étaient pas corrélés aux concentrations ($\rho=0,07$). Ces résultats semblent en adéquation avec les résultats de l'étude alimentaire conduite qui soulignaient l'importance du rayonnement UVB et la faiblesse des apports alimentaires en vitamine D des femmes de la cohorte suggérant que l'alimentation seule ne pouvait pas contribuer suffisamment au statut vitaminique individuel pour observer une relation entre apports totaux en vitamine D et risque de cancer du sein. Par ailleurs, nous avons mesuré spécifiquement la forme majoritaire de la vitamine D dans l'organisme : la 25(OH)D3 qui provient uniquement de sources alimentaires comme le poisson, mais aussi, et pour 50 à 90% de sa concentration, de la photosynthèse cutanée.

Ainsi, la capacité à étudier le lien entre le taux de vitamine D sérique et le risque de diabète de type II dans la cohorte E3N est indispensable, pour les raisons précédemment citées. C'est la raison pour laquelle la construction d'une étude cas-témoin nichée dans la cohorte dédiée à l'étude du diabète de type II est en cours.

Section 2. Facteurs de risque de cancer du sein liés à des composantes du syndrome métabolique

2.1 Introduction générale

Le syndrome métabolique est clairement un marqueur de risque de maladie cardiovasculaire et de diabète de type II. Mais l'ensemble de ses composantes forme un faisceau de facteurs de risque potentiel pour d'autres pathologies, comme le cancer du sein. Des mécanismes biologiques, liés notamment à l'insulino-résistance, viennent expliquer les associations avec le diabète, mais pourrait être également en cause dans la cancérogenèse mammaire.

Or, peu d'études sur le lien entre des composantes du syndrome métabolique et le risque de cancer du sein ont été menées ou alors elles utilisaient des données sans information détaillée sur le type de cancer du sein.

Le taux de cholestérol total (et les traitements anti-cholestérols) ainsi que l'obésité (à travers un ensemble des facteurs anthropométriques) sont les deux composantes étudiées dans cette partie. Elles sont, directement ou indirectement, liées au syndrome métabolique : dans la définition du syndrome métabolique, c'est le cholestérol HDL qui intervient, cependant l'étude E3N ne dispose pas d'un dosage du cholestérol HDL pour l'ensemble de la population. En revanche, pour le cholestérol total, un dosage est demandé à chaque questionnaire (à l'exception du 5^{ème}). En ce qui concerne l'obésité, il faut garder à l'esprit que ce n'est pas l'obésité générale qui intervient dans le syndrome métabolique, mais uniquement l'obésité abdominale. Mais une étude de l'influence de la répartition de la masse grasse dans le corps sur le risque de cancer du sein se justifie aisément dans une approche globale.

Les associations avec le risque de cancer doivent être précisées notamment lorsque l'on s'intéresse au cancer en préménopause et de récepteurs doublement-négatifs, dont les facteurs de risque sont relativement méconnus, du fait d'une puissance statistique généralement plus faible pour ces catégories que les cancers en postménopause ou double-positifs.

Dans la partie 2.2 (cf. page 136), nous allons développer les analyses sur le lien entre le taux de cholestérol et le risque de cancer du sein, selon le statut ménopausique de la femme puis selon le statut en récepteurs hormonaux. La prise en compte des traitements hypolipémiants dans l'analyse du taux de cholestérol a permis de dissocier l'effet d'un taux de cholestérol naturellement bas d'un taux de cholestérol total abaissé grâce au traitement.

La partie 2.3 (cf. page 145) est dédiée à l'analyse des différents facteurs anthropométriques et leur influence sur le risque de cancer du sein, là encore défini selon le statut ménopausique et en fonction des récepteurs hormonaux. L'objectif a été de confirmer les résultats déjà établis concernant l'indice de masse corporelle (IMC), et de préciser les éventuelles relations entre la taille, le poids, le tour de taille (TT), le tour de hanche (TH), le rapport TT/TH (RTH) et le risque de cancer du sein dans les différents sous-groupes de cancer du sein.

2.2 Taux de cholestérol et risque de cancer du sein

2.2.1 Population et modélisation

Pour cette étude, toutes les femmes incluses dans l'analyse devaient avoir répondu au questionnaire alimentaire Q3 envoyé en 1993. Parmi ces 77 613 femmes, il a fallu exclure : 2 104 femmes pour cause de mauvais codage informatique et 985 femmes pour ne pas avoir donné de consentement pour que l'étude E3N récupère des informations auprès de la MGEN en cas de sortie de l'étude. Dans un second temps ont été exclues 4 510 femmes qui ont eu un cancer prévalent au questionnaire alimentaire, mais également 926 femmes qui n'avaient pas répondu à un questionnaire après Q3. Au final, 69 088 femmes ont été incluses dans l'analyse. Parmi elles, 2 932 cas de cancer du sein incidents ont été répertoriés sur l'ensemble de la période de suivi.

L'information sur le taux de cholestérol et la prise d'un traitement hypolipémiant a été combinée et découpée en 4 classes : les femmes non-traitées avec un taux de cholestérol faible ($\leq 6,6$ mmol/L, ce qui correspond à la borne du dernier tertile de la distribution du taux de cholestérol), les femmes non-traitées avec

un taux de cholestérol élevé ($> 6,6$ mmol/L), les femmes non-traitées sans information sur le cholestérol et les femmes traitées. Cette variable a été considérée comme dépendante du temps et mise à jour dans les différents questionnaires où le taux de cholestérol pouvait être renseigné. Cette catégorisation permet de dissocier l'effet d'un taux de cholestérol naturellement bas d'un taux de cholestérol artificiellement bas grâce à un traitement hypolipidémiant.

Des modèles de Cox multivariés avec risques compétitifs ont été mis en place pour estimer les risques associés à cette variable pour les 4 types de cancer du sein (ER+/PR+, ER+/PR-, ER-/PR+, ER-/PR-). Les modèles ont été ajustés sur les variables suivantes : la consommation d'alcool, l'apport total en lipides, l'apport énergétique total (sans l'alcool et les lipides), la prise de contraceptif oral au cours de la vie, l'âge aux premières règles, l'âge à la ménopause, le nombre d'enfants et l'âge au premier enfant, les antécédents de cancer du sein dans la famille du premier degré (mère, sœur, fille), le nombre d'années d'études, le statut diabétique. Ces variables ont été mesurées à une seule reprise au cours du suivi, alors que l'utilisation actuelle de traitement hormonal de la ménopause (pour les femmes ménopausées uniquement), les antécédents personnels de maladie bénigne du sein, l'IMC et le statut ménopausique étaient dépendantes du temps. Des analyses stratifiées ont été menées selon le statut ménopausique et l'IMC.

Afin d'évaluer s'il pouvait y avoir un problème de classification des femmes traitées, on a restreint la population, dans trois analyses de sensibilité, aux femmes (i) les plus âgées (après 50 à l'inclusion, médiane d'âge à la ménopause), (ii) après 55 ans (90^{ème} percentile de l'âge à la ménopause) et (iii) aux femmes ménopausées à l'inclusion.

2.2.2 Résultats

Caractéristiques de la population

Dans

le

Tableau 24, on présente les caractéristiques de la population à l'inclusion en fonction de leur taux de cholestérol et de la prise ou non de traitement hypolipidémiant. On constate que les femmes traitées sont plus âgées, ont utilisé moins fréquemment de contraceptif oraux au cours de leur vie, consomment moins de lipides, ont un IMC plus élevé, sont plus fréquemment diabétiques, utilisent moins souvent de THM et ont fait moins d'études.

Tableau 24 : Caractéristiques de la population à l'inclusion de l'étude selon le taux de cholestérol et la prise de traitement hypolipidémiant (N=69 088).

Variables	Prise de traitement hypolipidémiant N = 4934	Sans traitement hypolipidémiant		
		Cholestérolémie non-traitée > 6,6 mmol/l N = 4085	Cholestérolémie non-traitée ≤ 6,6 mmol/l N = 16414	Information manquante sur la cholestérolémie N = 43655
Age à l'inclusion (%)				
< 47	6	26	26	26
47 - 51	11	24	24	23
51 - 57	26	26	27	26
> 57	57	24	23	25
Consommation d'alcool pur (g/jr) (%)				
< 1,37	27	25	25	25
1,37 - 6,13	25	25	26	24
6,13 - 15,56	25	25	25	25
> 15,56	22	25	25	25
Apport en lipides (g/jr) (%)				
< 69	33	24	25	25
69 - 86	27	25	25	25
86 - 105	22	26	25	25
> 105	18	25	26	26
Apport énergétique (hors alcool et lipides) (kcal/jr) (%)				
< 1035	28	25	25	26
1035 - 1261	26	26	25	25
1261 - 1519	24	24	25	25
> 1519	23	25	26	25
Prise de contraceptifs oraux au cours de la vie (%)				
Jamais	59	37	37	38
Déjà	41	63	63	62
Age aux premières règles (%)				
< 12	21	21	21	21
12 - 13	26	26	26	26
13 - 14	24	25	25	25
> 14	29	28	28	28
Age à la ménopause (%)				
< 48	22	16	16	17
48 - 52	43	46	46	47
> 52	35	38	38	36
Nombre d'enfants (%)				
Aucun enfant	14	11	11	12
Un avant 30 ans	13	13	12	12
Plus d'un, dont le premier avant 30 ans	65	66	69	68
Un après 30 ans	3	4	3	4
Plus d'un, dont le premier après 30 ans	5	6	5	5

Age au premier enfant (%)				
< 22	18	18	19	19
22 - 24	44	41	42	42
24 - 27	15	17	16	16
> 27	23	24	23	24
Antécédent de cancer du sein dans la famille de premier degré (%)				
Aucun	88	88	88	88
Au moins un	12	12	12	12
Statut diabétique (%)				
Non	95	97	97	97
Oui	5	3	3	3
Années d'étude (%)				
<9	19	14	14	15
9 - 16	67	67	68	67
>16	14	19	18	18
Prise de THM (pour les femmes ménopausées uniquement) (%)				
Non	33	23	23	26
Oui	67	77	77	74
Antécédent de mastopathies bénignes (%)				
Non	74	71	71	72
Oui	26	29	29	28
Statut ménopausique (%)				
Préménopause	14	46	47	43
Postménopause	86	54	53	57
IMC (kg/m²) (%)				
Maigre (< 22)	2	4	4	4
Normal (22 - 25)	67	78	78	76
Surpoids (25 - 30)	25	15	15	16
Obèse (> 30)	6	3	3	4

A l'inclusion, le taux sérique moyen de cholestérol total était de 5,79 mmol/L pour les femmes traitées, de 5,43 mmol/L pour les femmes non traitées et rapportant un taux de cholestérol normal ou bas, et de 7,28 mmol/L pour les femmes non traitées rapportant un taux de cholestérol élevé.

Risques dans la population entière, selon le statut ménopausique et selon les catégories d'IMC

Le Tableau 25 présente les risques relatifs de cancer du sein associés à la variable cholestérol/traitement hypolipidémiant, dans la population entière puis selon le statut ménopausique de la femme. Lorsque l'on compare aux femmes non traitées avec un taux faible de cholestérol, les femmes traitées par hypolipidémiant ont un

risque de cancer du sein significativement diminué (RR=0,79 [0,68 – 0,93]). En revanche, aucune association n'a été mise en évidence pour les femmes sans traitement avec un taux de cholestérol élevé par rapport à celles avec un taux de cholestérol naturellement bas (RR=0,99 [0,85 – 1,15]). La diminution de risque dans la population entière pour les femmes traitées se retrouve uniquement en postménopause lorsque l'on stratifie par le statut ménopausique (RR=0,79 [0,67 – 0,93] en postménopause, contre RR=0,81 [0,43 – 1,51] en préménopause).

Dans les différentes strates d'IMC, les risques sont similaires (P d'homogénéité = 0,58) : une diminution de risque est observée chez les femmes traitées par rapport aux femmes non traitées avec une cholestérolémie basse ou normale quel que soit l'IMC. Mais la diminution de risque n'est significative que pour les femmes obèses (RR=0,76 [0,59 – 0,98]).

Tableau 25 : Risques relatifs dans la population entière puis dans les strates définies par le statut ménopausique et les niveaux d'IMC (N= 69 088).

	Nombre de cas	Population entière		Nombre de cas	Préménopause		Nombre de cas	Postménopause	
		RR – IC 95 %			RR – IC 95 %			RR – IC 95 %	
Quelque soit l'IMC									
Cholestérolémie non-traitée ≤ 6,6 mmol/l	2932	1	(référence)	640	1	(référence)	2292	1	(référence)
Cholestérolémie non-traitée > 6,6 mmol/l		0,99	[0,85-1,15]		0,92	[0,66-1,27]		1	[0,85-1,19]
Prise de traitement hypolipidémiant		0,79	[0,68-0,93]		0,81	[0,43-1,51]		0,79	[0,68-0,93]
IMC < 22 kg/m²									
Cholestérolémie non-traitée ≤ 6,6 mmol/l	1075	1	(référence)	298	1	(référence)	777	1	(référence)
Cholestérolémie non-traitée > 6,6 mmol/l		0,96	[0,75-1,23]		0,96	[0,60-1,52]		0,96	[0,71-1,29]
Prise de traitement hypolipidémiant		0,78	[0,58-1,07]		1,25	[0,51-3,03]		0,74	[0,53-1,04]
IMC entre 22 et 25 kg/m²									
Cholestérolémie non-traitée ≤ 6,6 mmol/l	1069	1	(référence)	221	1	(référence)	848	1	(référence)
Cholestérolémie non-traitée > 6,6 mmol/l		1,08	[0,85-1,36]		1,08	[0,64-1,84]		1,08	[0,83-1,40]
Prise de traitement hypolipidémiant		0,84	[0,65-1,08]		1,13	[0,41-3,04]		0,82	[0,63-1,06]
IMC > 25 kg/m²									
Cholestérolémie non-traitée ≤ 6,6 mmol/l	788	1	(référence)	121	1	(référence)	667	1	(référence)
Cholestérolémie non-traitée > 6,6 mmol/l		0,89	[0,65-1,20]		0,48	[0,17-1,36]		0,95	[0,69-1,31]
Prise de traitement hypolipidémiant		0,76	[0,59-0,98]		0,21	[0,03-1,48]		0,8	[0,62-1,03]

* Les modèles ont été ajustés sur la consommation d'alcool, l'apport total en lipides, l'apport énergétique total (sans l'alcool et les lipides), la prise de contraceptif oral au cours de la vie, l'âge aux premières règles, l'âge à la ménopause, le nombre d'enfants et l'âge au premier enfant, les antécédents de cancer du sein dans la famille du premier degré, le nombre d'années d'études, le statut diabétique, les antécédents personnels de maladie bénigne du sein, l'IMC et le statut ménopausique.

Risques selon le statut en récepteurs hormonaux

Le Tableau 26 présente les risques pour la population entière selon le type de cancer du sein défini par le statut des récepteurs hormonaux. Les femmes traitées par hypolipidémiant ont une diminution significative de risque de cancer du sein ER+/PR+ de 36% par rapport aux femmes avec une cholestérolémie naturellement basse ou normale (RR=0,64 [0,50 – 0,82]). Les analyses de sensibilité sur des populations plus âgées ont révélé des résultats similaires à ceux de la population entière.

Tableau 26 : Risques relatifs selon le statut des récepteurs hormonaux (N=69 088).

Type de cancer du sein	ER+/PR+	ER+/PR-	ER-/PR+	ER-/PR-
Nombre de cas	1345	481	101	363
	RR – IC 95 %	RR – IC 95 %	RR – IC 95 %	RR – IC 95 %
Cholestérolémie non-traitée ≤ 6,6 mmol/l	1 (référence)	1 (référence)	1 (référence)	1 (référence)
Cholestérolémie non-traitée ≤ 6,6 mmol/l	0,95 [0,76-1,18]	0,9 [0,62-1,31]	0,67 [0,23-1,95]	0,92 [0,60-1,42]
Prise de traitement hypolipidémiant	0,64 [0,50-0,82]	0,84 [0,58-1,21]	0,94 [0,38-2,36]	0,91 [0,59-1,41]

* Les modèles ont été ajustés sur la consommation d'alcool, l'apport total en lipides, l'apport énergétique total (sans l'alcool et les lipides), la prise de contraceptif oral au cours de la vie, l'âge aux premières règles, l'âge à la ménopause, le nombre d'enfants et l'âge au premier enfant, les antécédents de cancer du sein dans la famille du premier degré, le nombre d'années d'études, le statut diabétique, les antécédents personnels de maladie bénigne du sein, l'IMC et le statut ménopausique.

2.2.3 Discussion

Cette étude est, à notre connaissance, la première à combiner l'information sur le taux de cholestérol et les traitements hypolipidémiant dans le cadre de l'étude du risque de cancer du sein défini par le statut ménopausique et le statut des récepteurs hormonaux. Nous avons également pu ajuster sur des facteurs alimentaires qui jouent un rôle majeur dans l'étude du cholestérol.

Nous avons observé une diminution de risque significative pour les femmes traitées par hypolipidémiant par rapport aux femmes non-traitées avec une cholestérolémie faible ou normale. En revanche nous n'avons pas mis en évidence d'effet propre du taux de cholestérol. Et même si la diminution de risque des femmes traitées semble être plus marquée en postménopause ou pour les cancers ER+/PR+, il n'y avait pas d'hétérogénéité apparente entre les différentes catégories.

Mécanismes d'action des traitements hypolipémiants

Glynn et al²⁶⁶ ont montré dans une étude expérimentale que les traitements hypolipémiants pouvaient diminuer la croissance ainsi que la prolifération cellulaire, a fortiori des cellules cancéreuses. Il se pourrait aussi que cette association soit due au fait que les femmes traitées adoptent un mode de vie plus sain. Cependant, les hypolipémiants et en particulier les statines, sont suffisamment efficaces pour réduire le besoin de modifier son régime alimentaire²⁶⁷. Par ailleurs, il est peu probable qu'une modification du mode de vie après la prescription d'un traitement chronique comme les hypolipémiants puisse expliquer à elle seule une telle diminution de risque de cancer du sein et cela laisse penser plus à un effet propre des traitements plutôt qu'à un effet dû à de la confusion résiduelle.

L'association significative avec les femmes traitées n'est retrouvée que pour les cancers de type ER+/PR+. Les estrogènes ont des propriétés hypolipémiantes²⁶⁸ et pourraient ainsi venir compléter l'effet des molécules présentes dans les traitements sur le risque de cancer du sein. Mais certaines études de cohorte, qui ne se sont intéressés qu'aux statines^{169, 171, 172}, n'ont pas mis en évidence d'association significative avec le risque de cancer du sein ER+/PR+.

Les résultats concernant le taux de cholestérol sont en revanche en accord avec la littérature^{163-166, 269} puisqu'aucune n'a montré d'association significative. Il faut néanmoins noter que toutes ces études, sauf une²⁶⁹ n'ont pas différencié les sites de cancer.

Limites de l'étude

L'information sur la prise de traitement hypolipémiant n'a pas été mise à jour au cours du suivi. Mais un biais de classification du à un début de traitement postérieur à l'inclusion aurait été non différentiel et n'aurait fait que diluer l'association observée plutôt que de la renforcer. De plus des analyses de sensibilité ont été menées sur des femmes les plus âgées de la population et les résultats sont restés similaires.

De récentes études ont mis en lumière le rôle du cholestérol HDL dans le sur-risque de cancer du sein en préménopause²⁷⁰. Malheureusement, nos données ne

nous permettaient d'analyser que le cholestérol total et non de séparer les effets du taux de cholestérol HDL et LDL.

Le pourcentage de données manquantes pour le taux de cholestérol est assez élevé (environ 60% à chaque questionnaire), mais sur l'ensemble du suivi, 76% des femmes ont donné au moins une fois une information sur leur taux de cholestérol total. De plus, les caractéristiques des femmes qui reportaient ou non un dosage de cholestérol étaient très similaires.

L'auto-déclaration des données utilisées pourrait entraîner un biais de réponse. Toutefois, le caractère prospectif de l'étude impliquerait qu'il soit non-différentiel.

Il n'a pas été possible de dissocier les types d'hypolipémiants utilisés par les femmes. Cependant en France, la consommation de ces médicaments a évolué entre le début et la fin de suivi. Alors que les statines ont été commercialisées en 1991 pour la première fois, il s'est produit une inversion : on est passé du monopôle des fibrates en 1991 à 78% de prescriptions de statines en 2007²⁷¹. Ainsi la population étudiée doit regrouper des utilisatrices de statines et de fibrates en proportion comparable, ce qui favorise l'hypothèse d'un effet hypolipémiant sur le risque de cancer du sein plutôt que l'effet d'une molécule particulière.

Conclusion

Les femmes utilisatrices de traitement hypolipémiant seraient à risque diminué de cancer du sein par rapport aux femmes non traitées avec un taux de cholestérol normal ou faible. Ces résultats devront être confirmés par d'autres études bénéficiant d'informations supplémentaires sur le type d'hypolipémiant consommé.

2.3 Anthropométrie et risque de cancer du sein

2.3.1 Population et modélisation

Le suivi a débuté en 1995, à la date de retour du questionnaire Q4. Les 69 149 répondantes ont contribué aux personnes-années de suivi soit jusqu'à la date de

diagnostic de cancer, soit jusqu'au dernier questionnaire rempli, soit jusqu'en Juillet 2005, date d'envoi du questionnaire Q8 (date de point), selon l'événement qui arrivait le plus précocement. Il a fallu exclure 3 897 femmes qui avaient un cancer prévalent (sauf cancer basocellulaire), 782 femmes qui n'ont plus répondu à des questionnaires postérieurs à Q4 et 22 femmes qui n'ont jamais eu de règles. Durant le suivi (582 144 personnes-années), 2 609 cancers du sein ont été diagnostiqués. De plus, nous avons exclu 191 cas qui n'ont pas été confirmés, 531 cas sans information sur le statut des récepteurs hormonaux. Ce qui nous a amené à considérer au final une population de 63 726 femmes, dont 1 887 cas de cancer du sein.

Données anthropométriques

Le poids, la taille, le TT, le TH et le RTH ont été découpés en tertiles :

- Les seuils utilisés pour la taille sont 159 cm et 164 cm.
- Les seuils pour le poids sont 56 kg et 63 kg.
- Le TT a été découpé aux seuils 71 cm et 77 cm.
- Le TH a été découpé aux seuils 93 cm et 99 cm.
- Le RTH a été découpé aux seuils 0,75 et 0,80.
- L'IMC a été découpé selon les catégories suivantes : Moins de 20 ; 20-22,5 ; 22,5-25 ; 25-30 ; plus de 30 kg/m².

Une variable supplémentaire a été construite en regroupant les informations sur le TT et TH. Ces deux variables ont été dichotomisées selon leur médiane (75 cm pour le TT et 96 cm pour le TH) et ont été croisées pour former 4 catégories (faible TH/faible TT, faible TH/TT élevé, TH élevé/ faible TT, TH élevé/ TT élevé).

Analyses statistiques

Des modèles de Cox avec risques compétitifs ont été mis en œuvre pour évaluer le risques liés aux variables anthropométriques précédemment citées pour les différents types de cancer du sein définis selon le statut ménopausique et le statut des récepteurs aux hormones. Les modèles ont été ajustés sur les variables suivantes : le niveau d'éducation (avant Bac/Bac ou post-Bac), l'activité physique (MET-h/semaine), l'apport énergétique total (sans l'alcool, en kcal/jr), la consommation

d'alcool (g/jr), statut tabagique (non fumeuses/anciennes fumeuses/fumeuses actuelles), l'âge aux premières règles, le nombre d'enfants et l'âge à la première grossesse (avant/après 30 ans), l'utilisation de contraceptifs oraux au cours de la vie (jamais/preneuse ou arrêt il y a moins de 10 ans/arrêt il y a plus de 10 ans), l'âge à la ménopause, les antécédents familiaux de cancer du sein (oui/non), un examen mammographique depuis le dernier questionnaire (oui/non), antécédents de mastopathies bénignes (oui/non, dépendant du temps), utilisation de THM (femmes ménopausées uniquement, oui/non dépendant du temps). Les données présentaient une interaction entre l'IMC et le statut ménopausique, ainsi les modèles ont été stratifiés et présentés en pré- et postménopause. Dans un second temps les modèles ont été ajustés sur la taille et l'IMC.

2.3.2 Résultats

Caractéristiques de la population

Les caractéristiques moyennes de la population d'analyse sont présentées dans le Tableau 27 selon le statut cas/non-cas des femmes. Parmi les 1 887 cas de cancer du sein, 1 167 était de type ER+/PR+, 347 de type ER+/PR-, 76 de type ER-/PR+ et 297 de type ER-/PR-. Concernant les deux types de cancer ER+/PR- et ER-/PR+, aucune association significative n'a été mise en évidence avec aucun des facteurs d'exposition étudiés. Ainsi tous les résultats présentés dans la suite ne s'intéresseront qu'aux cancers du sein de type ER+/PR+ (double positif) ou ER-/PR- (double négatif).

Tableau 27 : Caractéristiques de la population à l'inclusion selon le statut cas/non-cas (N=63 726).

Variable	Cas (N=1887) Moyenne	Non cas (N=61839) (Ecart-type)
Taille (cm)	162 (5,7)	161 (5,7)
Poids (kg)	59 (9,5)	59 (9,7)
IMC (kg/m ²)	22,7 (3,4)	22,7 (3,5)
Tour de hanche (cm)	96 (8,1)	96 (8,3)
Tour de taille (cm)	75 (9,0)	75 (9,0)
Rapport Tour de taille/Tour de hanche	0,78 (0,1)	0,78 (0,1)
Age (année)	54 (6,3)	53 (6,7)
Activité physique (MET-h/semaine)	45,4 (32,0)	46,3 (37,4)
Nombre d'enfants	2 (1,1)	2 (1,2)
Age à la première grossesse (année)	24 (4,4)	24 (4,0)
Age aux premières règles (année)	13 (1,3)	13 (1,4)
Variable		%
Niveau d'éducation		
Avant Bac	85,8	84,2
Bac/Post-Bac	14,2	15,8
Antécédents familiaux de cancer du sein		
Aucun	82,3	88,5
Au moins un	17,7	11,5
Mammographie		
Jamais	4,8	7,6
Déjà	95,2	92,4
Prise de contraceptifs oraux		
Jamais	40,8	39,8
Déjà	59,2	60,2
Antécédents de mastopathies bénignes		
Aucun	59,6	69,7
Au moins un	40,4	30,3
Statut ménopausique		
Préménopause	34,5	36,6
Postménopause	65,5	63,4
Utilisation de THM (femmes ménopausées uniquement)		
Non	51,4	59,9
Oui	48,6	40,1

Risques selon le statut ménopausique et en récepteurs aux hormones

Il existe une interaction entre l'IMC et le statut ménopausique ($P = 0,01$). Ainsi, dans le Tableau 28, sont présentées les associations concernant les tertiles de taille, de poids et les catégories d'IMC stratifiées sur le statut ménopausique. Nous n'avons trouvé aucune association significative entre la taille et le risque de cancer ER+/PR+, que ce soit en pré- ou en postménopause. Le poids est associé négativement au risque de cancer préménopausique ER+/PR+ ($P=0,07$). En postménopause il est associé positivement ($P<0,01$). Similairement au poids, l'IMC a un effet opposé sur le risque de cancer ER+/PR+, selon que le cancer du sein apparaisse en pré- ou en postménopause. Un IMC élevé est associé à une diminution de risque en préménopause ($RR=0,40$ [$0,16 - 1,00$], $P_{\text{tendance}}=0,04$), et associé à une augmentation de risque en postménopause ($RR=1,63$ [$1,17 - 2,28$], $P_{\text{tendance}}<0,01$), lorsque l'on compare la catégorie la plus élevée d'IMC ($> 30 \text{ kg/m}^2$) à la catégorie basse ($< 20 \text{ kg/m}^2$). En ce qui concerne le risque de cancer du sein ER-/PR-, aucune association n'existe avec la taille, le poids et l'IMC.

Dans un second temps, les risques de cancer du sein ER+/PR+ (cf. Tableau 29) et ER-/PR- (cf. Tableau 30) ont été présentés selon le statut ménopausique et selon l'ajustement ou non par l'IMC dans les modèles. Dans le Tableau 29, on constate une augmentation du risque de cancer postménopausique de type ER+/PR+ avec un TT et un TH croissants, mais ces associations disparaissent après ajustement sur l'IMC. En préménopause, un TH élevé est associé à une augmentation de risque ($RR=1,65$ [$1,04 - 2,62$] entre le dernier et le premier tertile, $P_{\text{tendance}}=0,03$) après ajustement sur l'IMC. En revanche, aucune association avec le TT en préménopause n'a été montrée. En ce qui concerne le RTH ou la morphologie, aucune association n'a été détectée avec le risque de cancer du sein ER+/PR+, ni en pré-, ni en postménopause.

Dans le Tableau 30, la seule association significative avec le risque de cancer ER-/PR- concerne le TH en préménopause, que l'on ajuste sur l'IMC ou non. Après ajustement sur l'IMC, le dernier tertile de TH était à risque augmenté par rapport au premier tertile ($RR=3,13$ [$1,19 - 8,27$], $P_{\text{tendance}}=0,02$). Les estimations d'association avec le TH sont significativement différentes entre les cancers préménopausiques de

type ER+/PR+ et de type ER-/PR- avant ajustement sur l'IMC ($P_{\text{hétérogénéité}}=0,02$), mais plus après ($P_{\text{hétérogénéité}}=0,25$).

L'augmentation de risque de cancer du sein ER-/PR- en préménopause associée à un TH élevé s'avère être indépendante du TT puisque la variable « répartition du tissu adipeux » révèle que ce sont les femmes à TH élevé qui demeurent à risque augmenté, quel que soit leur TT :

- les femmes à TH élevé et faible TT ont un RR=2,66 [1,15 – 6,14] avant ajustement sur l'IMC, et un RR=2,81 [1,18 – 6,70] après ajustement, par rapport aux femmes à faible TH et faible TT.
- les femmes à TH élevé et à TT élevé ont un RR=2,44 [1,24 – 4,81] avant ajustement sur l'IMC, et un RR=2,79 [1,16 – 6,76] après ajustement, par rapport aux femmes à faible TH et faible TT.

Aucune association n'est observée entre un facteur anthropométrique et le risque de cancer du sein ER-/PR- en postménopause. Les modèles ajustés sur la taille en continu ou en catégories, ou ajustés réciproquement sur le TH et sur le TT ne montrent pas de modification des associations présentées.

Tableau 28 : Risques relatifs de cancers du sein ER+/PR+ et ER-/PR- selon la taille, le poids et l'IMC (N=63 726).

	ER+/PR+								ER-/PR-							
	Femmes en préménopause (N=223)				Femmes en postménopause (N=944)				Femmes en préménopause (N=54)				Femmes en postménopause (N=243)			
	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P
Taille (cm)																
< 159	56	1	(référence)		289	1	(référence)		21	1	(référence)		79	1	(référence)	
159 - 164	75	1,05	0,74 1,48	0,47	319	1,06	0,9 1,24	0,09	14	0,5	0,26 0,99	0,11	76	0,88	0,64 1,21	0,86
≥ 164	92	1,13	0,81 1,58		336	1,15	0,98 1,35		19	0,59	0,31 1,1		88	1,02	0,75 1,39	
Poids (kg)																
< 56	80	1	(référence)		228	1	(référence)		14	1	(référence)		80	1	reference	
56 – 63	82	1,06	0,78 1,45	0,07	295	1,23	1,04 1,47	< 0,01	21	1,65	0,84 3,25	0,37	69	0,82	0,59 1,13	0,37
≥ 63	61	0,72	0,51 1,01		421	1,38	1,17 1,63		19	1,4	0,7 2,82		94	0,86	0,64 1,17	
IMC (kg/m²)																
< 20	44	1	(référence)		88	1	(référence)		8	1	(référence)		27	1	(référence)	
20 - 22,4	83	0,78	0,54 1,13		270	1,11	0,87 1,42		17	0,93	0,4 2,17		85	1,2	0,77 1,87	
22,5 - 24,9	58	0,73	0,49 1,09	0,04	279	1,23	0,96 1,56	< 0,01	17	1,4	0,6 3,27	0,2	67	1	0,63 1,58	0,35
25-29,9	33	0,6	0,38 0,96		241	1,37	1,07 1,76		9	1,18	0,45 3,11		54	1,02	0,63 1,65	
≥ 30	5	0,4	0,16 1		66	1,63	1,17 2,28		3	1,45	0,38 5,59		10	0,77	0,36 1,66	

* Les modèles ont été ajustés sur les variables suivantes : niveau d'éducation (Avant Bac/Bac ou Post-Bac), l'activité physique (MET-h/semaine), l'apport énergétique total (sans l'alcool, en kcal/jr), consommation d'alcool (g/jr), statut tabagique (Non fumeuses/Anciennes fumeuses/Fumeuses actuelles), âge aux premières règles, le nombre d'enfants et âge à la première grossesse (Avant/Après 30 ans), utilisation de contraceptifs oraux au cours de la vie (Jamais/Preneuse ou arrêté il y a moins de 10 ans/Arrêt il y a plus de 10 ans), âge à la ménopause, antécédent familiaux de cancer du sein (Oui/Non), mammographie depuis le dernier questionnaire (Oui/Non), antécédents de mastopathies bénignes (Oui/Non, dépendant du temps), utilisation de THM (femmes ménopausées uniquement, Oui/Non dépendant du temps). P : test de tendance en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Tableau 29 : Risques relatifs de cancers du sein ER+/PR+ selon le TH, le TT, le RTH et la morphologie (N=63 726).

	ER+/PR+ (sans ajustement sur l'IMC)								ER+/PR+ (avec ajustement sur l'IMC)							
	Femmes en préménopause (N=223)				Femmes en postménopause (N=944)				Femmes en préménopause (N=223)				Femmes en postménopause (N=944)			
	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P
Tour de hanche (cm)																
< 93	75	1	(référence)		215	1	(référence)		75	1	(référence)		215	1	(référence)	
93 – 99	76	1,1	0,79 1,54	0,77	311	1,25	1,04 1,49	<0,01	76	1,29	0,91 1,83	0,03	311	1,17	0,97 1,4	0,58
≥ 99	72	1,05	0,74 1,48		418	1,31	1,1 1,55		72	1,65	1,04 2,62		418	1,07	0,86 1,34	
Tour de taille (cm)																
< 71	78	1	(référence)		212	1	(référence)		78	1	(référence)		212	1	(référence)	
71 – 77	90	1,21	0,89 1,65	0,04	253	1,11	0,92 1,34	0,03	90	1,24	0,89 1,72	0,28	253	1,05	0,87 1,27	0,96
≥ 77	55	0,67	0,46 0,96		479	1,21	1,02 1,44		55	0,71	0,44 1,13		479	1,01	0,82 1,25	
RTH																
< 0,75	68	1	(référence)		211	1	(référence)		68	1	(référence)		211	1	(référence)	
0,75 - 0,80	99	1,07	0,78 1,48	0,02	316	0,98	0,82 1,17	0,8	99	1,09	0,8 1,5	0,07	316	0,96	0,81 1,15	0,52
≥ 0,80	56	0,66	0,46 0,95		417	1,02	0,86 1,21		56	0,7	0,48 1,02		417	0,94	0,79 1,13	
Morphologie																
faible TH/faible TT	101	1	(référence)		243	1	(référence)		101	1	(référence)		243	1	(référence)	
faible TH /TT élevé	27	0,84	0,52 1,35		119	1,19	0,95 1,49		27	0,87	0,54 1,42		119	1,13	0,9 1,42	
TH élevé/faible TT	35	1,17	0,79 1,75	/	99	1,13	0,89 1,44	/	35	1,23	0,81 1,86	/	99	1,06	0,83 1,35	/
TH élevé / TT élevé	60	0,72	0,51 1,01		483	1,28	1,09 1,5		60	0,8	0,51 1,26		483	1,09	0,89 1,33	

* Les modèles ont été ajustés sur les variables suivantes : niveau d'éducation (Avant Bac/Bac ou Post-Bac), l'activité physique (MET-h/semaine), l'apport énergétique total (sans l'alcool, en kcal/jr), consommation d'alcool (g/jr), statut tabagique (Non fumeuses/Anciennes fumeuses/Fumeuses actuelles), âge aux premières règles, le nombre d'enfants et âge à la première grossesse (Avant/Après 30 ans), utilisation de contraceptifs oraux au cours de la vie (Jamais/Preneuse ou arrêt il y a moins de 10 ans/Arrêt il y a plus de 10 ans), âge à la ménopause, antécédent familiaux de cancer du sein (Oui/Non), mammographie depuis le dernier questionnaire (Oui/Non), antécédents de mastopathies bénignes (Oui/Non, dépendant du temps), utilisation de THM (femmes ménopausées uniquement, Oui/Non dépendant du temps). P : test de tendance en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

Tableau 30 : Risques relatifs de cancers du sein ER-/PR- selon le TH, le TT, le RTH et la morphologie (N=63 726).

	ER-/PR- (sans ajustement sur l'IMC)								ER-/PR- (avec ajustement sur l'IMC)							
	Femmes en préménopause (N=54)				Femmes en postménopause (N=243)				Femmes en préménopause (N=54)				Femmes en postménopause (N=243)			
	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P
Tour de hanche (cm)																
< 93	11	1	(référence)		69	1	(référence)		11	1	(référence)		69	1	(référence)	
93 – 99	22	2,71	1,29 5,66	< 0,01	78	1,02	0,74 1,42	0,9	22	2,76	1,28 5,96	0,02	78	1,07	0,76 1,51	0,64
≥ 99	21	2,85	1,33 6,13		96	0,98	0,71 1,36		21	3,13	1,19 8,27		96	1,11	0,72 1,71	
Tour de taille (cm)																
< 71	16	1	(référence)		70	1	(référence)		16	1	(référence)		70	1	(référence)	
71 – 77	19	1,55	0,78 3,11	0,25	69	0,88	0,63 1,24	0,2	19	1,37	0,67 2,79	0,79	69	0,9	0,63 1,27	0,43
≥ 77	19	1,52	0,75 3,07		104	0,81	0,59 1,12		19	1,1	0,45 2,68		104	0,85	0,57 1,27	
RTH																
< 0,75	19	1	(référence)		61	1	(référence)		19	1	(référence)		61	1	(référence)	
0,75 - 0,80	16	0,61	0,31 1,24	0,64	79	0,83	0,59 1,16	0,42	16	0,58	0,29 1,17	0,37	79	0,84	0,6 1,18	0,65
≥ 0,80	19	0,84	0,44 1,62		103	0,86	0,62 1,19		19	0,72	0,37 1,42		103	0,91	0,65 1,27	
Morphologie																
faible TH/faible TT	15	1	(référence)		85	1	(référence)		15	1	(référence)		85	1	(référence)	
faible TH /TT élevé	7	1,34	0,48 3,71		25	0,76	0,48 1,2		7	1,41	0,5 3,98		25	0,78	0,49 1,25	
TH élevé/faible TT	9	2,66	1,15 6,14	/	32	1,12	0,73 1,7	/	9	2,81	1,18 6,7	/	32	1,16	0,75 1,79	/
TH élevé / TT élevé	23	2,44	1,24 4,81		101	0,88	0,65 1,19		23	2,79	1,16 6,76		101	0,96	0,64 1,43	

* Les modèles ont été ajustés sur les variables suivantes : niveau d'éducation (Avant Bac/Bac ou Post-Bac), l'activité physique (MET-h/semaine), l'apport énergétique total (sans l'alcool, en kcal/jr), consommation d'alcool (g/jr), statut tabagique (Non fumeuses/Anciennes fumeuses/Fumeuses actuelles), âge aux premières règles, le nombre d'enfants et âge à la première grossesse (Avant/Après 30 ans), utilisation de contraceptifs oraux au cours de la vie (Jamais/Preneuse ou arrêt il y a moins de 10 ans/Arrêt il y a plus de 10 ans), âge à la ménopause, antécédent familiaux de cancer du sein (Oui/Non), mammographie depuis le dernier questionnaire (Oui/Non), antécédents de mastopathies bénignes (Oui/Non, dépendant du temps), utilisation de THM (femmes ménopausées uniquement, Oui/Non dépendant du temps). P : test de tendance en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue.

2.3.3 Discussion

Dans cette étude nous avons mis en évidence qu'un poids ou un IMC élevé était associé à une diminution de risque de cancer ER+/PR+ en préménopause, et à une augmentation de risque de ce même type de cancer en postménopause. Un TH élevé est associé à une augmentation de risque en préménopause, à la fois pour les cancers ER+/PR+ et ER-/PR-. La taille, le TT et le RTH n'étaient associés à aucun type de risque de cancer du sein.

La taille et le risque de cancer du sein

L'influence de la taille sur le risque de cancer du sein a été suggérée, mais les preuves sont limitées : une telle influence semble être restreinte en postménopause²⁷² ou faiblement associée à la mortalité par cancer du sein dans une méta-analyse de 38 études de population dans les zones Asie-Pacifique²⁷³. Aucune information n'est donnée sur le sous-type de cancer du sein. Dans notre étude nous n'avons pas mis en valeur d'effet propre de la taille.

L'obésité générale et le risque de cancer du sein

Les résultats concernant l'IMC sont cohérents avec la littérature existante. Des revues de la littérature ont résumé l'information sur le sujet¹⁷⁷⁻¹⁷⁹ : Suzuki et al ont combiné les résultats de 9 études de cohorte et 22 cas-témoins et ont trouvé une diminution de risque pour les cancers ER+/PR+ en préménopause (RR=0,80 [0,70 – 0,92]) et une augmentation de risque en postménopause (RR=1,82 [1,55 – 2,14]), lorsqu'ils comparent la plus grande des catégories d'IMC à la plus petite. En revanche, ils ne trouvent aucune association pour les cancers ER-/PR-. L'augmentation de risque pour les cancers ER+/PR+ en postménopause est également retrouvée dans les conclusions des études d'Althuis et al dans leur revue de la littérature¹⁷⁸, de Chen et al dans leur méta-analyse¹⁷⁷ et plus récemment de Kawai et al²⁷⁴, Parr et al²⁷⁵ et Singh et al²⁷⁶.

Des hypothèses biologiques ont été avancées pour expliquer les associations privilégiées avec le risque de cancer du sein ER+/PR+. Un taux sérique d'estradiol élevé a été trouvé associé à une diminution de risque en préménopause et à une

augmentation en postménopause pour les femmes avec un IMC élevé¹⁹⁰. De plus, Key et al²⁷⁷ ont montré que l'augmentation de risque observée pour les femmes à l'IMC élevé était sensiblement réduite après ajustement sur le taux d'estradiol dans les modèles. Cela souligne le rôle prépondérant des estrogènes dans l'association entre l'IMC et le risque de cancer du sein. Dans notre étude, les données disponibles n'ont pas permis d'évaluer ce rôle dans la cohorte entière. En revanche, nous disposions d'un dosage de l'estradiol dans l'étude cas-témoin nichée. L'effet de l'IMC sur le risque de cancer du sein ne s'est pas trouvé modifié par un ajustement sur le taux d'estradiol.

Obésité centrale contre obésité abdominale et risque de cancer du sein

La majorité des études qui se sont intéressées au lien entre TH, TT et le risque de cancer de sein n'a pas tenu compte du statut des récepteurs hormonaux^{185, 188, 278-280}. Dans la cohorte européenne EPIC, Lahmann et al²⁷⁹ ont trouvé que le TH était la seule mesure significativement associée au risque de cancer du sein en préménopause, après ajustement sur l'IMC. Dans une étude cas-témoin²⁸¹, les auteurs ont révélé que le TT et le RTH n'étaient pas associées au risque de cancer du sein, quel que soit le statut en récepteurs hormonaux et quel que soit le statut ménopausique. Harvie et al¹⁸⁵ ont conclu dans leur revue de la littérature que les associations trouvées pour le TH et le RTH s'expliquaient par la forte corrélation entre ces variables et l'IMC. Cette conclusion est en accord avec nos résultats. Ils suggéraient également un effet de l'adiposité centrale plutôt que générale sur le risque de cancer du sein en préménopause. Nos résultats ne confirment pas cette hypothèse d'un effet propre de l'obésité centrale, mais plutôt une augmentation de risque associée à des hanches larges.

A notre connaissance, peu d'études ont mentionné des associations entre des hanches larges et une augmentation de risque de cancer du sein. Seul Harris et al²⁸² trouvent que les variables de distribution de la masse grasse (TT et TH) sont significativement associées à un sur-risque pour les cancers ER-, ce qui conforte nos résultats concernant le TH mais non le TT ou le RTH. Une étude asiatique²⁸³ a montré que le TH était un facteur prédictif de risque de cancer pré- ou postménopausique dans une cohorte chinoise, dans laquelle les femmes avaient un

IMC moyen très proche de celui de notre population d'étude (23,6 contre 23,3 kg/m²).

Comme peu d'études ont trouvé des résultats significatifs concernant le TH, a fortiori du risque en préménopause, l'association statistique obtenue avec le TH est potentiellement d'un grand intérêt. Malgré le nombre de cas relativement faible dans la catégorie ER-/PR-, l'association a atteint le seuil de significativité statistique de 5%. Ce résultat devra être confirmé par d'autres études bénéficiant d'un nombre conséquent de cas de cancer du sein double-négatif. Notre résultat est d'autant plus intéressant qu'on a montré que cette association persistait quel que soit le TT de la femme. Le sur-risque observé indifféremment chez les femmes à morphologie en « pomme » (TT>TH) ou à morphologie en « poire » (TH>TT) pour un TH élevé pourrait conduire à de nouvelles hypothèses physiopathologiques pour le risque de cancer du sein en préménopause.

Mécanismes d'action potentiels

Il est établi qu'un TH élevé est associé à un sur-risque de maladie cardiovasculaire ou de diabète de type II²⁸⁴⁻²⁸⁷ chez les femmes. Cela pourrait être le reflet d'une plus grande proportion de masse maigre et masse grasse sous-cutanée et ainsi être associé à une réduction de l'insulino-résistance, et par conséquent être associé à une diminution de risque de cancer du sein. Pour expliquer notre résultat contradictoire par rapport à cette hypothèse, deux éléments peuvent être avancés. Un TH élevé peut être le reflet d'une exposition plus importante aux stéroïdes²⁸⁸ et ainsi expliquer le fait que l'association entre TH et risque de cancer du sein ER+/PR+ disparaisse en postménopause après ajustement sur l'IMC, ce dernier étant fortement corrélé en postménopause, avec l'exposition aux œstrogènes¹⁸⁴. De même, cette relation pourrait expliquer l'augmentation de risque en préménopause observée pour les cancers double-positifs après ajustement sur l'IMC, qui est associé en « U inversé » avec le taux d'œstrogène en préménopause chez les femmes en surpoids ou obèses¹⁹⁰.

Un autre mécanisme serait la voie d'action de la leptine, une des hormones majeures issue de la synthèse des tissus adipeux. Un taux élevé de leptine est corrélé à un TH élevé, après contrôle de la quantité de masse grasse²⁸⁹. La leptine stimule la biosynthèse d'œstrogènes en augmentant l'activité de l'aromatase, et pourrait favoriser

ainsi la progression de cancers du sein double-positifs²⁸⁹. Cependant, comme beaucoup d'autres cytokines, les leptines ont des propriétés mitogéniques, anti-apoptotiques, pro-angiogéniques et pro-inflammatoires sur des systèmes cellulaires, et ainsi pourraient favoriser la genèse de cancers double-négatifs également²⁹⁰. De plus, il a été montré *in vitro* que l'inhibition de leptine entraînait une réduction d'activité dans les cellules cancéreuses, aussi bien ER+ qu'ER-²⁹¹. Après la ménopause, le taux de leptine diminue rapidement, ce qui renforce nos résultats, limité aux cancers avant la ménopause²⁹².

Limites de l'étude

Les données anthropométriques sont auto-déclarées, ce qui pourrait constituer une limite potentielle. Cependant, nos mesures ont été validées dans une étude comparant ces mesures reportées par les femmes de la cohorte elles-mêmes aux mesures effectuées par du personnel entraîné²⁹³. À l'exception de la taille ($r=0,56$), les coefficients de corrélation étaient supérieurs à 0,80 pour le TT, TH et RTH, avec un maximum de 0,94 pour le poids. Le coefficient de corrélation pour l'IMC était de 0,78. De plus, l'auto-déclaration ne pourrait entraîner qu'un biais de réponse non-différentiel, et ainsi diminuer les associations observées plutôt que les amplifier.

La définition du TH pourrait être une seconde limite. Il a été défini comme la circonférence la plus large sous le nombril ; une hétérogénéité pourrait exister selon la morphologie de la femme. Mais encore une fois, l'étude de validation a démontré que ces mesures étaient fiables²⁹³.

Comme pour toutes les études analysant le risque de cancer du sein selon le statut en récepteurs hormonaux dans ce travail de thèse, les données sur les récepteurs hormonaux sont issues de laboratoires différents et la classification « positif » ou « négatif » a été faite en utilisant des techniques et des seuils non-standardisés. Cependant, une mauvaise classification n'est certainement liée à aucun des facteurs anthropométriques étudiés, et de fait ne pourrait qu'affaiblir la capacité de détection d'une association entre un de ces facteurs et le risque de cancer du sein. De plus, les 531 femmes exclues pour cause de données manquantes sur les récepteurs aux hormones ont des caractéristiques similaires à celles présentant des données valides (cf. Tableaux

Tableau 34 en annexe page 172).

Conclusion

Notre étude est la première à notre connaissance à avoir modélisé le lien entre le TH, TT, RTH, le poids, la taille, l'IMC et le risque de cancer du sein défini selon le statut ménopausique de la femme et le statut en récepteurs hormonaux de la tumeur. Un TH élevé, quelle que soit la valeur du TT, serait associé à un sur-risque de cancer du sein ER+/PR+ et ER-/PR- en préménopause. Les facteurs de risque de cancer du sein en préménopause sont limités en nombre à l'heure actuelle, ainsi cette étude ouvre de nouvelles perspectives de recherche qui, si elles sont confirmées par d'autres études épidémiologiques, pourraient déboucher sur d'éventuelles stratégies de prévention ciblées pour les femmes obèses ou avec un TH élevé.

Section 3. Etude préliminaire du lien entre le diabète de type II, son traitement et le risque de cancer du sein

3.1 Introduction générale

Les relations entre certains facteurs alimentaires, des composantes du syndrome métabolique et les risques de cancer du sein et de diabète de type II étant précisées, nous avons cherché à évaluer le risque de cancer du sein chez les personnes diabétiques. La littérature suggère également que certains traitements antidiabétiques serait associés à une diminution de risque de cancer du sein.

Cette section présente les résultats préliminaires du lien entre diabète, traitement antidiabétique et risque de cancer du sein, défini selon le statut ménopausique et le statut des récepteurs hormonaux. En effet, cette étude ne dispose que d'une puissance statistique relativement faible, dû au faible nombre de femmes diabétiques (a fortiori au faible nombre de femmes traitées pour diabète) qui déclarent un cancer du sein dans la cohorte E3N. Les résultats présentés ci-après doivent donc être interprétés avec la plus grande prudence et ne servir que de base de réflexion à une étude plus approfondie future, lorsque le suivi sera allongé et que l'étude comptera davantage de femmes diabétiques et davantage de cas de cancer du sein parmi elles.

3.2 Population et modélisation

Parmi les 77 613 femmes qui avaient des données alimentaires valides pour cette étude, il a fallu exclure : 2 104 femmes pour cause de mauvais codage informatique et 985 femmes pour ne pas avoir donné de consentement pour que l'étude E3N récupère des informations auprès de la MGEN en cas de sortie de l'étude. Dans un second temps ont été exclues 4 510 femmes qui ont eu un cancer prévalent au questionnaire alimentaire, mais également 988 femmes qui n'avaient pas répondu à un questionnaire après Q3. Au final, 69 026 femmes ont été incluses dans

l'analyse. Parmi elles, 2 923 cas de cancer du sein incidents ont été répertoriés sur l'ensemble de la période de suivi entre 1993 et 2005.

Les variables d'exposition principales sont le statut diabétique (Oui/Non) à chaque questionnaire (considérée en variable dépendante du temps) et l'information sur la prise de traitement diabétique (Oui/Non, considérée en variable dépendante du temps), évalué aux questionnaires Q4, Q6, et Q7. Afin d'ajuster sur les données alimentaires mais également d'accroître le nombre de personnes-années et le nombre de cas dans l'étude, le début de suivi a été choisi en Q3. Ainsi pour la notion de traitement antidiabétique, qui n'est demandé qu'à partir de Q4, nous avons considéré que les femmes traitées en Q3 étaient celles qui déclaraient la prise d'un traitement antidiabétique en Q4, la durée médiane entre les deux questionnaires étant très courte (1,5 an).

Des modèles de Cox multivariés ont été mis en place pour estimer les risques associés au statut diabétique et à la prise de traitement antidiabétique. Les modèles ont été ajustés sur les variables suivantes : la consommation d'alcool (en continu), l'apport énergétique total (sans l'alcool, en continu), la prise de contraceptif oral au cours de la vie (déjà/jamais), l'âge aux premières règles (en continu), l'âge à la ménopause (en continu), le nombre d'enfants (en continu), l'âge au premier enfant (en continu), les antécédents de cancer du sein dans la famille du premier degré (mère, sœur, fille ; aucun/au moins un), le nombre d'années d'études (en continu). Ces variables ont été mesurées à une seule reprise au cours du suivi, alors que l'utilisation actuelle de traitement hormonal de la ménopause (pour les femmes ménopausées uniquement, oui/non), les antécédents personnels de maladie bénigne du sein (oui/non), l'hypertension (oui/non), l'IMC (en continu) et le statut ménopausique (oui/non) étaient considérées comme des variables dépendantes du temps. Des analyses stratifiées ont été menées selon le statut ménopausique.

3.3 Résultats

3.3.1 Caractéristiques de la population

Pendant le suivi, les femmes ont contribué pour 720 641 personnes-années et 2923 cas de cancer du sein ont été déclarés. Sur l'ensemble du suivi, il y avait 2945 cas de diabète, mais uniquement 128 femmes diabétiques ont déclaré un cancer du sein incident (postérieur à leur date de diagnostic de diabète de type II).

Le Tableau 31 présente les caractéristiques des femmes à l'inclusion selon le statut diabétique. Les femmes diabétiques ont une activité physique et un niveau d'étude plus faible que les non diabétiques. Elles ont un IMC plus élevé et sont plus nombreuses à être hypertendues, à être ménopausées et à prendre un traitement antidiabétique. Parmi les 1 164 femmes diabétiques, seulement 441 femmes (37%) déclarent avoir recours à un traitement antidiabétique.

Tableau 31 : Caractéristiques de la population selon le statut diabétique à l'inclusion.

Variables	Femmes non diabétiques		Femmes diabétiques		
	(N=67 862)		(N=1 164)		
	Moyenne	(Ecart type)	Moyenne	(Ecart type)	
Age aux premières règles	12,81	(1,42)	12,68	(1,43)	
Alcool (g/jr)	11,19	(14,4)	11,7	(17,36)	
Activité physique (Met-h/sem)	52,15	(36,81)	47,15	(27,22)	
Nombre d'enfant	2,01	(1,15)	2,06	(1,37)	
Age à la première grossesse	24,59	(3,81)	24,4	(3,87)	
IMC (kg/m ²)	22,87	(3,25)	25,86	(4,93)	
	N	(%)	N	(%)	
Antécédent de cancer du sein dans la famille					
	Aucun	58830	(86,69)	1022	(87,77)
	Au moins un	9032	(13,31)	142	(12,23)
Ménopausée					
	Non	28933	(42,64)	292	(25,09)
	Oui	38929	(57,36)	872	(74,91)
Prise de THM					
	Non	46857	(69,05)	779	(66,92)
	Oui	21005	(30,95)	385	(33,08)
Antécédent de mastopathie bénigne					
	Non	47982	(70,71)	902	(77,49)
	Oui	19880	(29,29)	262	(22,51)
Tabac					
	Non fumeuse	36100	(53,2)	609	(52,32)
	Ex fumeuse	22004	(32,42)	395	(33,93)
	Fumeuse	9155	(13,49)	148	(12,71)
	Manquant	603	(0,89)	12	(1,03)
Niveau d'étude					
	Pas de BAC	7660	(11,29)	208	(17,87)
	BAC-BAC+4	48302	(71,18)	791	(67,96)
	BAC+5 et plus	11900	(17,54)	165	(14,18)
Prise d'un antidiabétique (auto-déclaration)					
	Non	67762	(99,85)	723	(62,11)
	Oui	100	(0,15)	441	(37,89)
Hypertension					
	Non	44351	(65,35)	798	(68,56)
	Oui	4438	(6,54)	158	(13,57)
	Manquant	19073	(28,11)	208	(17,87)

3.3.2 Risques dans la population entière et selon le statut ménopausique

Dans notre population, le fait d'être diabétique n'est pas associé au risque de cancer du sein (RR=0,94 [0,73 – 1,21]). De même, l'utilisation d'un antidiabétique n'est pas associé à au risque de cancer du sein (RR=1.37 [0,88 – 2,15]).

Le Tableau 32 présente les risques de cancer du sein associés au statut diabétique de la femme et la prise ou non d'un traitement antidiabétique. Le risque des femmes diabétiques est identique à celui des femmes non diabétiques (RR=1,00 [0,43 – 2,34]) en préménopause. On peut également observer une diminution de risque non-significative chez les femmes qui utilisent un antidiabétique par rapport aux non-utilisatrices (RR = 0,89 [0,18 – 4,31]). Toutefois ces estimations ne reposent que sur respectivement 7 et 2 cas de cancer du sein dans les catégories d'intérêt, ce qui interdit toute interprétation.

En postménopause, le risque de cancer n'est pas associé au statut diabétique de la femme (RR = 0,81 [0,57 – 1,16]). De même, la prise d'antidiabétique n'influe pas sur le risque de cancer du sein (RR = 1,43 [0,89 – 2,29]).

Tableau 32 : Risques de cancer du sein associés au statut diabétique et à la prise de traitement antidiabétique dans la cohorte E3N (N=69 026).

		Préménopause			Postménopause		
		N	RR	IC	N	RR	IC
Diabète de type II	Non	632	1 (référence)		2228	1 (référence)	
	Oui	7	1,00	[0,43 - 2,34]	56	0,81	[0,57 - 1,16]
Traitement antidiabétique	Non	637	1 (référence)		2252	1 (référence)	
	Oui	2	0,89	[0,18 - 4,31]	32	1,43	[0,89 - 2,29]

* Les modèles ont été ajustés sur le niveau d'éducation, l'activité physique, l'apport énergétique total sans l'alcool, la consommation d'alcool, l'hypertension, l'âge aux premières règles, le nombre d'enfants et l'âge à la première grossesse, l'utilisation de contraceptifs oraux au cours de la vie, l'âge à la ménopause, les antécédents familiaux de cancer du sein, antécédents de mastopathies bénignes, utilisation de THM (femmes ménopausées uniquement) et l'IMC.

Pour des soucis évidents de manque de puissance statistique, aucune analyse n'a été menée selon le statut en récepteurs hormonaux de la tumeur.

3.4 Discussion

Notre étude préliminaire conclut à une absence d'association entre le statut diabétique de la femme et le risque de cancer du sein, que ce soit en pré- ou en postménopause. La prise de traitement antidiabétique n'est pas associée au risque de cancer du sein.

Nos résultats ne sont pas en accord avec les résultats majeurs de la littérature, issus de deux méta-analyses. La première méta-analyse du risque de cancer du sein après un diabète de type II a été menée par Larsson et al^{194, 198, 199, 201-205} en 2007 et a conclu à un sur-risque significatif de 20% par rapport aux femmes non-diabétiques. La même année, Xue et al⁴³ ont publié une revue de la littérature qui allait en faveur d'une augmentation de risque significative de cancer du sein mais restait prudente sur l'association entre diabète de type II et risque de cancer du sein. Les auteurs demandaient d'avantage d'études sur le sujet avant de conclure, notamment concernant l'implication du syndrome métabolique dans la carcinogenèse mammaire. En ce qui concerne la prise de traitement antidiabétique, la littérature fait état d'une possible diminution de risque de cancer associée à la prise d'un traitement, en particulier ceux issu de la famille des biguanides (contenant de la metformine), mais les études ont une puissance statistique limitée pour détecter les associations modestes, d'autant plus lorsque l'on s'intéresse à la localisation du cancer²⁹⁴.

3.4.1 Mécanismes

A l'heure actuelle, on sait que les personnes diabétiques sont caractérisées par une forte insulino-résistance et une hyperinsulinémie¹⁹⁴, ce qui pourrait augmenter le risque subséquent de cancer du sein via des effets sur les tissus mammaires ou plus indirectement via l'augmentation des taux circulants d'estradiol, de testostérone et d'IGF^{195, 196}. Concernant la metformine, il a été montré qu'elle inhibait la prolifération des cellules et qu'elle causait un arrêt partiel dans les cycles des cellules cancéreuses²⁹⁵.

3.4.2 Limites

Les données analysées en préménopause ne permettent pas d'exclure le hasard, puisque seulement 7 et 2 cas de cancer du sein sont répertoriés

respectivement dans les catégories des femmes diabétiques et des femmes utilisatrices d'antidiabétiques. Outre le manque de puissance dans notre étude, nous pouvons déplorer le fait que l'information sur le type de traitement antidiabétique ne soit pas disponible dans les questionnaires. Ainsi, il n'a pas été possible de différencier le type de traitement utilisé, en particulier ceux utilisant la metformine, particulièrement intéressants du point de vue de l'étiologie du cancer du sein^{206, 207}. En revanche, via des données de remboursement provenant de la MGEN, nous avons accès aux prescriptions des femmes à partir de 2004. A défaut de pouvoir intégrer cette information dans les modèles de Cox, puisque la période postérieure à 2004 correspond à la fin de suivi dans notre étude (questionnaire Q8 en 2005), nous avons pu effectuer un descriptif de l'utilisation des antidiabétiques remboursés aux femmes de la cohorte entre 2004 et 2008. Parmi l'ensemble des femmes de la cohorte E3N, on peut noter que 3 005 femmes se sont vues rembourser un antidiabétique de type biguanide (classe contenant la metformine) au moins une fois entre le 1^{er} janvier 2004 et le 31 décembre 2008 (cf. Tableau 33). On constate notamment que la classe des biguanides est la plus fréquemment prescrite, avant la classe des sulfamides.

Tableau 33 : Répartition des remboursements de traitement antidiabétique entre le 1er janvier 2004 et le 31 décembre 2008 dans la cohorte E3N (NB : une femme peut contribuer à plusieurs lignes).

	Nombre de femmes avec au moins une prescription	Nombre moyen de prescriptions
Insuline	793	35,15
Biguanides	3005	28,92
Sulfamides	2076	35,06
Inhibiteurs des alpha-glucosidases	656	16,78
Glitazones	521	19,76
Glinides	619	19,8
Autre	3100	13,79

3.4.3 Conclusion

Notre étude n'a **pas mis en évidence de sur-risque de cancer du sein pour les femmes diabétiques**, mais la puissance statistique de cette étude préliminaire peut expliquer l'absence d'association. **La prise de traitement antidiabétique n'est pas liée au risque de cancer du sein dans notre étude**. Il sera intéressant, lorsque le suivi de l'étude et le nombre de cas de cancer du sein dans

cette sous-population le permettront, d'analyser chaque classe de traitement antidiabétique en relation avec le risque de cancer du sein.

CONCLUSION

Les données de la cohorte E3N permettent l'étude détaillée de nombreuses problématiques de santé publique. Elles permettent ainsi de mettre en lumière un ensemble de facteurs de risque de pathologies chroniques comme celles qui nous intéressent dans cette thèse, à savoir le cancer du sein et le diabète de type II. La variété du type d'information – sur les habitudes alimentaires, les caractéristiques anthropométriques, l'exposition aux hormones, les traitements utilisés - permet la prise en compte de nombreux facteurs de confusion dans l'estimation des risques. Bénéficier d'une information aussi variée sur une si grande population, avec un suivi d'une vingtaine d'années, nous a également permis d'évaluer des risques dans des sous-populations particulières, rarement analysées auparavant dans la littérature. Que ce soit dans le volet alimentaire ou dans celui concernant l'obésité et le syndrome métabolique, ce travail de thèse a confirmé certains facteurs de risque de cancer du sein et de diabète de type II, et mis en évidence des associations inédites avec ces deux pathologies.

Section 1. Principaux résultats

Parmi les principaux résultats de cette thèse on peut tout d'abord mentionner l'effet de l'alcool sur le **risque de cancer du sein**. Nous avons confirmé les résultats des études existantes en ce qui concerne le risque associé à la quantité d'alcool pur ingéré, et nous avons pu, grâce aux détails des données alimentaires de la cohorte E3N, préciser cette association selon le type de boisson consommée. Il est apparu que le **sur-risque associé à une consommation d'alcool** n'est visible que pour la consommation de vin/champagne en postménopause. Pour le **risque de diabète**, nous avons là-aussi, en accord avec la littérature, retrouvé **une association en « U » pour l'alcool pur**, qui semble imputable uniquement à la consommation de vin/champagne. Une consommation modérée de ce type d'alcool (moins d'un verre par jour) diminuerait le risque de diabète. En revanche le risque serait augmenté pour une consommation élevée d'apéritifs (au-delà d'un verre par jour).

Si les consommations de café, de thé ou de caféine ne sont pas associées au risque de cancer du sein, quelles que soient les quantités consommées, **des**

consommations importantes de café et de caféine (plus de 3 tasses de café par jour ou plus de 262 mg/jr de caféine) sont en revanche associée à une diminution du risque de diabète.

La consommation de viande n'est pas associée au risque de cancer du sein, sauf en postménopause pour les cancers du sein ER+/PR+, où nous observons une association en « U inversé », à savoir qu'une consommation modérée de viande augmente le risque. De plus, une consommation élevée de viande totale ou rouge est associé à une augmentation du risque de cancer ER-/PR-. Pour le risque de diabète, nous avons repris des analyses déjà effectuées au sein de l'équipe, qui montrent qu'une consommation élevée de viande préparée industriellement est associée à un sur-risque de diabète, alors que la consommation de viande rouge est associée à une diminution de risque.

L'ensemble de l'étude sur les **apports en vitamine D** alimentaire et sur le taux sanguin de vitamine 25(OH)D3 révèlent **qu'une majorité de la population de la cohorte E3N était en carence par rapport aux seuils de recommandations en vigueur**, et qu'une augmentation du taux de vitamine D, associée à une exposition solaire adéquate, **pourrait être bénéfique pour le risque de cancer du sein**. En revanche, l'étude entre la vitamine D et le **risque de diabète**, qui a porté uniquement sur les apports alimentaires, a **mis en évidence un sur-risque associé à une grande consommation de vitamine D**, ce qui va à l'encontre des études existantes sur le sujet. La création d'une étude cas-témoin nichée dans la cohorte pour évaluer le risque de diabète permettra de quantifier l'association avec le taux sérique de vitamine D et confirmera ou infirmera les résultats alimentaires.

S'agissant de l'impact de certaines composantes du syndrome métabolique sur le risque de cancer du sein, nos analyses ont permis de mettre en évidence que, **à la différence du diabète, un taux de cholestérol élevé n'était pas associé à un sur-risque de cancer du sein**. En revanche, **la prise d'un traitement hypolipidémiant serait associée à une diminution du risque de cancer du sein**.

La question de l'obésité a été évaluée à l'aide de divers facteurs anthropométriques. S'il est établi que **le risque de diabète de type 2 est fortement augmenté pour les femmes ayant un IMC ou un tour de taille élevé**, il fallait encore statuer sur ces associations vis-à-vis du cancer du sein. On sait aussi qu'un

ratio tour de taille/tour de hanche élevé est associé à un sur-risque de diabète. Le tour de taille élevé est l'une des composantes du syndrome métabolique et est lié à un sur-risque de diabète de type II. **L'association négative en préménopause et positive en postménopause entre l'IMC et le risque de cancer du sein a été confirmée sur nos données.** Cependant, on a montré que l'augmentation de risque en postménopause avec un IMC élevé ne serait apparente que sur les **cancers du sein de type ER+/PR+**. Aucune influence du tour de taille ou du ratio tour de taille/tour de hanche n'a été observée. Par contre, nous avons pu, et ce pour la première fois à notre connaissance, mettre en évidence des associations pour les cancers du sein en préménopause et les cancers de type ER-/PR-. Ainsi un **tour de hanche élevé serait fortement associé à un sur-risque de cancer du sein ER+/PR+ ou ER-/PR-, en préménopause** uniquement. Ce dernier résultat est particulièrement encourageant puisqu'il a mis en avant un facteur de risque fort pour ce type de cancer, pour lequel les connaissances étiologiques sont encore limitées du fait d'un trop faible nombre de ces cancers dans les études existantes.

Section 2. Perspectives de recherche

Les travaux de cette thèse ont mis en lumière la complexité des associations entre les facteurs d'exposition étudiés et les risques de cancer du sein et de diabète. Mais ces travaux ont également soulevé un certain nombre de questions qui devront faire l'objet d'études approfondies à l'avenir.

En premier lieu, nous allons constituer une étude cas-témoin nichée dans la cohorte, à partir des cas de diabète, afin d'évaluer l'influence de la vitamine 25(OH)D3. Les résultats issus d'une telle étude permettront de comprendre les mécanismes d'action de la vitamine D sanguine sur le risque de diabète de type II. De même, la question des effets des compléments en vitamine D (et en calcium) qui est en suspens, sera étudiée à partir des informations sur le type de complément, la dose et la fréquence d'utilisation, qui n'étaient pas disponibles pour le présent travail. On pourrait également envisager d'effectuer un dosage de la vitamine D2, en complément de la vitamine 25(OH)D3, afin d'étudier conjointement ces deux formes de vitamine D. Cela est motivée par le fait que certains compléments alimentaires en vitamine D sont constitués de 25(OH)D2 et non de D3.

Pour l'intégralité des études alimentaires, l'allongement du suivi postérieurement à Q8, va permettre de prendre en compte l'information alimentaire, considérée uniquement à Q3 à l'heure actuelle. Une mise à jour grâce à Q8, le second questionnaire alimentaire, permettra d'estimer plus précisément les habitudes alimentaires des femmes au cours du suivi - 12 années séparent les deux questionnaires alimentaires - et ainsi évaluer plus finement les relations.

La diminution de risque de cancer du sein associée à la prise d'un traitement hypolipidémiant, mise en évidence dans ce travail de thèse, devrait encourager d'autres études prospectives pour analyser les associations par type de traitement (en particulier les statines). De même, l'influence des traitements antidiabétiques contenant de la metformine sur le risque de cancer du sein a été suggérée dans la littérature, mais peu d'études prospectives existent à ce sujet. Pour répondre à ces problématiques dans le futur, la base de données sur les remboursements des médicaments prescrits aux femmes de la cohorte permettra d'identifier l'utilisation d'un type de traitement en particulier. Cette base de données n'étant disponible qu'à partir de 2004, il sera nécessaire, pour étudier de manière prospective l'association entre la prise de statine ou de metformine et le risque de cancer du sein, de bénéficier d'un suivi suffisant après 2004 et ainsi disposer d'une puissance statistique convenable et donc d'un nombre de cas de cancer du sein assez conséquent sur cette période. Cet allongement de la durée de suivi et du nombre de cas permettra en particulier une réévaluation du lien entre le statut diabétique et le risque de cancer du sein subséquent.

Section 3. Discussion générale, en termes de Santé Publique

Le premier enseignement que nous pouvons tirer de ce travail de thèse est que les risques de cancer du sein et de diabète de type II sont tous deux associés à des facteurs communs, mais qui parfois le sont dans des sens ou à des seuils différents. Si l'on essaye de dresser un bilan, facteur d'exposition par facteur d'exposition, et d'équilibrer la balance bénéfiques/risques entre les deux pathologies, il peut s'avérer difficile de proposer un consensus et des recommandations de santé publique. Mais on pourrait néanmoins, au vu de nos résultats et de la littérature

existante, suggérer dans le cadre de la prévention primaire du cancer du sein et du diabète de type II :

- une consommation d'alcool inférieure à 1 verre par jour,
- une consommation de café de l'ordre de 3 tasses par jour,
- une consommation modérée de viande rouge ou blanche,
- une limitation de la consommation de viande préparée industriellement,
- une alimentation riche en vitamine D et une exposition solaire modérée (dans la limite des recommandations liées au risque de cancer de la peau).

Ajoutée à une alimentation équilibrée, on ne peut également qu'encourager une activité physique régulière, afin de préserver un IMC ou un tour de hanche le plus faible possible. Les campagnes de santé publique comme le Programme National Nutrition Santé (PNNS, www.mangerbouger.fr) seraient à développer et à évaluer, puisque les preuves des risques encourus en cas de mauvaise alimentation et de sédentarité s'accumulent.

ANNEXE

Tableaux

Tableau 34 : Caractéristique des cas de cancer du sein dont l'information sur le statut des récepteurs hormonaux est manquante.

Variables	Information sur le statut des récepteurs hormonaux des cas de cancer du sein	
	Manquante N=531	Valide N=1 887
	Moyenne (Ecart-type)	
Poids	61,1 (9,16)	60,8 (9,4)
Taille	162,1 (5,8)	162,2 (5,7)
IMC	23,3 (3,3)	23,1 (3,3)
Tour de taille	76,3 (8,3)	76,1 (8,9)
Tour de hanche	97,1 (8,0)	97,1 (8,1)
Rapport TT/TH	0,79 (0,1)	0,78 (0,1)
Age	55,3 (6,5)	54,5 (6,3)
Activité Physique totale	49,1 (38,8)	50,9 (30,6)
Nombre d'enfants	1,9 (1,1)	1,9 (1,1)
Age au premier enfant	25,0 (3,9)	25,0 (4,2)
Age aux premières règles	12,7 (1,4)	12,7 (1,3)
	%	
Niveau d'étude		
Bac ou plus	86,7	85,6
Avant Bac	13,3	14,4
Antécédents familiaux de cancer du sein		
Aucun	83,1	82,1
Au moins un	16,9	17,9
Prise de contraceptif oral		
Jamais	39,5	39
Déjà	60,5	61
Antécédents personnels de mastopathie bénigne		
Non	61,1	59,3
Oui	38,9	40,7
Statut ménopausique		
Préménopause	32,1	34,1
Postménopause	67,9	65,9
Utilisation d'un THM		
Non	59,8	55,7
Oui	40,2	44,3

Tableau 35 : Risques relatifs de cancer du sein en postménopause selon la prise de THM

Utilisation d'un THM	Déjà				Jamais			
	N	RR	IC 95%	P	N	RR	IC 95%	P
Alcool (verre/semaine)								
NC	169	1	référence		71	1	référence	
<1	203	1,07	[0,87 - 1,31]	0,01	73	1,12	[0,80 - 1,57]	0,36
1-3	245	1,01	[0,82 - 1,22]		101	1,31	[0,96 - 1,80]	
3-5	184	1,03	[0,83 - 1,27]		57	1,07	[0,74 - 1,54]	
5-7	149	1,12	[0,89 - 1,40]		56	1,53	[1,06 - 2,21]	
>7	718	1,14	[0,93 - 1,40]		208	1,19	[0,84 - 1,69]	
Bière/cidre								
NC	1050	1	référence		383	1	référence	
<1	353	1,06	[0,93 - 1,20]	0,56	104	0,89	[0,71 - 1,12]	0,21
1-3	160	1,20	[1,01 - 1,43]		39	0,94	[0,66 - 1,32]	
3-5	47	1,12	[0,84 - 1,51]		16	1,13	[0,67 - 1,87]	
5-7	22	0,98	[0,64 - 1,50]		8	1,35	[0,66 - 2,74]	
>7	36	1,16	[0,82 - 1,63]		16	1,57	[0,92 - 2,67]	
Vin/Champagne								
NC	322	1	référence		123	1	référence	
<1	255	1,06	[0,89 - 1,25]	0,86	107	1,4	[1,04 - 1,96]	0,47
1-3	317	1,06	[0,91 - 1,24]		113	1,14	[0,93 - 1,74]	
3-5	184	1,12	[0,93 - 1,34]		78	1,49	[1,12 - 2,34]	
5-7	173	1,08	[0,90 - 1,30]		29	1,24	[0,87 - 1,83]	
>7	417	1,04	[0,84 - 1,27]		116	1,03	[0,73 - 1,63]	
Alcools forts (Whisky, Gin, Vodka...)								
NC	1235	1	référence		356	1	référence	
<1	299	1,11	[0,98 - 1,25]	0,59	103	1,09	[0,88 - 1,35]	0,36
1-3	96	0,99	[0,86 - 1,15]		79	0,99	[0,77 - 1,29]	
3-5	23	1,05	[0,84 - 1,30]		16	0,97	[0,64 - 1,49]	
5-7	5	0,86	[0,61 - 1,23]		4	0,57	[0,23 - 1,40]	
>7	10	0,93	[0,71 - 1,22]		8	0,69	[0,37 - 1,26]	
Apéritifs (Muscat, Porto, Vermouth...)								
NC	685	1	référence		237	1	référence	
<1	605	0,97	[0,87 - 1,08]	0,35	205	1,08	[0,77 - 1,20]	0,69
1-3	288	1,08	[0,94 - 1,24]		97	1,27	[0,85 - 1,52]	
3-5	52	1,01	[0,76 - 1,35]		15	1,06	[0,51 - 1,86]	
5-7	17	1,01	[0,63 - 1,64]		7	2,04	[0,87 - 4,06]	
>7	21	1,15	[0,73 - 1,79]		5	0,77	[0,26 - 1,99]	

* P : test de tendance en incluant la valeur médiane de chaque catégorie comme une variable continue

Article 1 :

Fagherazzi G, Touillaud MS, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F.
*No association between coffee, tea and caffeine intake and breast cancer risk in
the prospective E3N cohort.*

Public Health Nutrition 2011 Apr 5:1-6

No association between coffee, tea or caffeine consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study

Guy Fagherazzi^{1,2}, Marina S Touillaud^{1,2}, Marie-Christine Boutron-Ruault^{1,2},
Françoise Clavel-Chapelon^{1,2,*} and Isabelle Romieu³

¹INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale), Center for Research in Epidemiology and Population Health (CESP), U1018, Institut de cancérologie Gustave-Roussy, 114 rue Edouard Vaillant, F-94805 Villejuif, France; ²Paris-South University, UMRS 1018, Villejuif, France; ³National Institute of Public Health, Mexico, DF, Mexico

Submitted 20 July 2010; Accepted 24 January 2011

Abstract

Objective: Numerous mechanisms for the effects of coffee, tea and caffeine on the risk of breast cancer have been suggested. Caffeine intake has already been associated with high plasma levels of female hormones, but associations have not been clearly demonstrated in epidemiological studies.

Design: We examined prospectively the association of coffee, tea and caffeine consumption with breast cancer risk in a French cohort study.

Setting: Dietary information was obtained from a 208-item diet history questionnaire self-administered in 1993–1995. Multivariable Cox proportional hazards regression models were used to estimate hazards ratios and 95% confidence intervals.

Subjects: The study was conducted on 67 703 women with available dietary information. During a median follow-up of 11 years, 2868 breast cancer cases were diagnosed.

Results: Median intake was 280 ml/d (2.2 cups/d) for coffee and 214 ml/d (1.7 cups/d) for tea. Median caffeine intake was 164 mg/d. No association was found between consumption of coffee, tea or caffeine and breast cancer risk. Sub-analyses by tumour receptor status, menopausal status, type of coffee (regular or decaffeinated) and meals at which beverages were drunk led to the same conclusion.

Conclusions: Results from this prospective study showed no relationship between coffee, tea or caffeine intake and breast cancer risk overall or by hormone receptor status.

Keywords
Coffee
Tea
Caffeine
Breast cancer risk
Cohort
Cox model

Numerous mechanisms for the effects of coffee, tea and caffeine on the risk of breast cancer have been suggested. For instance, caffeine intake has been associated with high plasma levels of female hormones^(1,2). In epidemiological studies consumption of coffee, tea and caffeine has been hypothesized to either increase or decrease the risk of developing breast cancer^(3–9), but associations have not been clearly demonstrated. A recent meta-analysis found no association after summarizing results from cohort and case-control studies⁽¹⁰⁾. However, two major cohort studies showed a possible increased risk in post-menopausal women who drank more than 4 cups of coffee daily⁽⁷⁾ and in women with tumours that were either negative for oestrogen- and progesterone-receptor status or larger than 2 cm⁽¹¹⁾. In contrast, a recent review evoked a slight beneficial effect of high consumption of coffee on premenopausal breast cancer risk⁽¹²⁾. This potential relationship remains to be evaluated in a large prospective cohort with detailed dietary information.

Experimental methods

The design of the Etude Epidémiologique auprès des Femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale (E3N) cohort has been described previously⁽¹³⁾. Briefly, the cohort is composed of 98 995 women living in France who were between 40 and 65 years of age at the time of recruitment in 1990 and insured by the national health insurance system primarily covering teachers. Demographic, anthropometric, reproductive, lifestyle and medical data were collected in self-administered questionnaires sent at baseline and then biennially for follow-up. Usual diet over the previous year was assessed using a 208-item dietary history questionnaire sent out in 1993, developed and validated for the French population⁽¹⁴⁾. Portion sizes were estimated using a photo album, also validated⁽¹⁵⁾; for coffee and tea, six different cup sizes could be selected at each meal (70, 150, 200, 250, 300 or 400ml) and were then converted into standardized

125 ml cups/d for the analysis. Food consumption was converted into nutrient intakes by means of a food composition table derived from the French national food composition table. We estimated the average daily caffeine intake by computing the consumption of all food sources of caffeine and the caffeine content found in the literature for these foods; in our study, the caffeine contents were 72.8 mg/125 ml coffee, 13.8 mg/125 ml tea, 16.1 mg/125 ml chicory beverage, 17.6 mg/330 ml cola, 2.1 mg/30 g chocolate candy and 17.8 mg/30 g plain chocolate.

Women with complete dietary data, with no history of cancer (except for skin basal cell carcinoma, breast lobular carcinoma *in situ* or colorectal cancer *in situ*) and with follow-up after the dietary questionnaire were selected for the present analysis. Women with extreme, physiologically implausible dietary values (i.e. in the bottom or top 1% of the ratio between energy intake and required energy calculated after taking into account age, weight and height) were excluded, leaving 67 703 women for analysis.

Participants contributed person-years of follow-up starting from the date at which they had completed the dietary questionnaire up to the date of diagnosis of invasive breast cancer as first primary cancer (for cases), date of diagnosis of another cancer, date of the last completed questionnaire or July 2005, whichever came first. Because incident cases of cancer were self-reported by the women in follow-up questionnaires, pathology reports were systematically requested from patients or their doctors to confirm the diagnosis of invasive breast cancer. Histological confirmation was obtained for 96% of cases.

Statistical analyses

Multivariable Cox proportional hazards regression models were used to estimate hazards ratios (HR) of breast cancer and their 95% confidence intervals associated with the number of cups (defined as 125 ml) of coffee or tea consumed daily on average compared with none, and for each quartile of caffeine intake compared with the lowest. We also computed coffee, tea and caffeine intake per meal and analysed them separately. Sensitivity analyses were led by type of coffee (regular and decaffeinated). A standard method was used to adjust for energy in every model. Interactions were tested.

Results

Among the 67 703 women included in the present analysis, 2868 cases of invasive breast cancer (634 premenopausal and 2234 postmenopausal) were diagnosed during 707 137 person-years of follow-up between 1993 and 2005 (median duration, 11 years). Coffee was consumed by 85% (median intake, 280 ml/d, corresponding to 2.2 cups) and tea by 59% (median intake, 214 ml/d, corresponding to 1.7 cups) of the women. Median caffeine intake (69% from coffee and tea consumption) was 164 mg/d (range 0.1–724 mg/d)

among consumers (85% of the population). Baseline characteristics of the study population are presented in Table 1. Overall, similar distributions were observed for all the presented characteristics in the different categories of coffee, tea and caffeine consumption.

Coffee and tea consumption was not associated with risk of breast cancer, neither overall or according to menopausal status, oestrogen- or progesterone-receptor status, which was available for 2268 (79%) cases (Table 2). Nor was caffeine intake related to risk of breast cancer. Results remained similar when considering coffee, tea and caffeine intakes in the same model or when considering different types of coffee (regular or decaffeinated).

When we tested whether coffee, tea and caffeine intakes were differentially associated with breast cancer risk according to the time of day at which beverages were drunk, no differences were observed (data not shown).

Discussion

In the present prospective analysis we found no association between coffee, tea or caffeine consumption and risk of breast cancer, either overall or as defined by hormone receptor status subtype or menopausal status. No association was observed when considering the time of day at which coffee or tea was drunk (during meals) and when considering types of coffee (regular and decaffeinated).

Our results are in accordance with a recent cohort study in the Netherlands⁽³⁾ and a meta-analysis of nine cohort and nine case-control studies, which showed no association between coffee drinking and breast cancer risk⁽¹⁰⁾. However, two prospective studies reported an inverse association in specific subgroups. Results from the Nurses' Health Study⁽⁷⁾ showed a negative relationship between consumption of caffeine-containing beverages (coffee and tea) and postmenopausal breast cancer risk in women who drank 4 cups (1 cup = 233 ml) or more per day. In the Women's Health Study, an analysis of 38 432 women showed an increased risk of breast cancer associated with caffeine intake for tumours negative for oestrogen- and progesterone-receptor status or larger than 2 cm⁽¹¹⁾. A recent review suggested a decrease in premenopausal breast cancer risk associated with drinking at least 4 cups of coffee daily⁽¹²⁾. In our study, we found no association pre- or postmenopause, or according to hormone receptor status. This lack of association in our study might be due to an insufficient variability in daily amount of coffee consumed by the women of the cohort. Michaud *et al.*⁽¹⁶⁾ and Bhoo *et al.*⁽³⁾ have reported coffee and tea consumptions in some countries participating in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). For coffee, Denmark had the highest coffee consumption (median 900 ml/d) and Italy and Spain had the lowest (90 and 93 ml/d, respectively), whereas the median value in our population was 280 ml/d. However, in Sweden,

Table 1 Baseline characteristics of the study population: women living in France, aged 40–65 years at recruitment in 1990, E3N cohort (n 67 703)

	Coffee (cups/d)						Tea (cups/d)						Caffeine (mg/d)											
	≤1		1-1-3		>3		Non-consumers		≤1		1-1-3		>3		<88		88-163		164-262		>262			
	Median	so	Median	so	Median	so	Median	so	Median	so	Median	so	Median	so	Median	so	Median	so	Median	so	Median	so		
Non-consumers (n 9963)	51-8	6-8	52-6	6-9	52-0	6-7	50-4	6-2	51-7	6-7	51-8	6-6	51-4	6-6	51-1	6-5	52-4	6-9	52-3	6-8	51-4	6-5	50-2	6-1
Age (years)	13-0	1-4	13-0	1-4	13-0	1-4	13-0	1-4	13-0	1-4	13-0	1-4	13-0	1-4	13-0	1-4	13-0	1-4	13-0	1-4	13-0	1-4	13-0	1-4
Age at menarche (years)	24-0	3-9	24-0	3-9	24-0	3-7	24-0	3-8	24-0	3-7	24-0	3-8	24-0	3-8	24-0	3-8	24-0	3-8	24-0	3-8	24-0	3-7	24-0	3-8
Age at first pregnancy (years)	51-0	3-8	51-0	3-8	51-0	3-7	51-0	3-7	51-0	3-8	51-0	3-7	51-0	3-7	51-0	3-7	51-0	3-8	51-0	3-7	51-0	3-7	51-0	3-7
Age at menopause (years)	2-0	1-1	2-0	1-2	2-0	1-1	2-0	1-1	2-0	1-2	2-0	1-1	2-0	1-1	2-0	1-1	2-0	1-2	2-0	1-1	2-0	1-1	2-0	1-1
Number of children	21-9	3-2	22-1	3-2	22-4	3-2	22-6	3-4	22-6	3-4	22-3	3-2	22-2	3-1	22-0	3-0	22-1	3-3	22-3	3-2	22-4	3-2	22-6	3-4
BMI (kg/m ²)	2067	580	2085	567	2107	561	2168	593	2094	582	2169	576	2115	564	2095	567	2055	567	2087	559	2128	567	2185	598
Total energy intake (kcal/d)	8648	2427	8724	2372	8816	2347	9071	2481	8761	2435	9075	2410	8849	2360	8765	2372	8598	2372	8774	2339	8904	2372	9142	2502
Total energy intake (kJ/d)	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Schooling	14-7	14-7	15-2	15-2	15-2	15-1	15-1	15-1	18-5	18-5	14-2	14-2	13-0	13-0	10-6	10-6	15-8	15-8	15-4	15-4	14-4	14-4	14-5	14-5
Undergraduate	69-7	66-2	67-1	67-1	67-1	67-6	67-6	67-6	67-6	67-6	67-8	67-8	68-1	68-1	65-9	65-9	68-5	68-5	66-3	66-3	67-6	67-6	67-3	67-3
Graduate	15-6	19-1	17-7	17-7	17-7	17-3	17-3	13-9	13-9	18-0	18-0	18-9	18-9	23-5	23-5	15-7	15-7	18-3	18-3	18-0	18-0	18-0	18-2	18-2
Postgraduate	41-6	42-0	39-2	39-2	39-2	35-6	35-6	42-4	42-4	57-6	57-6	64-4	64-4	64-4	64-4	64-4	64-4	64-4	64-4	64-4	64-4	64-4	64-4	64-4
Ever use of oral contraceptives	58-4	58-0	60-8	60-8	60-8	60-8	60-8	60-8	60-8	60-8	60-7	60-7	63-4	63-4	66-5	66-5	56-3	56-3	59-7	59-7	62-7	62-7	65-3	65-3
No	69-7	67-2	67-8	67-8	67-8	71-4	71-4	70-3	70-3	68-5	68-5	68-5	68-1	68-1	67-7	67-7	68-4	68-4	67-4	67-4	68-4	68-4	71-8	71-8
Yes	30-3	32-8	32-2	32-2	32-2	28-6	28-6	29-7	29-7	31-5	31-5	31-5	31-9	31-9	32-3	32-3	31-6	31-6	32-6	32-6	31-6	31-6	28-2	28-2
Current use of hormone replacement therapy	70-4	71-8	71-9	71-9	71-9	71-2	71-2	71-9	71-9	71-0	71-0	71-8	71-8	70-7	70-7	71-4	71-4	28-6	28-6	28-1	28-1	28-6	28-6	29-1
No	29-6	28-2	28-1	28-1	28-1	28-8	28-8	28-1	28-1	28-1	29-0	29-0	28-2	28-2	29-3	29-3	28-6	28-6	28-1	28-1	28-6	28-6	29-1	29-1
Yes	88-4	88-0	88-3	88-3	88-3	88-4	88-4	88-6	88-6	88-2	88-2	88-0	88-0	87-9	87-9	88-2	88-2	88-0	88-0	88-0	88-0	88-5	88-5	88-3
Personal history of benign breast disease	11-6	12-0	11-7	11-7	11-7	11-6	11-6	11-4	11-4	11-8	11-8	12-0	12-0	12-1	12-1	11-8	11-8	12-0	12-0	11-5	11-5	11-5	11-7	11-7
History of breast cancer in the family	42-1	39-2	40-5	40-5	40-5	47-2	47-2	41-5	41-5	41-9	41-9	42-9	42-9	44-7	44-7	39-3	39-3	39-9	39-9	42-6	42-6	48-1	48-1	48-1
Menopausal status	57-9	60-8	59-5	59-5	59-5	52-8	52-8	58-5	58-5	58-1	58-1	57-1	57-1	55-3	55-3	60-7	60-7	60-1	60-1	57-4	57-4	57-4	51-9	51-9
Premenopause																								
Postmenopause																								

Table 2 Multivariable hazards ratios and 95 % confidence intervals for invasive breast cancer according to coffee and tea consumption and caffeine intake: E3N cohort (n 67 703 women), 1993–2005

Beverage	Median daily intake	Hormone receptor status of the tumour															
		All				ER ⁺ /PR ⁺				ER ⁺ /PR ⁻				ER ⁻ /PR ⁻			
		Cases	HR	95 % CI		Cases	HR	95 % CI		Cases	HR	95 % CI		Cases	HR	95 % CI	
Coffee																	
Non-consumers	0	410	1.00	Reference	179	1.00	Reference	65	1.00	Reference	21	1.00	Reference	61	1.00	Reference	
≤1 cup/d	70ml	491	1.02	0.91, 1.15	233	1.00	0.84, 1.20	78	0.87	0.65, 1.16	19	0.88	0.48, 1.61	51	0.67	0.47, 0.95	
1-1-3 cups/d	240ml	1133	0.98	0.85, 1.11	529	1.04	0.90, 1.21	183	0.94	0.74, 1.20	36	0.74	0.44, 1.25	147	0.87	0.66, 1.15	
>3 cups/day	540ml	834	1.02	0.90, 1.16	379	0.98	0.85, 1.20	156	1.05	0.83, 1.34	24	0.66	0.39, 1.12	105	0.81	0.61, 1.07	
<i>P</i> for trend†			0.79			0.57			0.05			0.10			0.62		
Tea																	
Non-consumers	0	1153	1.00	Reference	542	1.00	Reference	197	1.00	Reference	34	1.00	Reference	160	1.00	Reference	
≤1 cup/d	33ml	652	0.97	0.84, 1.18	275	0.89	0.92, 1.23	115	1.01	0.81, 1.27	29	1.52	0.94, 2.44	78	0.84	0.64, 1.10	
1-1-3 cups/d	250ml	525	1.01	0.89, 1.15	257	1.06	0.92, 1.23	81	0.90	0.70, 1.16	18	1.17	0.67, 2.04	59	0.81	0.60, 1.08	
>3 cups/day	586ml	538	0.79	0.62, 1.01	246	0.93	0.82, 1.06	89	0.87	0.70, 1.09	19	1.10	0.69, 1.79	67	0.78	0.60, 1.01	
<i>P</i> for trend†			0.22			0.19			0.92			0.83			0.63		
Caffeine																	
<88 mg/d	48mg	698	1.00	Reference	320	1.00	Reference	102	1.00	Reference	32	1.00	Reference	91	1.00	Reference	
88-163 mg/d	125mg	722	1.01	0.93, 1.11	335	1.00	0.88, 1.15	129	1.14	0.90, 1.19	27	0.92	0.58, 1.15	84	0.91	0.70, 1.15	
164-262 mg/d	207mg	733	1.04	0.94, 1.15	339	1.03	0.89, 1.19	124	1.15	0.90, 1.19	19	0.60	0.34, 1.19	96	1.04	0.79, 1.19	
>262 mg/d	351mg	715	1.02	0.93, 1.13	326	0.99	0.86, 1.16	127	1.20	0.94, 1.16	22	0.66	0.39, 1.16	93	1.01	0.77, 1.16	
<i>P</i> for trend†			0.36			0.65			0.10			0.15			0.40		

ER⁺, positive oestrogen receptor; ER⁻, negative oestrogen receptor; PR⁺, positive progesterone receptor; PR⁻, negative progesterone receptor.

*Multivariable hazards ratios and 95 % confidence intervals calculated by Cox proportional hazards regression models using age as the time scale and adjusted for baseline variables (total energy intake, ever use of oral contraceptives, age at menarche, age at menopause, number of children, age at first pregnancy, history of breast cancer in the family and years of schooling) and time-dependent variables (current use of postmenopausal hormone therapy (for postmenopausal women only), personal history of benign breast disease, menopausal status and BMI).

†1 cup = 125 ml.

‡†Test for linear trend using median values in each quartile as an ordinal variable.

where coffee is largely consumed, a cohort study did not find any association regarding breast cancer risk⁽⁵⁾. Women in France consumed more coffee than women in the USA: in 1989, the mean daily consumption of coffee was 1.4 cups (same standardization) daily in US women⁽¹⁷⁾ whereas in our analysis in 1993, women drank a median of 2.2 cups/d. For tea, our population had a median value of 214 ml/d and was among the highest tea consumers in EPIC; only the UK, Denmark and the Netherlands had higher median values (532, 309 and 261 ml/d, respectively)^(3,16).

Results in the literature on tea consumption and breast cancer risk are inconsistent. While most cohort studies reported no significant association between overall tea consumption and breast cancer risk^(7,18,19), one study suggested that black tea may be positively associated with risk of tumours having positive oestrogen- and progesterone-receptor status⁽⁵⁾. Other case-control studies suggested a negative association for green tea in China^(20,21). In our study in a French population, we found no association between tea consumption and breast cancer risk. Although the type of tea drunk was not available in our data, it is reasonable to assume that it was mostly black tea, traditionally consumed in France.

To explain a potential association between coffee and tea consumption and risk of breast cancer, considered an oestrogen-dependent disease, hypotheses regarding the effects of compounds of the methylxanthine family, including caffeine, have been proposed. Caffeine has been associated with increasing blood levels of oestrone, sex-hormone-binding globulin and decreasing plasma free oestradiol⁽²²⁾, and all of these factors are associated with reduced oestrogenic exposure of breast cells⁽¹¹⁾. Moreover, in experimental studies, caffeine was suggested to both stimulate and suppress the development of mammary tumours⁽²³⁾. Other components of coffee and tea have antioxidant properties (e.g. polyphenols).

Caffeine may differentially affect glucose metabolism as a negative relationship between caffeine intake and glucose absorption, glucose hepatic output and glucose storage has been shown^(24,25). Therefore it might be hypothesized that its effects differ according to the time of day at which the beverage is drunk, thereby potentially affecting breast cancer risk⁽²⁶⁾. However, our data did not confirm this hypothesis.

In conclusion, our prospective study showed no association between coffee, tea or caffeine consumption and breast cancer risk.

Acknowledgements

The E3N study receives financial support from the 'Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale', the European Community, the French League against Cancer, the Institut Gustave Roussy and the French Institute of Health and

Medical Research (INSERM). G.F. was supported by the French Ministry of Research. The present study was also supported by the 'Association pour la Recherche sur le Cancer'. The study sponsors had no role in the design of the study, analysis or interpretation of the data, writing of the manuscript, or the decision to submit the manuscript for publication. The authors declare that they have no conflict of interest. G.F., M.S.T., I.R. and F.C.-C. designed the analysis plan. G.F. performed the statistical analysis and wrote the manuscript. M.S.T., I.R., M.-C.B.-R. and F.C.-C. revised the manuscript critically. The authors are indebted to all participants for providing data used in the E3N study and to practitioners for providing pathology reports. They are grateful to R. Chaït, M. Fangon, I. Hoang and M. Niravong for technical assistance, to Jerri Bram for her assistance with the English, and to the E3N group.

References

1. Nagata C, Kabuto M & Shimizu H (1998) Association of coffee, green tea, and caffeine intakes with serum concentrations of estradiol and sex hormone-binding globulin in premenopausal Japanese women. *Nutr Cancer* **30**, 21–24.
2. Ferrini RL & Barrett-Connor E (1996) Caffeine intake and endogenous sex steroid levels in postmenopausal women. The Rancho Bernardo Study. *Am J Epidemiol* **144**, 642–644.
3. Bhoo PN, Peeters P, van Gils C *et al.* (2010) Coffee and tea intake and risk of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **121**, 461–467.
4. Arab L (2010) Epidemiologic evidence on coffee and cancer. *Nutr Cancer* **62**, 271–283.
5. Larsson SC, Bergkvist I & Wolk A (2009) Coffee and black tea consumption and risk of breast cancer by estrogen and progesterone receptor status in a Swedish cohort. *Cancer Causes Control* (Epublication ahead of print version).
6. Bissonauth V, Shatenstein B, Fafard E *et al.* (2009) Risk of breast cancer among French-Canadian women, noncarriers of more frequent BRCA1/2 mutations and consumption of total energy, coffee, and alcohol. *Breast J* **15**, Suppl. 1, S63–S71.
7. Ganmaa D, Willett WC, Li TY *et al.* (2008) Coffee, tea, caffeine and risk of breast cancer: a 22-year follow-up. *Int J Cancer* **122**, 2071–2076.
8. Hirvonen T, Mennen LI, de Bree A *et al.* (2006) Consumption of antioxidant-rich beverages and risk for breast cancer in French women. *Ann Epidemiol* **16**, 503–508.
9. Vatten LJ, Solvoll K & Loken EB (1990) Coffee consumption and the risk of breast cancer. A prospective study of 14,593 Norwegian women. *Br J Cancer* **62**, 267–270.
10. Tang N, Zhou B, Wang B *et al.* (2009) Coffee consumption and risk of breast cancer: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* **200**, 290–299.
11. Ishitani K, Lin J, Manson JE *et al.* (2008) Caffeine consumption and the risk of breast cancer in a large prospective cohort of women. *Arch Intern Med* **168**, 2022–2031.
12. Nkondjock A (2009) Coffee consumption and the risk of cancer: an overview. *Cancer Lett* **277**, 121–125.
13. Tehard B, Friedenreich CM, Oppert JM *et al.* (2006) Effect of physical activity on women at increased risk of breast cancer: results from the E3N cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **15**, 57–64.
14. van Liere MJ, Lucas F, Clavel F *et al.* (1997) Relative validity and reproducibility of a French dietary history questionnaire. *Int J Epidemiol* **26**, Suppl. 1, S128–S136.

15. Lucas F, Niravong M, Kaaks R *et al.* (1995) Estimation of food portion size using photographs: relative validity, strengths, weaknesses and recommendations. *J Hum Nutr Diet* **8**, 65–74.
16. Michaud DS, Gallo V, Schlehofer B *et al.* (2010) Coffee and tea intake and risk of brain tumors in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort study. *Am J Clin Nutr* **92**, 1145–1150.
17. The National Coffee Association Coffee (2008) Drinking Trends Survey Data.
18. Goldbohm RA, Hertog MG, Brants HA *et al.* (1996) Consumption of black tea and cancer risk: a prospective cohort study. *J Natl Cancer Inst* **88**, 93–100.
19. Michels KB, Holmberg L, Bergkvist L *et al.* (2002) Coffee, tea, and caffeine consumption and breast cancer incidence in a cohort of Swedish women. *Ann Epidemiol* **12**, 21–26.
20. Sartippour MR, Pietras R, Marquez-Garban DC *et al.* (2006) The combination of green tea and tamoxifen is effective against breast cancer. *Carcinogenesis* **27**, 2424–2433.
21. Zhang M, Holman CD, Huang JP *et al.* (2007) Green tea and the prevention of breast cancer: a case-control study in Southeast China. *Carcinogenesis* **28**, 1074–1078.
22. Kotsopoulos J, Eliassen AH, Missmer SA *et al.* (2009) Relationship between caffeine intake and plasma sex hormone concentrations in premenopausal and postmenopausal women. *Cancer* **115**, 2765–2774.
23. Wolfrom D & Welsch CW (1990) Caffeine and the development of normal, benign and carcinomatous human breast tissues: a relationship? *J Med* **21**, 225–250.
24. Scalbert A, Manach C, Morand C *et al.* (2005) Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* **45**, 287–306.
25. Greer F, Hudson R, Ross R *et al.* (2001) Caffeine ingestion decreases glucose disposal during a hyperinsulinemic-euglycemic clamp in sedentary humans. *Diabetes* **50**, 2349–2354.
26. Lajous M, Boutron-Ruault MC, Fabre A *et al.* (2008) Carbohydrate intake, glycemic index, glycemic load, and risk of postmenopausal breast cancer in a prospective study of French women. *Am J Clin Nutr* **87**, 1384–1391.

Article 2 : Engel P*, **Fagherazzi G***, Boutten A, Dupré T, Mesrine S,
Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F.
*Serum 25(OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study
from the French E3N cohort.*
Cancer Epidemiol Biomarkers rev. 2010 Sep;19(9):2341-50. (1^{er} coauteurs)

Serum 25(OH) Vitamin D and Risk of Breast Cancer: A Nested Case-Control Study from the French E3N Cohort

Pierre Engel^{1,2}, Guy Fagherazzi^{1,2}, Anne Boutten³, Thierry Dupré³, Sylvie Mesrine^{1,2}, Marie-Christine Boutron-Ruault^{1,2}, and Françoise Clavel-Chapelon^{1,2}

Abstract

Background: High 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] serum concentrations have been found to be associated with reduced breast cancer risk. However, few studies have further investigated this relationship according to menopausal status, nor have they taken into account factors known to influence vitamin D status, such as dietary and serum calcium, parathyroid hormone, and estradiol serum levels.

Methods: We designed a nested case-control study within the French E3N cohort. Cases were women diagnosed with incident breast cancer ($n = 636$). Controls ($n = 1,272$) were matched with cases on age, menopausal status at blood collection, age at menopause, and center and year of blood collection. Multivariate logistic regression models were established.

Results: We found a decreased risk of breast cancer with increasing 25(OH) vitamin D₃ serum concentrations (odds ratio, 0.73; 95% confidence interval, 0.55-0.96; P trend = 0.02) among women in the highest tertile. We also observed a significant inverse association restricted to women under 53 years of age at blood sampling [odds ratio (T₃ versus T₁), 0.60; 95% confidence interval, 0.37-0.98; P trend = 0.04]. In premenopausal women, the risk was also decreased, although not significantly.

Conclusion: Our findings support a decreased risk of breast cancer associated with high 25(OH) vitamin D₃ serum concentrations, especially in younger women, although we were unable to confirm a direct influence of age or menopausal status.

Impact: Randomized intervention trials with vitamin D supplementation are required to confirm its benefits on breast cancer risk, but the maintenance of adequate vitamin D levels should be encouraged by public health policy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 19(9); 2341-50. ©2010 AACR.

Introduction

Although the relationship between vitamin D status and breast cancer risk remains unclear, a growing body of evidence suggests that high vitamin D serum concentrations are associated with reduced risk (1, 2). The two naturally occurring vitamin D forms, ergocalciferol (vitamin D₂) and cholecalciferol (vitamin D₃), can be ob-

tained from natural foods, fortified products, or supplements, and vitamin D₃ can be synthesized from 7-dehydrocholesterol in skin exposed to UVB radiation (3). After synthesis in the skin or oral intake, vitamin D is converted into 25 hydroxyvitamin D [25(OH)D] in the liver. 25 Hydroxyvitamin D₃ [25(OH)D₃] is the predominant circulating metabolite and correlates with vitamin D status (4). Then, 25(OH)D undergoes renal hydroxylation, tightly regulated by parathyroid hormone (PTH) and calcium concentrations, into the vitamin D hormone calcitriol [1,25-dihydroxyvitamin D; 1,25(OH)₂D], the biologically active metabolite. A lower proportion of 1,25(OH)₂D could also be locally synthesized in tissues, including breast tissue, for local effects (5).

Experimental studies have shown that 25(OH)D (6), calcium (7), and PTH (8) might affect tumor development. High levels of 1,25(OH)₂D in the breast might have antitumor effects through the induction of cell differentiation, inhibition of cell growth, and regulation of apoptosis in normal and malignant cells, including human breast cells (9, 10). The actions of 1,25(OH)₂D are predominantly mediated by activation of the vitamin D receptor (3), and plays a critical role in regulating intestinal calcium absorption (11); 1,25(OH)₂D and extracellular

Authors' Affiliations: ¹Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U1018, Center for Research in Epidemiology and Population Health; ²Université Paris-Sud, Villejuif Cedex, France; and ³Biochemistry Laboratory of Hospital Bichat, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Paris, France

Note: P. Engel and G. Fagherazzi contributed equally to this work.

Ethical approval: This study was approved by the ethics review board of the Inserm-U1018 research team. Participants provided written consent for the use of their blood samples and all data.

Corresponding Author: Françoise Clavel-Chapelon, Team 9: Nutrition, Hormones, and Women's Health, Center for Research in Epidemiology and Population Health—Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U1018, Institut Gustave Roussy, 39 Rue Camille Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France. Phone: 33-14211-4148; Fax: 33-14211-4000. E-mail: clavel@igr.fr

doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0264

©2010 American Association for Cancer Research.

calcium act jointly as key regulators of cell proliferation, differentiation, and function (12).

Because endogenous production after sun exposure is the main source of vitamin D (13), studies assessing the relationship between 25(OH)D serum concentrations and breast cancer risk are likely to minimize the misclassification of vitamin D exposure than those assessing the relationship between vitamin D dietary sources only. All six existing case-control studies published thus far reported a significant inverse association between serum 25(OH)D and breast cancer risk (14-19). Among six case-control studies nested in cohorts, only a recent study (20) found a statistically significant inverse association, whereas the others failed to find any association (21-25). Studies which analyzed data by menopausal status (14, 15, 17, 20-25) or age (19, 22) suggested that the effect of vitamin D on breast cancer is modulated by the hormonal milieu, a suggestion further supported by the recent finding of an association between circulating 25(OH)D and steroid hormones in young women (26).

In a case-control study nested in the French E3N (Etude Epidémiologique auprès des femmes de l'Education Nationale) prospective cohort, we investigated the risk of breast cancer in women according to baseline 25(OH)D3 serum concentrations as markers of vitamin D status, taking into account serum calcium, PTH, and steroid hormone concentrations; we also analyzed breast cancer risk according to age and menopausal status.

Materials and Methods

Study cohort

The E3N cohort includes 98,995 French women born between 1925 and 1950, and insured by a health insurance plan mainly covering teachers. Participants, who gave written informed consent for external health follow-up through the health insurer, completed self-administered questionnaires, sent every 2 to 3 years since baseline in 1990, on medical and gynecologic history, menopausal status, and a variety of lifestyle characteristics. In each questionnaire, participants were asked whether a cancer had been diagnosed, and if so, pathology reports were requested from the attending physicians. The study was approved by the French National Commission for Data Protection and Privacy. The usual diet was assessed through a validated 208-item dietary history questionnaire sent out between June 1993 and June 1995 (27). Responders to the dietary questionnaire constituted the French component of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study. Blood samples were collected between 1995 and 1998 among 24,505 E3N participants, aliquoted into plasma, serum, lymphocytes and erythrocytes, and stored in liquid nitrogen (28). Along with blood samples, we collected information on fasting status, smoking, body mass index (BMI), use of medication in the preceding 12 hours, and menopausal status. Menopausal status at the date of

blood collection was also confirmed by information requested in each questionnaire until July 2005. We defined the date of menopause as the date preceding 12 consecutive months of amenorrhea (excluding hysterectomy), the date of bilateral oophorectomy or, if not available (in decreasing order of priority), the self-reported date of menopause, the date when menopausal hormone therapy use began, the date when menopausal symptoms began, or an imputed date corresponding to age 47 if menopause was due to oophorectomy and age 51 otherwise (median ages for surgical and natural menopause in the cohort, respectively).

Population for analysis

For this case-control study nested within the E3N cohort, we selected women who completed the dietary questionnaire and who had available information on age at blood collection, date of collection, center of collection, menopausal status at collection, and fasting status at collection. This left us with a subcohort of 17,540 subjects among whom, during a follow-up period of up to 10 years from blood collection until July 2005, we identified 636 cases of incident invasive breast cancer (58 in premenopause and 578 in postmenopause). Two controls per case ($n = 1,272$) were selected (96 premenopause and 1,176 in postmenopause), matched on age (± 2 years), menopausal status (premenopausal or postmenopausal) at blood collection, age at menopause (± 2 years), study center (same among the 40 centers of collection), and date of blood collection (same year).

Analysis of 25(OH)D, calcium, PTH, estradiol, and progesterone serum concentrations

Serum samples were divided into batches of nine samples corresponding to three cases and their matched controls in random order. Analyses were done by the biochemistry laboratory of Bichat Hospital (Paris), which was blinded to the case-control status of the samples. Serum from intact human 25(OH)D3, intact human PTH 1-84, estradiol, and progesterone were measured on an Elecsys Analyser (Roche Diagnostic) by chemiluminescence immunoassay. This method very specifically determined 25(OH)D3, the predominant circulating metabolite in blood serum without interference by 25(OH)D2, and which has been found to provide results similar to those of the DiaSorin Liaison method (29), often used in studies assessing serum 25(OH)D concentrations (23, 25). Serum calcium was routinely determined on a Hitachi 911 Roche autoanalyzer. The optimal level of vitamin D and the threshold below which a person could be viewed as being deficient remains controversial. Low levels of vitamin D led to a corresponding increase in PTH levels to maintain calcium homeostasis. Because a threshold of 30 ng/mL has been suggested as being necessary to minimize deleterious health consequences in terms of both bone health and other diseases (30), 25(OH)D3 at <30 ng/mL was considered insufficient and 20 ng/mL as deficient (3) in the present article.

Statistical analysis

Seventy-five serum samples could not be used for any biological measurements either because samples were hemolyzed ($n = 7$), the volumes were insufficient ($n = 45$), or they could not be retrieved from the blood repository ($n = 23$); thus, they were all placed in a separate category.

Comparison of characteristics between cases and controls was done using χ^2 tests for categorical variables and Student's test for continuous variables. We also ran principal component analyses and correlation tests to assess variables associated with 25(OH)D3 serum concentrations. Serum 25(OH)D3 was then considered in tertiles determined from distribution among controls. We created a fourth category for missing 25(OH)D3 serum concentrations. Cases and controls were first compared with conditional logistic regression for the whole population. Odds ratios (OR) estimated the relationship between breast cancer risk and each tertile of 25(OH)D3 serum concentration in comparison with the lowest. To evaluate the crude association, we created a first model, which included only matching covariates [i.e., age at blood collection, menopausal status, age at menopause, date (same year), and center of blood collection].

Next, as potential confounders, we included BMI at blood collection (kg/m^2 , continuous), use of menopausal hormone therapy in postmenopausal women (current/past/never) at blood collection, and variables estimated from the last questionnaire filled out before blood collection: personal history of mammography (yes/no), history of breast benign disease (yes/no), family history of breast cancer (yes/no), number of children (0, 1, 2, 3+), smoking status (never, past, current), use of oral contraceptives (ever/never), age at menarche (year, continuous), and physical activity [Metabolic Equivalent Task-Hour per week (METS-h/w), continuous]. We further added to the models' variables estimated from the dietary questionnaire sent in 1993: alcohol consumption (in grams of daily ethanol intake, continuous), total energy intake without alcohol (kcal/d, continuous), calcium and vitamin D dietary intakes (mg/d, continuous), and vitamin D and calcium supplement intakes at blood collection (yes/no). Models were also run with calcium (mmol/L, continuous) and PTH (pg/mL, continuous) serum concentrations because they were closely involved in the regulation of vitamin D metabolism, and also with estradiol (pmol/L, continuous) and progesterone (nmol/L, continuous) serum levels, found to be confounding factors, as they were associated both with 25(OH)D3 and breast cancer risk in our population.

We also conducted unconditional logistic regressions stratified by menopausal status at the time of both breast cancer diagnosis and blood collection, and by age at blood collection (<53, 53-60, and 60+ years, ages corresponding with tertile cutoff points in our population). For these two series of analyses, we created a first model adjusted for age at blood collection, menopausal status (only in the age-stratified analysis), age at menopause, and season of blood collection. To take into account both latitude and sun exposure of each region at

the date of blood collection, we used mean daily UV dose exposure (continuous variables in kJ/m^2) in unconditional logistic regressions for parsimony of models, which was estimated among the 40 centers for blood collection and the year of sampling using the UV mapping algorithm (31). The three other models were computed by adding the same covariates as in the conditional regression analyses. We also ran models stratified on BMI (women with BMI ≤ 25 versus >25 kg/m^2) and on calcium intake (daily calcium intake $<1,000$ versus $\geq 1,000$ mg/d plus women using calcium supplements at blood collection).

Tests for linear trends across tertiles of 25(OH)D3 serum concentration were done using median concentrations in each tertile excluding missing values. All statistical tests were two-sided; $P < 0.05$ was considered statistically significant. SAS statistical software (version 9.1; SAS Institute, Inc.) was used for all analyses. Results were presented as mean (SD) for continuous variables and N (%) for categorical variables.

Results

Selected characteristics of cases and controls are presented in Table 1. High alcohol consumption, familial history of breast cancer, and personal history of benign breast disease were more common in cases than in controls. Cases had both higher estradiol and progesterone serum concentrations in premenopause and postmenopause [399.3 pmol/L (SD, 234.3) and 10.1 nmol/L (SD, 15.2) in premenopause and 125.6 pmol/L (SD, 217.5) and 4.0 nmol/L (SD, 9.7) in postmenopause, respectively] than in controls [349.2 pmol/L (SD, 202.2) and 9.0 nmol/L (SD, 13.8) in premenopause and 105.8 pmol/L (SD, 205.5) and 3.2 nmol/L (SD, 7.7) in postmenopause]. The 25(OH)D3 serum concentration was lower for cases than for controls [24.4 ng/mL (SD, 10.9) and 25.1 ng/mL (SD, 11.0), respectively]; 75% of women had 25(OH)D3 serum concentrations lower than 30 ng/mL and 37.5% had serum concentrations lower than 20 ng/mL.

Women ages 53 years or under had a similar mean 25(OH)D3 serum concentration [25.3 (SD, 11.0)] as women between 53 and 60 [25.4 (SD, 11.0)], but a higher concentration than those over 60 [24.5 (SD, 10.9); $P = 0.04$]. Lower 25(OH)D3 serum concentrations were observed in women with a BMI of >30 kg/m^2 [22.1 ng/mL (SD, 8.8)] than in women with a BMI of <25 kg/m^2 [25.5 ng/mL (SD, 11.1); $P = 0.01$; data not shown].

The 25(OH)D3 serum concentration was correlated with the calcium serum concentration ($\rho = 0.13$, $P < 0.0001$ in the whole population; $\rho = 0.17$, $P = 0.0009$ in premenopausal women; and $\rho = 0.12$, $P < 0.0001$ in postmenopausal women) and negatively correlated with the PTH serum concentration ($\rho = -0.11$, $P = 0.0002$; $\rho = -0.16$, $P = 0.002$; and $\rho = -0.12$, $P < 0.0001$, respectively). No correlation was found between the 25(OH)D3 serum concentration and either the estradiol or progesterone serum concentration. In women who were premenopausal

Table 1. Selected characteristics of breast cancer cases and their matched controls at blood collection (1995-1998) among women in the E3N cohort ($n = 1,908$)

Baseline characteristics	Cases ($n = 636$)	Controls ($n = 1,272$)
	Mean (SD)	
Age (y)	56.9 (6.4)	56.9 (6.4)
Age at menarche (y)	12.7 (1.3)	12.9 (1.4)
BMI	23.8 (3.6)	23.8 (3.8)
Age at menopause	50.7 (3.7)	50.7 (3.6)
Number of children	1.9 (1.2)	2.1 (1.2)
Recreational physical activity (METs-h/wk)	51.0 (31.0)	50.3 (22.6)
Alcohol intake (g/d)*	12.0 (15.0)	10.9 (13.8)
Serum 25(OH)D ₃ (ng/mL)	24.4 (10.9)	25.1 (11.0)
Serum calcium (mmol/L)	2.29 (0.1)	2.29 (0.1)
Serum PTH (pg/mL)	26.7 (11.2)	27.2 (19.1)
Serum estradiol (pmol/L)		
Premenopausal	399.3 (234.3)	349.2 (202.2)
Postmenopausal	125.6 (217.5)	105.8 (205.5)
Serum progesterone (nmol/L)		
Premenopausal	10.1 (15.2)	9.0 (13.8)
Postmenopausal	4.0 (9.7)	3.2 (7.7)
Calcium intake (mg)*	1,017.5 (273.0)	1,044.7 (289.9)
Vitamin D intake (μ g)*	2.4 (1.2)	2.4 (1.2)
Total energy intake without alcohol (kcal)*	21.2 (5.7)	20.7 (5.6)
Mean UVB dose exposure (kJ/m ² by day)	1.5 (0.2)	1.5 (0.2)
	N (%)	
Postmenopausal	489 (77.2)	990 (77.2)
Family history of breast cancer		
No	504 (79.3)	1,104 (86.8)
Yes	132 (20.7)	168 (13.2)
History of benign breast disease		
No	243 (38.2)	407 (32.0)
Yes	393 (61.8)	865 (68.0)
Personal history of mammography		
No	16 (2.5)	51 (4.0)
Yes	620 (97.5)	1,221 (96.0)
Smoking status		
Never	350 (55.0)	696 (54.7)
Past	217 (34.1)	436 (34.2)
Current	69 (10.9)	140 (11.1)
OC use		
No	383 (60.2)	761 (59.8)
Yes	253 (39.8)	511 (40.2)
Use of postmenopausal MHT (among postmenopausal women)	354 (72.4)	687 (69.5)

Table 1. Selected characteristics of breast cancer cases and their matched controls at blood collection (1995-1998) among women in the E3N cohort ($n = 1,908$) (Cont'd)

Baseline characteristics	Cases ($n = 636$)	Controls ($n = 1,272$)
	N (%)	
Season		
Spring	160 (25.2)	279 (21.9)
Summer	112 (17.6)	250 (19.6)
Autumn	188 (29.6)	370 (29.1)
Winter	176 (27.7)	373 (29.3)
Current use of calcium supplement		
No	589 (92.6)	1,183 (93.0)
Yes	47 (7.4)	89 (7.0)
Current use of vitamin D supplement		
No	602 (94.6)	1,210 (95.1)
Yes	34 (4.4)	62 (4.9)

NOTE: Assessed at the time of blood collection except where indicated.

Abbreviations: OC, oral contraceptive; MHT, menopausal hormone therapy.

*Assessed at the time of dietary questionnaire (1993). Calcium and vitamin D intakes estimated with residual methods.

at diagnosis, we observed a positive correlation between the 25(OH)D₃ serum concentration and the mean daily UV dose in the 40 areas of blood collection ($\rho = 0.18$, $P = 0.02$). In women under 53 years of age at the time of blood collection, the correlation was lower ($\rho = 0.07$, $P = 0.08$). However, unconditional logistic regressions without mean daily UV dose adjustments did not affect point estimates (P for homogeneity between the fully adjusted model and the model without UV dose = 0.73). No other statistically significant correlation with 25(OH)D₃ was found. It was the case in particular to 25(OH)D₃ and vitamin D dietary intake, and for calcium serum concentrations and dietary calcium intakes.

Table 2 shows the results from conditional logistic regression analyses run on the whole population. Risk of breast cancer decreased with increasing 25(OH)D₃ serum concentration; associations reached statistical significance in the full model with dietary covariates and serum biomarkers (calcium, PTH, estradiol, and progesterone); the OR for the uppermost (concentrations over 27.0 ng/mL) versus the lowest tertile (<19.8 ng/mL) was 0.73; the 95% confidence interval (95% CI) was 0.55 to 0.96; and P for trend across tertiles was 0.02.

We tested the hypothesis of a differential association of 25(OH)D₃ serum concentration with breast cancer risk according to menopausal status (Table 3), by stratifying on menopausal status at blood collection and at

diagnosis. We observed a stronger inverse association between breast cancer risk and vitamin D concentrations for premenopausal breast cancer (OR, 0.37; 95% CI, 0.12-1.15) for the upper versus lower tertile than for postmenopausal breast cancer, whether the blood collection had been premenopausal or postmenopausal. However, the test for an interaction between menopausal status at diagnosis and 25(OH)D₃ was not statistically significant ($P = 0.59$).

Associations between high 25(OH)D₃ serum concentration and breast cancer risk seemed to be heterogeneous across age categories ($P = 0.06$). We then explored the effect of age on the relationship between 25(OH)D₃ and breast cancer risk, using 53 and 60 years as cutoff points which corresponded to tertiles (Table 4). Significant decreases in breast cancer risk were limited to the youngest women, within the model which included all variables, an OR of 0.60; 95% CI, 0.37 to 0.98, in the last tertile of 25(OH)D₃ (concentration higher than 27.0 ng/mL) compared with the first (<19.8 ng/mL), and a significant trend toward decreasing risk across tertiles ($P = 0.04$).

No statistically significant interactions were found between breast cancer risk, serum 25(OH)D₃ levels, dietary calcium intake ($P = 0.75$), and BMI ($P = 0.42$). However, the significant negative association between serum 25(OH)D₃ and breast cancer risk in our population was restricted to women with dietary calcium intake values of <1,000 mg/d (OR for the upper tertile of vitamin D serum concentration = 0.58; 95% CI, 0.39-0.86) and to women with a BMI of <25 kg/m² (corresponding OR, 0.70; 95% CI, 0.51-0.95; data not shown). Sensitivity analyses excluding breast cancer cases occurring in the first

year after blood collection ($n = 80$) showed a stronger association between serum 25(OH)D₃ and breast cancer risk (OR, 0.76; 95% CI, 0.59-0.99 and OR, 0.71; 95% CI, 0.55-0.93 for the second and third tertiles, respectively). Another sensitivity analysis, which excluded women who were taking vitamin D supplements ($n = 95$) and their matched controls, did not modify the association (OR, 0.82; 95% CI, 0.63-1.05 and OR, 0.74; 95% CI, 0.57-0.97) for the second and third tertiles, respectively, in the fully adjusted model.

Discussion

In this case-control study nested in a large cohort of French women, we found evidence of a significant inverse association between 25(OH)D₃ serum concentrations and breast cancer risk. Our results show a more pronounced decreased breast cancer risk in younger women than in older women. Although not significant, our findings also suggested a stronger decrease in breast cancer risk in premenopausal women than in postmenopausal women. When adjusting for serum calcium and PTH, which are correlated with 25(OH)D₃ serum concentrations, and for estradiol and progesterone concentrations, which were found to be confounding factors, the association was strengthened.

To our knowledge, this is the first case-control study, nested in a large prospective cohort of women and designed to analyze baseline 25(OH)D₃ serum concentrations and subsequent breast cancer risk, which takes into account important potential confounders. In particular, we adjusted for the effect of seasonal and latitude effects

Table 2. Multivariate OR and 95% CI for breast cancer incidence by serum 25(OH)D₃ concentration, nested case-control study in the E3N cohort ($n = 1,908$)

Tertile of serum 25(OH)D ₃ (ng/mL)	No. cases/no. controls	OR* (95% CI)	OR† (95% CI)	OR‡ (95% CI)	OR§ (95% CI)
All	636/1,272				
<19.8	226/404	1	1	1	1
19.8-27	198/402	0.87 (0.68-1.10)	0.84 (0.66-1.08)	0.84 (0.66-1.08)	0.81 (0.63-1.04)
>27	191/412	0.80 (0.62-1.03)	0.80 (0.62-1.04)	0.81 (0.62-1.06)	0.73 (0.55-0.96)
<i>P</i> trend		0.09	0.10	0.12	0.02

*ORs and CIs from conditional logistic regression matched on age (± 2 y), menopausal status (premenopausal or postmenopausal) at blood collection, age at menopause (± 2 y), study center (same geographic localization in France among the 40 collection centers), and date of blood collection (same year).

†Conditional logistic regression adjusted for the same variables as in * plus BMI at the time of blood collection, physical activity, age at menarche, number of children, tobacco status, previous use of oral contraceptives, MHT use (among postmenopausal women only), personal history of mammography, benign breast disease, and previous family history of breast cancer.

‡Conditional logistic regression adjusted for the same variables as in † plus alcohol consumption, total energy intake without alcohol, calcium and vitamin D dietary and supplement intakes assessed from the dietary questionnaire.

§Conditional logistic regression adjusted for the same variables as in ‡ plus serum calcium, PTH, estradiol, and progesterone concentrations.

^{||}A separate fourth category for missing values (cases, $n = 21$; controls, $n = 54$) was considered; OR were not significant.

Table 3. Multivariate OR and 95% CI for breast cancer incidence by serum 25(OH)D₃ concentration, nested case-control study in the E3N cohort (*n* = 1,908) stratified by menopausal status at blood collection and diagnosis

Tertile of serum 25(OH)D ₃ (ng/mL)	No. cases/no. controls	OR* (95% CI)	OR† (95% CI)	OR‡ (95% CI)	OR§ (95% CI)
All	636/1,272				
Premenopausal at blood collection and premenopausal at diagnosis					
<19.8	20/25	1	1	1	1
19.8-27	20/31	0.69 (0.30-1.62)	0.55 (0.21-1.42)	0.42 (0.15-1.18)	0.43 (0.14-1.25)
>27	14/34	0.41 (0.16-1.08)	0.37 (0.14-1.04)	0.35 (0.12-1.03)	0.37 (0.12-1.15)
<i>P</i> trend		0.07	0.06	0.07	0.11
Premenopausal at blood collection and postmenopausal at diagnosis					
<19.8	40/61	1	1	1	1
19.8-27	22/65	0.52 (0.27-0.99)	0.54 (0.27-1.05)	0.50 (0.25-0.99)	0.50 (0.25-1.02)
>27	27/54	0.79 (0.41-1.50)	0.76 (0.39-1.50)	0.76 (0.38-1.52)	0.72 (0.35-1.45)
<i>P</i> trend		0.8	0.5	0.5	0.4
Postmenopausal at blood collection and postmenopausal at diagnosis					
<19.8	166/318	1	1	1	1
19.8-27	156/306	0.97 (0.74-1.28)	0.96 (0.73-1.26)	0.96 (0.72-1.27)	0.91 (0.69-1.21)
>27	150/324	0.88 (0.67-1.16)	0.87 (0.66-1.15)	0.87 (0.66-1.16)	0.80 (0.60-1.07)
<i>P</i> trend		0.3	0.3	0.3	0.12

*ORs and CIs from unconditional logistic regression adjusted for age at blood collection, age at menopause, and mean daily UV dose exposure among the 40 centers of blood collection, and season of blood collection (same year).

†From unconditional logistic regression adjusted for the same variables as in * plus BMI at the time of the blood collection, physical activity, age of menarche, number of children, tobacco status, previous use of oral contraceptives, MHT use (among postmenopausal women only) at blood collection, personal history of mammography, benign breast diseases, and previous family history of breast cancer.

‡From unconditional logistic regression adjusted for the same variables as in †, plus alcohol consumption, total energy intake without alcohol, calcium and dietary vitamin D assessed from the dietary questionnaire, and supplement intakes. In the premenopausal subgroup, supplement intakes were removed due to lack of convergence (only one case taking vitamin D supplement).

§From unconditional logistic regression adjusted for the same variables as in ‡ plus serum calcium, PTH, estradiol, and progesterone concentrations.

||A separate fourth category for missing values (cases, *n* = 21; controls, *n* = 54) was considered; ORs were not significant.

on 25(OH)D₃ synthesis via the date, the center, or the mean daily UV dose for the center at the time of blood collection; in addition, we adjusted for calcium and PTH serum concentrations. We also took into account estradiol and progesterone serum concentrations, which have been reported to be associated with vitamin D status (12, 26). Moreover, we controlled for both dietary and supplement intakes.

One pooled analysis (2), and a recent meta-analysis (1), examined the relationship between 25(OH)D serum concentration and risk of breast cancer. According to the pooled analysis (2) of the Nurses' Health Study (NHS; ref. 22) and of a British case-control study (18), women with 25(OH)D serum concentrations of >52 ng/mL had a significant 50% lower risk of breast cancer than those with levels of <13 ng/mL. If we presume the linearity of the dose-response gradient (as suggested in our study and in this pooled analysis), this estimate is consistent with ours, which showed a 27% lower risk of

breast cancer for women with 25(OH)D serum concentrations higher than 27 ng/mL compared with those with serum concentrations lower than 19.8 ng/mL. The authors of that meta-analysis (1) found a pooled OR of 0.58 and 95% CI of 0.50 to 0.66 for the highest quartile of 25(OH)D in comparison to the lowest, similar to ours, although the cutoff points in the studies varied by as much as 27 ng/mL (23) to 60 ng/mL (18) for the highest, and 13 to 20 ng/mL for the lowest. This disparity between quartile cutoff points might be explained by sun exposure and the latitudes of the studies, but also by differences in vitamin D food fortification between Europe and the United States because the fortification of dairy foods and margarines has long been common in the United States (32), whereas it is restricted to very few products in France.

More studies found an inverse association between 25(OH)D and breast cancer risk at premenopause [two (14, 20) out of five studies (14, 17, 20-22)] than at postmenopause [three, significant (15, 17) or not (22), out of

eight studies (20, 21, 23-25)]. Despite the low power and borderline significance, our study was consistent with the two premenopausal studies in that it showed decreased risk both in women who were still premenopausal at the end of follow-up and in our youngest group of women. Investigators from the NHS (33) and the Women's Health Study (34) reported a lower risk of developing premenopausal breast cancer associated with higher vitamin D intakes (both from diet and supplements).

To our knowledge, only the NHS (22) evaluated the influence of age and estrogen/progesterone deficiency using steroid blood concentrations; however, those results suggested a stronger decrease in risk in the oldest group of women (>60 years of age). An explanation for the discrepancy with our study, despite a similar design, might lie in the different mean serum concentrations of 25(OH)D (~25 and 33 ng/mL in the E3N and the NHS, respectively) and in a distinct percentile distribution (highest cutoff point of 27 and 48 ng/mL in the E3N and NHS, respectively).

Our results, demonstrating a more pronounced decreased risk in younger and premenopausal women, may be explained by the joint relationship of calcium, vitamin D, and insulin-like growth factors (IGF; ref. 35). *In vitro* studies have suggested that calcium and vitamin D exert anticarcinogenic effects on breast cancer cells that express IGF-I and IGF-binding protein 3. In addition, vitamin D inhibits the IGF-I-stimulated growth of breast cancer cells (36). Because circulating levels of IGF-I and/or IGF-binding protein 3 decline with age (37), the interaction between IGF pathways and calcium and vitamin D are likely to be stronger for younger women than for postmenopausal women, possibly leading to higher risk reduction in young women (38). In addition, the elderly have been shown to have a decreased capacity for vitamin D synthesis in the skin with similar sun exposure (39). Renal production of 1,25(OH)₂D, the metabolically active form of vitamin D, is also reduced with aging (40), concomitantly with lower 25(OH)D₃ mean serum concentrations in older women compared with women

Table 4. Multivariate OR and 95% CI for breast cancer incidence by serum 25(OH)D₃ concentration, nested case-control study in the E3N cohort (*n* = 1,908) stratified by age at blood collection <53 y (*n* = 618), 53 to 60 y (*n* = 653), and >60 y (*n* = 637)

Tertile of serum 25(OH)D ₃ (ng/mL)	No. cases/no. controls	OR* (95% CI)	OR† (95% CI)	OR‡ (95% CI)	OR§ (95% CI)
All	636/1,272				
<53 y					
<19.8	77/125	1	1	1	1
19.8-27	68/140	0.78 (0.52-1.18)	0.76 (0.49-1.16)	0.77 (0.50-1.18)	0.78 (0.50-1.20)
>27	50/128	0.61 (0.39-0.97)	0.60 (0.37-0.96)	0.64 (0.40-1.03)	0.60 (0.37-0.98)
<i>P</i> trend		0.04	0.03	0.07	0.04
53-60 y					
<19.8	76/131	1	1	1	1
19.8-27	70/129	0.93 (0.62-1.41)	0.95 (0.62-1.46)	0.92 (0.60-1.41)	0.85 (0.55-1.31)
>27	69/156	0.77 (0.51-1.15)	0.81 (0.53-1.23)	0.77 (0.50-1.19)	0.71 (0.46-1.10)
<i>P</i> trend		0.2	0.3	0.2	0.1
>60 y					
<19.8	73/148	1	1	1	1
19.8-27	60/133	0.91 (0.60-1.39)	0.94 (0.61-1.45)	0.96 (0.62-1.49)	0.94 (0.34-1.49)
>27	72/128	1.11 (0.74-1.67)	1.15 (0.75-1.77)	1.15 (0.75-1.78)	1.09 (0.70-1.71)
<i>P</i> trend		0.3	0.5	0.5	0.6

*ORs and CIs from unconditional logistic regression adjusted for age at blood collection, menopausal status (premenopausal or postmenopausal), age at menopause, mean daily UV dose exposure among the 40 centers of blood collection, and season of blood collection (same year).

†From unconditional logistic regression adjusted for the same variables as in * plus BMI at the time of the blood collection, physical activity, age of menarche, number of children, tobacco status, previous use of oral contraceptives, MHT use (among postmenopausal women only), personal history of mammography, benign breast diseases, and previous family history of breast cancer.

‡From unconditional logistic regression adjusted for the same variables as in †, plus alcohol consumption, total energy intake without alcohol, calcium and dietary vitamin D assessed from the dietary questionnaire, and supplement intakes.

§From unconditional logistic regression adjusted for the same variables as in ‡ plus serum calcium, PTH, estradiol, and progesterone concentrations.

||A separate fourth category for missing values (cases, *n* = 21; controls, *n* = 54) was considered; ORs were not significant.

ages 53 or under in our analysis. However, our study did not enable us to confirm whether it was age or menopausal status which was the true modifier of the relationship between 25(OH)D and breast cancer risk.

According to another hypothesis, higher 25(OH)D serum concentrations could reduce subsequent breast cancer risk in premenopausal women, as shown by the recent finding of reduced progesterone and estradiol serum concentrations with higher circulating 25(OH)D levels (26). Estrogen deficiency also seems to reduce vitamin D activation and Vitamin D Receptor (VDR) expression, suggesting that older and postmenopausal women might be at an increased risk (12), and that higher vitamin D concentrations would be necessary to achieve the same benefit in postmenopausal as in premenopausal women.

In our study, the significant negative association between 25(OH)D3 serum concentration and breast cancer risk restricted to women with low to medium daily dietary calcium intake is in agreement with a hypothesis previously described for prostate cancer (41); it was suggested that the anticarcinogenic properties of 1,25(OH)2D may be less effective because its production by the kidney might be reduced in case of high calcium intake. In contrast, low dietary calcium might transiently reduce the calcium serum concentration through PTH feedback control, and would enhance the conversion rate of 1,25(OH)2D from 25(OH)D in order to increase the efficacy of intestinal calcium absorption.

Our data suggested that the benefit of a high 25(OH)D3 serum concentration is restricted to women with normal BMI (<25 kg/m²), a result which might be due to a lack of power in our study, and a low prevalence of overweight and obese women. In our study, lower 25(OH)D3 serum concentrations have been found in overweight individuals, likely due to greater uptake of vitamin D into adipocytes rather than to less sun exposure or less effective vitamin D synthesis (42). However, BMI was not a confounder in the association between vitamin D and breast cancer risk, unlike findings from the Women's Health Initiative, in which a lower risk of breast cancer associated with high baseline 25(OH)D serum concentrations disappeared after adjustment for BMI (23). Nevertheless, the decreased bioavailability of vitamin D in tissues could explain the increased risk of cancer.

Strengths and limitations

One strength of our results lies in the fact that we took into account both geographic localization and date of blood collection as matching criteria, so that a latitude effect or a potential seasonal effect was unlikely to have influenced our results. Three ecological studies (43-45) showed a significant inverse association between UVB exposure and risk of breast cancer, while another found no association (46). Although we did not record the sunbathing habits of women in our study, we captured sunlight exposure by specifically assessing the 25(OH)D3 serum concentration of both 25(OH)D2 and 25(OH)D3

instead (as is done in most studies), which reflects endogenous and exogenous vitamin D sources. Moreover, no statistically significant correlation was found between dietary vitamin D and serum vitamin D concentrations in our study and added to evidence that assessment of vitamin D serum concentration is a key observation to account for misclassification of exposure in studies examining dietary sources only.

Although we adjusted for a large number of major parameters implicated either in vitamin D status or breast cancer incidence, our study had some limitations. We cannot exclude the possibility that the associations we observed resulted from a confounding bias. Cases and controls were from a selected population of highly educated women willing to participate in both the dietary survey and blood collection. Although this population was not representative of the general population, it is not clear how selection could have affected our results. However, although information on menopausal status was accurate, premenopausal women did not provide information on the menstrual phase cycle on the date of blood collection; how this might have modified the association between the 25(OH)D3 serum concentration and breast cancer risk, specifically when adjusting for both serum estradiol and progesterone in this population, is unknown. Nonetheless, results were similar whether or not the model was adjusted for the two hormonal biomarkers, which suggests only a weak effect of this missing information on our findings. Another limitation is that we did not have relevant data on doses of calcium and vitamin D intake at blood collection, which could therefore affect our associations. In particular, among women taking vitamin D supplements, we lacked information as to whether the supplement was vitamin D2 or D3. Because we measured only 25(OH)D3 serum concentrations, some misclassification of vitamin D concentrations might have occurred in women taking vitamin D₂. However, our findings were similar when excluding vitamin D supplement users, thus suggesting that this potential bias was of minor importance. It may also be questioned whether it is appropriate to use a single determination of 25(OH)D because vitamin D status results from a combination of various lifestyle characteristics which could change during the study (sunbathing habits, exact sun exposure at the time of blood collection, weather; ref. 47). We assessed 25(OH)D3 and other biomarker concentrations during an average of 4 years prior to breast cancer diagnosis. Nonetheless, it remains unclear as to which period is optimal for measuring the vitamin D serum concentration, although blood collection several years prior to breast cancer diagnosis is preferred (48). Interestingly, results from our sensitivity analyses indicated that the associations were stronger when excluding breast cancer cases diagnosed during the year following blood collection. In future studies, multiple measurements at different periods before diagnosis may provide more accurate indicators for analysis.

Conclusions

Our findings support the conclusion that the maintenance of adequate vitamin D levels should be encouraged, especially in populations with low 25(OH)D serum concentrations, as in our study. To maintain a 25(OH)D serum concentration of >30 ng/mL, assuming a baseline of 10 ng/mL in sedentary women with very little sun exposure (49), an intake of 2,000 IU/d is necessary; this corresponds to the U.S. National Academy of Sciences' upper limit (50). However, recommendations from food agencies concerning vitamin D intakes are between 200 and 400 IU/d, which is why scientists advocate raising these recommendations (30, 51). Alternatively, 12 minutes of sun exposure per day, on a clear day, with 50% of the skin area exposed and if climate and season allow, are equivalent to an approximate oral intake of 3,000 IU of vitamin D₃ (52); however, these recommendations are not adapted to latitudes above 35 degrees, where there is minimal, if any, previtamin D₃ production in the skin during winter (52). These arguments support the aggressive supplementation and fortification of foods such as milk, dairy products, or orange juice in European countries, to be encouraged by food and health agencies. Further randomized intervention trials with different doses of vitamin D supplementation are also required to confirm its benefits on breast cancer risk.

References

- Chen P, Hu P, Xie D, et al. Meta-analysis of vitamin D, calcium and the prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;121:469–77.
- Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, et al. Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007;103:709–11.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266–81.
- Hollis BW. Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *J Nutr* 2005;135:317–22.
- Friedrich M, Diesing D, Cordes T, et al. Analysis of 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase in normal and malignant breast tissue. *Anticancer Res* 2006;26:2615–20.
- Welsh JE. Vitamin D and breast cancer: insights from animal models. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1721S.
- VanHouten JN. Calcium sensing by the mammary gland. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2005;10:129–39.
- Hoey RP, Sanderson C, Iddon J, et al. The parathyroid hormone-related protein receptor is expressed in breast cancer bone metastases and promotes autocrine proliferation in breast carcinoma cells. *Br J Cancer* 2003;88:567–73.
- Eisman JA, Macintyre I, Martin TJ, Frampton RJ, King RJB. Normal and malignant breast tissue is a target organ for 1,25-(OH)₂ vitamin D₃. *Clin Endocrinol* 1980;13:267–72.
- Trump DL, Hershberger PA, Bernardi RJ, et al. Anti-tumor activity of calcitriol: pre-clinical and clinical studies. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004;89:519–26.
- Hansen KE, Jones AN, Lindstrom MJ, et al. Vitamin D insufficiency: disease or no disease? *J Bone Miner Res* 2008;23:1052–60.
- Peterlik M, Cross HS. Vitamin D and calcium insufficiency-related chronic diseases: molecular and cellular pathophysiology. *Eur J Clin Nutr* 2009;63:1377–86.

Disclosure of Potential Conflicts of Interest

No potential conflicts of interest were disclosed.

Acknowledgments

The authors are grateful to R. Chait, M. Fangon, M. Niravong, L. Hoang for managing the data, and A. Fabre for his contribution in statistical analysis. They gratefully acknowledge Anne Barnier and Caroline Arcangeli from the Biochemistry Laboratory of Hospital BICHAT (AP-HP), directed by Genevieve Durand, for performing all assays. The authors are also indebted to all participants for providing data and to practitioners for providing pathology reports.

Grant Support

Pierre Engel is grateful to the Fondation de France and Guy Fagherazzi to the French Ministry of Research for their financial support. The E3N study is being carried out with financial support from the French League against Cancer, the European Community, the Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale, the Institut Gustave Roussy and the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale. The present study received grant support from the French National Cancer Institute (INCA), the French National Research Agency (ANR), and the French Research Cancer Association (ARC).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. This article must therefore be hereby marked *advertisement* in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

Received 03/11/2010; revised 05/04/2010; accepted 05/26/2010; published online 09/08/2010.

- DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1689–96S.
- Abbas S, Chang-Claude J, Linseisen J. Plasma 25-hydroxyvitamin D and premenopausal breast cancer risk in a German case-control study. *Int J Cancer* 2009;124:250–5.
- Abbas S, Linseisen J, Slinger T, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of post-menopausal breast cancer—results of a large case-control study. *Carcinogenesis* 2008;29:93.
- Colston KW, Lowe LC, Mansi JL, Campbell MJ. Vitamin D status and breast cancer risk. *Anticancer Res* 2006;26:2573–80.
- Crew KD, Gammon MD, Steck SE, et al. Association between plasma 25-hydroxyvitamin D and breast cancer risk. *Cancer Prev Res* 2009;2:598–604.
- Lowe LC, Guy M, Mansi JL, et al. Plasma 25-hydroxy vitamin D concentrations, vitamin D receptor genotype and breast cancer risk in a UK Caucasian population. *Eur J Cancer* 2005;41:1164–9.
- Janowsky EC, Lester GE, Weinberg CR, et al. Association between low levels of 1,25-dihydroxyvitamin D and breast cancer risk. *Public Health Nutr* 1999;2:283–91.
- Rejnmark L, Tietze A, Vestergaard P, et al. Reduced prediagnostic 25-hydroxyvitamin D levels in women with breast cancer: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:2655–60.
- Almqvist M, Bondeson AG, Bondeson L, Malm J, Manjer J. Serum levels of vitamin D, PTH, calcium and breast cancer risk—a prospective nested case-control study. *Int J Cancer*. Forthcoming 2010.
- Bertone-Johnson ER, Chen WY, Holick MF, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1991–7.
- Chlebowski RT, Johnson KC, Kooperberg C, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1581–91.
- Freedman DM, Chang SC, Falk RT, et al. Serum levels of vitamin D

- metabolites and breast cancer risk in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:889.
25. McCullough ML, Stevens VL, Patel R, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and postmenopausal breast cancer risk: a nested case control study in the Cancer Prevention Study-II Nutrition Cohort. *Breast Cancer Res* 2009;11:R64.
 26. Knight JA, Wong J, Blackmore KM, Raboud JM, Vleth R. Vitamin D association with estradiol and progesterone in young women. *Cancer Causes Control* 2010;21:479–83.
 27. Van Liere MJ, Lucas F, Clavel F, Slimani N, Villemainot S. Relative validity and reproducibility of a French dietary history questionnaire. *Int J Epidemiol* 1997;26:128–36.
 28. Guibout C, Prisse N, Clavel-Chapelon F. Mise en place d'une bibliothèque dans l'enquête de cohorte: E3N-EPIC. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2003;51:137–41.
 29. Szymanowicz A, Devaux C, Neyron M-J. Comparative study of the serum measurement of 25-OH vitamin D3 on the Roche Elecsys versus the DiaSorin Liaison immunoassay analyzer. *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée* 2009;24:160–5.
 30. Vleth R, Bischoff-Ferrari H, Boucher BJ, et al. The urgent need to recommend an intake of vitamin D that is effective. *Am J Clin Nutr* 2007;85:649–50.
 31. Verdebout J. A European satellite-derived UV climatology available for impact studies. *Radiat Prot Dosimetry* 2004;111:407–11.
 32. Calvo MS, Whiting SJ, Barton CN. Vitamin D fortification in the United States and Canada: current status and data needs. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1710–6S.
 33. Shin MH, Holmes MD, Hankinson SE, et al. Intake of dairy products, calcium, and vitamin D and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1301–11.
 34. Lin J, Manson JAE, Lee I. Intakes of calcium and vitamin D and breast cancer risk in women. *Arch Intern Med* 2007;167:1050.
 35. Dlorio C, Berube S, Byrne C, et al. Influence of insulin-like growth factors on the strength of the relation of vitamin D and calcium intakes to mammographic breast density. *Cancer Res* 2006;66:588–97.
 36. Xie SP, Pirianov G, Colston KW. Vitamin D analogues suppress IGF-I signalling and promote apoptosis in breast cancer cells. *Eur J Cancer* 1999;35:1717–23.
 37. Bezemer ID, Rinaldi S, Dossus L, et al. C-peptide, IGF-I, sex-steroid hormones and adiposity: a cross-sectional study in healthy women within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Cancer Causes Control* 2005;16:561–72.
 38. Allen NE, Roddam AW, Allen DS, et al. A prospective study of serum insulin-like growth factor-I (IGF-I), IGF-II, IGF-binding protein-3 and breast cancer risk. *Br J Cancer* 2005;92:1283–7.
 39. Renehan AG, Zwahlen M, Minder C, et al. Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. *Lancet* 2004;363:1346–53.
 40. Bell NH. Vitamin D metabolism, aging, and bone loss. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1051.
 41. Giovannucci E. Dietary influences of 1,25(OH)₂ vitamin D in relation to prostate cancer: a hypothesis. *Cancer Causes Control* 1998;9:567–82.
 42. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000;72:690–3.
 43. Garland FC, Garland CF, Gorham ED, Young JF. Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev Med* 1990;19:614–22.
 44. Grant WB. An ecologic study of dietary and solar ultraviolet-B links to breast carcinoma mortality rates. *Cancer* 2002;94:272–81.
 45. Mohr SB, Garland CF, Gorham ED, Grant WB, Garland FC. Relationship between low ultraviolet B irradiance and higher breast cancer risk in 107 countries. *Breast J* 2008;14:255–60.
 46. Waltz P, Chodick G. Assessment of ecological regression in the study of colon, breast, ovary, non-Hodgkin's lymphoma, or prostate cancer and residential UV. *Eur J Cancer Prev* 2008;17:279–86.
 47. McCarty CA. Sunlight exposure assessment: can we accurately assess vitamin D exposure from sunlight questionnaires? *Am J Clin Nutr* 2008;87:1097–101S.
 48. Bertone-Johnson ER. Vitamin D and breast cancer. *Ann Epidemiol* 2009;19:462–7.
 49. Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr* 2003;77:204.
 50. National Academy of Sciences IoM, Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride. Washington, D.C.: National Academy Press; 1997.
 51. Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:471–8.
 52. Holick MF. Vitamin D: A millennium perspective. *J Cell Biochem* 2003;88:296–307.

Article 3 : **Fagherazzi G**, Chabbert-Buffet N, Fabre A, Guillas G, Boutron-Ruault MC, Mesrine S, Clavel-Chapelon F.

Hip circumference is associated with the risk of premenopausal ER-/PR- breast cancer.

Int J Obes (Lond). 2011 Mar 22

Hip circumference is associated with the risk of premenopausal ER–/PR– breast cancer

G Fagherazzi^{1,2}, N Chabbert-Buffet³, A Fabre^{1,2}, G Guillas^{1,2}, M-C Boutron-Ruault^{1,2}, S Mesrine^{1,2} and F Clavel-Chapelon^{1,2}

¹INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale), Center for Research in Epidemiology and Population Health (CESP), Villejuif Cedex, France; ²Paris-South University, Villejuif Cedex, France and ³Department of Obstetrics and Gynecology, AP-HP Hospital Tenon and UMR S938 University Pierre and Marie Curie, Paris, France

Objective: We evaluated the relationship between hip and waist circumferences (HCs, WCs), waist-to-hip ratio, height, weight and body mass index (BMI) and breast cancer risk according to menopausal status of women and cancer hormone receptor status.

Design: We used data from the French E3N longitudinal prospective cohort.

Subjects: In the total population of 63 726 women who were analyzed, 1887 breast cancer cases were diagnosed during follow-up.

Results: Among postmenopausal women, the risk of ER+/PR+ breast cancer increased with increasing weight, BMI, and both HCs and WCs, although these two associations disappeared after adjustment for BMI. No association was seen with ER–/PR– breast cancers. Among premenopausal women, among the different factors studied, HC only (no association was observed for any of the different factors studied except for HC) was associated with an increased risk of ER+/PR+ breast cancer after adjustment for BMI (hazard ratio (HR) = 1.65; (1.04–2.62) when comparing the highest to lowest tertile; *P*-trend across tertiles = 0.03) and of ER–/PR– breast cancer both before and after adjustment for BMI (HR = 2.85 (1.33–6.13); *P*-trend < 0.01, and HR = 3.13 (1.19–8.27) *P*-trend = 0.02, respectively). In the latter group, the association with HC was observed whatever the WC (HR = 2.81 (1.18–6.70) and HR = 2.79 (1.16–6.76) in women with high HC/low WC and high HC/high WC, respectively).

Conclusion: The increase in risk of premenopausal breast cancer associated with large HC for both ER+/PR+ and ER–/PR– subtypes may provide insight into a specific risk factor for premenopausal breast cancer.

International Journal of Obesity advance online publication, 22 March 2011; doi:10.1038/ijo.2011.66

Keywords: breast cancer; hip circumference; waist circumference; body mass index; hormone receptor; anthropometric measurements

Introduction

Body mass index (BMI), weight, waist (WC) and hip (HC) circumference and waist-to-hip ratio (WHR) are the most commonly used indicators for assessing the amount and distribution of adipose tissue in the body.^{1,2} Various studies and meta-analyses^{3–6} have already examined the link between these anthropometric measurements and breast cancer risk according to hormone receptor status, but some

associations remain controversial, especially for premenopausal and estrogen- and progesterone-receptor-negative (ER–/PR–) breast cancer risk.

Most premenopausal and ER–/PR– breast cancer risk factors remain unknown, possibly due to the restricted number of cases and poor statistical power in this subgroup.⁷ Progress in understanding the pathophysiology, therefore allowing potential prevention strategies, is most expected as these cancers have a lower short term survival rate compared with cancers in postmenopause or with positive hormone receptors.⁸

BMI is the risk factor that is most commonly investigated in the literature. Increased BMI has been convincingly associated with increased breast cancer risk in postmenopausal women, specifically ER+ tumors, and with decreased premenopausal breast cancer risk, except in Asian populations characterized by low adiposity.^{3–6,9–11} However, it is

Correspondence: Dr F Clavel-Chapelon, Team 9: Nutrition, Hormones and Women's Health, Center for Research in Epidemiology and Population Health (CESP) - INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale) U1018, Institut Gustave Roussy, 39 Rue Camille Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France.

E-mail: clavel@igr.fr

Received 29 October 2010; revised 4 February 2011; accepted 12 February 2011

still unclear as to whether there is a specific effect of abdominal obesity on breast cancer risk.^{12,13}

WC has often been associated with increased breast cancer risk in postmenopausal women, but not in premenopausal women,^{12,13} although this association was often lost when adjusting for BMI, which is highly correlated with WC.¹³⁻¹⁶

In contrast, little is known about HC, although fat storage may potentially exert a differential effect on breast cancer risk.² Moreover, although some studies have evaluated the combined effect of HC and WC through the WHR,¹³ little is known about the link between body shape and breast cancer risk.

Hormonal mechanisms have been put forward as potential explanations for associations between anthropometric measures and breast cancer risk. Indeed, serum total estradiol levels have been shown to be related to BMI, with an inverse U-shape before^{17,18} and a linear increase after menopause.¹² Furthermore, the possible relationship between central obesity and breast cancer risk is consistent with a role of insulin resistance in pre- and postmenopausal women,^{12,13,19,20} as central obesity is a predictor of insulin resistance independently of general obesity.¹³

To clarify potential associations between various anthropometric measures and breast cancer risk according to menopausal status and to the hormone receptor status of the cancer, we used data from the large French prospective E3N cohort that provided detailed information on HC, WC, WHR, height, weight and BMI.

Subjects and methods

Study cohort

The E3N cohort is made up of 98 995 women living in France and covered by a national health insurance scheme primarily involving school teachers. Participants were 40–65-years-old when they first entered the cohort between June 1990 and November 1991. At inclusion, they filled a baseline questionnaire, which contained questions on established risk factors for breast cancer, including aspects of reproductive life, menopausal status, history of benign breast disease, breast cancer in first-degree relatives and a variety of lifestyle characteristics. Follow-up questionnaires were sent out ~2–3 years thereafter.

All questionnaires inquired about cancer occurrence and type, requesting addresses of physicians and permission so as to contact them. A small number of breast cancer cases were further identified from insurance files and death certificates. Pathology reports were obtained for 92.7% of incident cases. Information on ER and PR status was extracted from those reports, and invasive breast cancer cases were classified into four categories according to whether they had positive or negative receptors: ER+/PR+, ER+/PR-, ER-/PR+ and ER-/PR-, plus a category for those with missing information on receptor status. Women were considered postmenopausal if they had had 12 consecutive months without menstrual

periods (unless due to hysterectomy), had undergone bilateral oophorectomy, had ever used menopausal hormone therapy, or self-reported that they were postmenopausal. We defined the date of menopause as the date preceding 12 consecutive months of amenorrhea (unless due to hysterectomy and if the last menstrual period occurred before menopausal hormone therapy use); the date of bilateral oophorectomy; or, if not available, in decreasing order of priority: the self-reported date of menopause, the date when menopausal hormone therapy use began, the date when menopausal symptoms began; or, if no information was available, the date corresponding to age 47 years if menopause was artificial, and age 51 years otherwise, ages which corresponded to the median ages for artificial and natural menopause in the cohort, respectively.

Assessment of anthropometric measurements

Self-reported weight was obtained from each of the seven consecutive questionnaires considered for this study, self-reported height from the first questionnaire (sent in 1990), fourth questionnaire (sent in 1995), sixth questionnaire (sent in 2000) and seventh questionnaire (sent in 2002), and self-reported WC and HC in the fourth questionnaire (sent in 1995) and seventh questionnaire (sent in 2002). Women were asked to measure their WC and HC as indicated in a figure in the questionnaire: WC was determined as the smallest circumference between the base of the ribs and the largest point of the iliac crest,²¹ whereas HC was the largest circumference at the maximum circumference of the buttocks, the subject standing with feet placed together.²²

BMI was computed at each questionnaire as weight/(height × height) (kg m^{-2}), using the closest available weight and a standardized height for all questionnaires, and WHR was computed as WC/HC. HC, WC and WHR were divided into tertiles with cutoffs of 93 and 99 cm for HC, 71 and 77 cm for WC and 0.75 and 0.80 for WHR. BMI was considered in five categories with cutoffs of 20, 22.5, 25 and 30 kg m^{-2} . Women were also grouped into four categories of body shape, which combined low versus high HC (cutoff 96 cm) with low versus high WC (cutoff 75 cm).

Population of analysis

Follow-up started in 1995, the date of return of the fourth questionnaire. Responders ($n=69\,149$) contributed person-years of follow-up until the date of cancer diagnosis, the date of the last completed questionnaire, or July 2005, date of mailing of the last questionnaire available (the eighth), whichever occurred first. We excluded women with any prevalent cancer (other than a basal cell carcinoma) ($n=3897$), women with no follow-up ($n=782$) and women with primary amenorrhea ($n=22$). During follow-up (accruing 582 144 person-years), 2609 breast cancer cases were diagnosed. We excluded women with non-validated breast cancer cases ($n=191$) or with an unknown hormone

receptor status ($n=531$), which left us with 1887 breast cancer cases in 63726 women. Median follow-up time was 5.1 years for women with breast cancer cases and 10.4 years for non-cases.

Statistical analysis

Cox proportional hazards regression models with age as the time-scale were used to estimate hazard ratios (HRs) and 95% confidence intervals of the risk for the four different categories of breast cancer defined by hormonal receptor status: ER+/PR+, ER+/PR-, ER-/PR+ and ER-/PR-.

Models were adjusted for the following variables: education level (undergraduate/graduate or postgraduate), total physical activity (MET-h/week, recorded at baseline), alcohol-free energy intake (kcal per day) and alcohol intake (g per day, estimated from the dietary questionnaire sent in 1993), smoking status (non-smoker/smoker, considered as a time-dependent variable), age at menarche (year, continuous), nulliparity (yes/no) and age at first full-term pregnancy (before/after 30 years), breastfeeding (yes/no), use of oral contraceptive (never, current use or former use stopped less than 10 years ago, former use stopped over 10 years ago, as a time-dependent variable), age at menopause (continuous, for postmenopausal women only), family history of breast cancer (time-dependent), mammography during the previous follow-up period (yes/no, time-dependent), history of benign breast disease (never/ever, time-dependent) and use of hormone replacement therapy (current/non-user, time-dependent, for postmenopausal women only). They were further stratified on year of birth ([1925–1930]/[1930–1935]/[1935–1940]/[1940–1945]/[1945–1950]). Due to the interaction between BMI and breast cancer risk ($P=0.01$), models were stratified on menopausal status. In additional series, models were adjusted for height (cm, time-dependent) and BMI (kg m^{-2} , time-dependent). When data were missing for less than 5% of adjustment variables, we replaced missing values by the median value. When weight (and thus BMI) was missing at one questionnaire, the preceding value was considered until the next known value. We used competitive models to estimate HR pertaining to the different types of breast cancer. The χ^2 -tests were computed to evaluate homogeneity between breast cancer types in the association with the main exposure variable, after adjustment for the above-mentioned confounding factors. All P -values were two tailed. All analyses were performed using SAS software, version 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA).

Results

Baseline mean characteristics of the study population and their standard deviations are presented in Table 1 according to the case/non-case status.

The distribution of the 1887 breast cancer cases was as follows: 1167 were ER+/PR+, 347 were ER+/PR-, 76 were

Table 1 Baseline characteristics of the study population ($N=63\,726$)

Variable	Mean (s.d.)	
	Cases ($N=1887$)	Non-cases ($N=61839$)
Height (cm)	162 (5.7)	161 (5.7)
Weight (kg)	59 (9.5)	59 (9.7)
BMI (kg m^{-2})	22.7 (3.4)	22.7 (3.5)
Hip circumference (cm)	96 (8.1)	96 (8.3)
Waist circumference (cm)	75 (9.0)	75 (9.0)
Waist to hip ratio	0.78 (0.1)	0.78 (0.1)
Age (year)	54 (6.3)	53 (6.7)
Physical activity (MET-h/week)	45.4 (32.0)	46.3 (37.4)
Number of children	2 (1.1)	2 (1.2)
Age at first full-term pregnancy (year)	24 (4.4)	24 (4.0)
Age at first period (year)	13 (1.3)	13 (1.4)
Variable	%	
Education		
Undergraduate	85.8	84.2
Graduate/postgraduate	14.2	15.8
Family history of breast cancer		
None	82.3	88.5
At least one	17.7	11.5
Mammography		
Never	4.8	7.6
Ever	95.2	92.4
Use of oral contraceptives		
Never	40.8	39.8
Ever	59.2	60.2
Personal history of benign breast disease		
None	59.6	69.7
At least one	40.4	30.3
Menopausal status		
Premenopause	34.5	36.6
Postmenopause	65.5	63.4
Current use of hormone replacement therapy (menopausal women)		
No	51.4	59.9
Yes	48.6	40.1

Abbreviation: BMI, body mass index.

ER-/PR+ and 297 were ER-/PR-. Regarding ER+/PR- and ER-/PR+ breast cancer, there was no association with any of the studied anthropometric factors; thus, results regarding these groups are available as online data supplements (Supplementary Tables 4–6), although we focused our analyses on ER+/PR+ and ER-/PR- breast cancers.

HR associated with tertiles of height, weight and category of BMI are shown in Table 2. We found no association between height and ER+/PR+ breast cancer risk, whether at pre- or postmenopause. Weight was weakly associated with ER+/PR+ breast cancer risk, with a borderline negative trend detected for premenopause ($P=0.07$) and a positive trend for postmenopause ($P<0.01$). We did not find any association between weight, height, BMI and ER-/PR- breast cancer risk.

Table 2 Multivariate HR and 95% CI of pre- and postmenopausal ER+/PR+ and ER-/PR- breast cancer risk associated with tertiles of height, weight and categories of BMI in the French E3N cohort (N=63 726)

	ER+/PR+								ER-/PR-							
	Premenopausal women (N=223)				Postmenopausal women (N=944)				Premenopausal women (N=54)				Postmenopausal women (N=243)			
	N	HR	95%CI	P	N	HR	95%CI	P	N	HR	95%CI	P	N	HR	95%CI	P
Height (cm)*																
<159	56	1	Reference		289	1	Reference		21	1	Reference		79	1	Reference	
159-164	75	1.05	0.74 1.48	0.47	319	1.06	0.90 1.24	0.09	14	0.50	0.26 0.99	0.11	76	0.88	0.64 1.21	0.86
≥164	92	1.13	0.81 1.58		336	1.15	0.98 1.35		19	0.59	0.31 1.10		88	1.02	0.75 1.39	
Weight (kg)*																
<56	80	1	Reference		228	1	Reference		14	1	Reference		80	1	Reference	
56-63	82	1.06	0.78 1.45	0.07	295	1.23	1.04 1.47	<0.01	21	1.65	0.84 3.25		69	0.82	0.59 1.13	0.37
≥63	61	0.72	0.51 1.01		421	1.38	1.17 1.63		19	1.40	0.70 2.82		94	0.86	0.64 1.17	
Body mass index (kgm⁻²)*																
<20	44	1	Reference		88	1	Reference		8	1	Reference		27	1	Reference	
20-22.4	83	0.78	0.54 1.13	0.04	270	1.11	0.87 1.42	<0.01	17	0.93	0.40 2.17	0.20	85	1.20	0.77 1.87	0.35
22.5-24.9	58	0.73	0.49 1.09		279	1.23	0.96 1.56		17	1.40	0.60 3.27		67	1.00	0.63 1.58	
25-29.9	33	0.60	0.38 0.96		241	1.37	1.07 1.76		9	1.18	0.45 3.11		54	1.02	0.63 1.65	
≥30	5	0.40	0.16 1.00		66	1.63	1.17 2.28		3	1.45	0.38 5.59		10	0.77	0.36 1.66	

Abbreviations: BMI, body mass index; HR, hazard ratio; CI, confidence interval. *Models were adjusted for the following variables: education level (undergraduate/graduate or postgraduate), total physical activity (MET-h/ week, baseline), alcohol-free energy intake (kcal per day), alcohol intake (g per day, variables estimated from the dietary questionnaire sent in 1993), smoking status (non-smoker/smoker, time-dependent), age at menarche (year, continuous), nulliparity (yes/no) and age at first full-term pregnancy (before/after 30 years), breastfeeding (yes/no), use of oral contraceptive (never, current use or former use since less than 10 years, former use since more than 10 years, time-dependent), age at menopause (continuous, for postmenopausal women only), family history of breast cancer (time-dependent), mammography during the previous follow-up period (yes/no, time-dependent), history of benign breast disease (never/ever, time-dependent), use of hormone replacement therapy (current/non-user, time-dependent, for postmenopausal women only), further stratified on year of birth ([1925-1930]/[1930-1935]/[1935-1940]/[1940-1945]/[1945-1950]).

Similarly to weight, BMI had an inverse effect on pre- and postmenopausal ER+/PR+ breast cancer risk, with a decreased risk for premenopause and an increased risk for postmenopause (HR=0.40 (0.16-1.00), *P*-trend=0.04 and HR=1.63 (1.17-2.28), *P*-trend <0.01, respectively, when comparing categories of BMI >30 kg m⁻² vs BMI <20 kg m⁻²). There was no association between BMI and ER-/PR- breast cancer risk at pre- or postmenopause.

We then analyzed HR associated with HC, WC, WHR and body shape in multivariate models with and without adjustment for BMI, among women with ER+/PR+ (Table 3a) and ER-/PR- (Table 3b) breast cancers, respectively.

There was a significant increase in ER+/PR+ postmenopausal breast cancer risk with increasing HC and WC, which disappeared after adjustment for BMI (Table 3a). No association was detected with WHR or body shape distribution. In premenopausal women, a positive association with HC was detected after adjustment for BMI with, in the highest tertile, a HR of 1.65 (1.04-2.62) and a positive trend across tertiles (*P*=0.03). No significant association between ER+/PR+ breast cancer risk and WC, WHR or fat distribution was observed after adjustment for BMI.

Regarding ER-/PR- cancers (Table 3b), the only significant association observed in premenopausal women concerned HC, and significance was not altered after adjusting for BMI (HR in the last tertile as compared with the first =3.13 (1.19-8.27); *P*-trend across tertiles=0.02). Associations between HC and premenopausal breast cancer were significantly different between ER+/PR+ and ER-/PR-

cancers (homogeneity χ^2 -test, *P*=0.02) in models not adjusted for BMI; however, the test for homogeneity was no longer statistically significant after adjusting for BMI (*P*=0.25). The increased risk of ER-/PR- premenopausal breast cancer associated with high HC was independent of WC or BMI; in women with high HC/low WC, HR were 2.66 (1.15-6.14) and 2.81 (1.18-6.70) without and with adjustment for BMI, respectively; in women with high HC/high WC, HR were 2.44 (1.24-4.81) and 2.79 (1.16-6.76) without and with adjustment for BMI, respectively, as compared with women with low HC/low WC. An additional analysis on four subgroups of women crossing two categories of HC (cutpoint 96 cm) with two categories of BMI (cutpoint 22.7) also revealed that increases in risk in premenopausal women with high HC in the ER+/PR+ and ER-/PR- subgroups were observed whatever the BMI of the women (data not shown).

There was no association of any anthropometric variable with postmenopausal ER-/PR- breast cancers.

Further adjustment for height as a continuous variable or as a categorical variable, or adjusting for WC and HC reciprocally, did not modify associations between HC, WC or WHR and breast cancer (data not shown).

Discussion

In this large cohort of French women, weight and BMI were associated with risk of breast cancer types having double-positive hormone receptors, but not with any other type.

Table 3a Multivariate HR and 95% CI of pre- and postmenopausal ER+/PR+ breast cancer risk associated with tertiles of HC, WC, WHR and body shape distribution in the French E3N cohort (N = 63 726)

	<i>ER+/PR+ (not adjusted for BMI)</i>								<i>ER+/PR+ (adjusted for BMI)</i>							
	Premenopausal women (N = 223)				Postmenopausal women (N = 944)				Premenopausal women (N = 223)				Postmenopausal women (N = 944)			
	N	HR	95%CI	P	N	HR	95%CI	P	N	HR	95%CI	P	N	HR	95%CI	P
Hip circumference (cm)*																
<93	75	1	Reference		215	1	Reference		75	1	Reference		215	1	Reference	
93–99	76	1.10	0.79 1.54	0.77	311	1.25	1.04 1.49	<0.01	76	1.29	0.91 1.83	0.03	311	1.17	0.97 1.40	0.58
≥99	72	1.05	0.74 1.48		418	1.31	1.10 1.55		72	1.65	1.04 2.62		418	1.07	0.86 1.34	
Waist circumference (cm)*																
<71	78	1	Reference		212	1	Reference		78	1	Reference		212	1	Reference	
71–77	90	1.21	0.89 1.65	0.04	253	1.11	0.92 1.34	0.03	90	1.24	0.89 1.72	0.28	253	1.05	0.87 1.27	0.96
≥77	55	0.67	0.46 0.96		479	1.21	1.02 1.44		55	0.71	0.44 1.13		479	1.01	0.82 1.25	
Waist-to-hip ratio*																
<0.75	68	1	Reference		211	1	Reference		68	1	Reference		211	1	Reference	
0.75–0.80	99	1.07	0.78 1.48	0.02	316	0.98	0.82 1.17	0.80	99	1.09	0.80 1.50	0.07	316	0.96	0.81 1.15	0.52
≥0.80	56	0.66	0.46 0.95		417	1.02	0.86 1.21		56	0.70	0.48 1.02		417	0.94	0.79 1.13	
Body shape*																
Low HC/low WC	101	1	Reference		243	1	Reference		101	1	Reference		243	1	Reference	
Low HC/high WC	27	0.84	0.52 1.35		119	1.19	0.95 1.49		27	0.87	0.54 1.42		119	1.13	0.90 1.42	
High HC/low WC	35	1.17	0.79 1.75	/	99	1.13	0.89 1.44	/	35	1.23	0.81 1.86	/	99	1.06	0.83 1.35	/
High HC/high WC	60	0.72	0.51 1.01		483	1.28	1.09 1.50		60	0.80	0.51 1.26		483	1.09	0.89 1.33	

Abbreviations: BMI, body mass index; HC, hip circumference; HR, hazard ratio; CI, confidence interval; WC, waist circumferences, WHR, waist-to-hip ratio. *Models were adjusted for the following variables: education level (undergraduate/graduate or postgraduate), total physical activity (MET-h/ week, baseline), alcohol-free energy intake (kcal per day), alcohol intake (g per day, variables estimated from the dietary questionnaire sent in 1993), smoking status (non-smoker/smoker, time-dependent), age at menarche (year, continuous), nulliparity (yes/no) and age at first full-term pregnancy (before/after 30 years), breastfeeding (yes/no), use of oral contraceptive (never, current use or former use since less than 10 years, former use since more than 10 years, time-dependent), age at menopause (continuous, for postmenopausal women only), family history of breast cancer (time-dependent), mammography during the previous follow-up period (yes/no, time-dependent), history of benign breast disease (never/ever, time-dependent), use of hormone replacement therapy (current/non user, time-dependent, for postmenopausal women only), and height (cm, time-dependent), further stratified on year of birth ([1925–1930]/[1930–1935]/[1935–1940]/[1940–1945]/[1945–1950]).

Table 3b Multivariate HR and 95% CI of pre- and postmenopausal ER–/PR– breast cancer risk associated with tertiles of HC, WC, WHR and body shape distribution in the French E3N cohort (N = 63 726)

	<i>ER–/PR– (not adjusted for BMI)</i>								<i>ER–/PR– (adjusted for BMI)</i>							
	Premenopausal women (N = 54)				Postmenopausal women (N = 243)				Premenopausal women (N = 54)				Postmenopausal women (N = 243)			
	N	HR	95%CI	P	N	HR	95%CI	P	N	HR	95%CI	P	N	HR	95%CI	P
Hip circumference (cm)*																
<93	11	1	Reference		69	1	Reference		11	1	Reference		69	1	Reference	
93–99	22	2.71	1.29 5.66	<0.01	78	1.02	0.74 1.42	0.90	22	2.76	1.28 5.96	0.02	78	1.07	0.76 1.51	0.64
≥99	21	2.85	1.33 6.13		96	0.98	0.71 1.36		21	3.13	1.19 8.27		96	1.11	0.72 1.71	
Waist circumference (cm)*																
<71	16	1	Reference		70	1	Reference		16	1	Reference		70	1	Reference	
71–77	19	1.55	0.78 3.11	0.25	69	0.88	0.63 1.24	0.20	19	1.37	0.67 2.79	0.79	69	0.90	0.63 1.27	0.43
≥77	19	1.52	0.75 3.07		104	0.81	0.59 1.12		19	1.10	0.45 2.68		104	0.85	0.57 1.27	
Waist-to-hip ratio*																
<0.75	19	1	Reference		61	1	Reference		19	1	Reference		61	1	Reference	
0.75–0.80	16	0.61	0.31 1.24	0.64	79	0.83	0.59 1.16	0.42	16	0.58	0.29 1.17	0.37	79	0.84	0.60 1.18	0.65
≥0.80	19	0.84	0.44 1.62		103	0.86	0.62 1.19		19	0.72	0.37 1.42		103	0.91	0.65 1.27	
Body shape*																
Low HC/low WC	15	1	Reference		85	1	Reference		15	1	Reference		85	1	Reference	
Low HC/high WC	7	1.34	0.48 3.71		25	0.76	0.48 1.20		7	1.41	0.50 3.98		25	0.78	0.49 1.25	
High HC/low WC	9	2.66	1.15 6.14	/	32	1.12	0.73 1.70	/	9	2.81	1.18 6.70	/	32	1.16	0.75 1.79	/
High HC/high WC	23	2.44	1.24 4.81		101	0.88	0.65 1.19		23	2.79	1.16 6.76		101	0.96	0.64 1.43	

Abbreviations: BMI, body mass index; HC, hip circumference; HR, hazard ratio; CI, confidence interval; WC, waist circumferences, WHR, waist-to-hip ratio. *Models were adjusted for the following variables: education level (undergraduate/graduate or postgraduate), total physical activity (MET-h/ week, baseline), alcohol-free energy intake (kcal per day), alcohol intake (g per day, variables estimated from the dietary questionnaire sent in 1993), smoking status (non-smoker/smoker, time-dependent), age at menarche (year, continuous), nulliparity (yes/no) and age at first full-term pregnancy (before/after 30 years), breastfeeding (yes/no), use of oral contraceptive (never, current use or former use since less than 10 years, former use since more than 10 years, time-dependent), age at menopause (continuous, for postmenopausal women only), family history of breast cancer (time-dependent), mammography during the previous follow-up period (yes/no, time-dependent), history of benign breast disease (never/ever, time-dependent), use of hormone replacement therapy (current/non user, time-dependent, for postmenopausal women only), and height (cm, time-dependent), further stratified on year of birth ([1925–1930]/[1930–1935]/[1935–1940]/[1940–1945]/[1945–1950]).

The effect tended toward an increase after menopause, and a decrease before. HC was associated with risk of premenopausal double-positive and double-negative breast cancers. The association was stronger with ER-/PR- tumors than with ER+/PR+ cancers, where the risk appeared only after adjustment for BMI. Height, WC and WHR were not associated with any type of breast cancer either in pre- or postmenopause.

Height and breast cancer risk

The influence of height on breast cancer has been hypothesized to be associated with an increased risk, but evidence is limited: such an influence seemed to be restricted to postmenopausal women in one case-control study,²³ or was very weakly associated with increased breast cancer mortality risk in a pooled analysis of 38 population-based cohort studies in Asia-Pacific,²⁴ whatever the hormonal receptor status of the tumor. We did not observe any association between breast cancer risk and height, but the height range in our cohort was limited, with few tall women.

Overall adiposity and breast cancer risk

Concerning BMI, our results were consistent with those found in the existing literature. Three reviews recently summarized results on the association between body weight or BMI and breast cancer according to receptor status.³⁻⁵ Suzuki *et al.*⁵ combined results of nine cohort and 22 case-control studies to evaluate the impact of BMI on breast cancer defined by receptor status in pre- and postmenopausal women. They found decreased risk of premenopausal ER+/PR+ breast cancer (HR=0.80 (0.70-0.92)), but increased risk for ER+/PR+ postmenopausal women (HR=1.82 (1.55-2.14)) when comparing the highest vs the lowest BMI categories. They found no association in the ER-/PR- subgroup. Althuis *et al.*⁴ in their review of the literature, Chen *et al.*³ in their meta-analysis and more recently Kawai *et al.*,²⁵ Parr *et al.*²⁶ and Singh *et al.*²⁷ also concluded to an increased risk of postmenopausal breast cancers associated with high BMI; this risk was more pronounced for cancers with positive receptors than those with negative receptors.

It has been suggested that risk factors associated with ER+/PR+ breast cancer may operate through exposure to estrogen and progesterone, unlike those associated with ER-/PR- breast cancer, which may involve mechanisms independent of steroid exposure.²⁸ Our findings of an association between BMI (negative at premenopause and positive at postmenopause) and breast cancer risk restricted to ER+/PR+ tumors is in agreement with this hypothesis, as total serum estradiol levels have been shown to decrease in premenopausal women, but to increase in postmenopausal women with increasing BMI.¹⁸ Furthermore, Key *et al.*²⁹ showed that the increase in postmenopausal breast cancer risk with increasing BMI was substantially reduced after

adjustment for serum estrogen concentration, underlining the important role of estrogens, particularly bioavailable estrogens, in the association of breast cancer with BMI.²⁹ Unfortunately, estrogen levels were unavailable in our study for most subjects, making any adjustment impossible.

Central versus abdominal adiposity and breast cancer risk

Most studies that specifically analyzed the link between WC or HC and breast cancer risk failed to consider the receptor status of the tumor.^{13,14,30-32} In the EPIC cohort, Lahmann *et al.*³¹ found that HC was the only measure significantly associated with premenopausal breast cancer risk, after accounting for BMI. In one report from a case-control study, WC and WHR were not related to breast cancer whatever the hormone receptor status of the cancer and whatever the menopausal status of the women.³³ Harvie *et al.*¹³ concluded from a review of the literature that associations of WC and WHR with postmenopausal breast cancer risk were explained by the strong correlation between WC, WHR and BMI, a conclusion that fits with our findings. They¹³ also suggested that central but not general obesity may be specifically associated with an increased risk of breast cancer among premenopausal women. Our results did not support a specific effect of central obesity in premenopausal women, but rather a risk associated with large hips.

To the best of our knowledge, a specific association of large hips with risk of premenopausal double-positive or double-negative breast cancer has not been previously reported. Harris *et al.*³⁴ found that body fat distribution variables were associated with risk of ER- breast cancer subgroup, a result in line with our findings for HC, but not for WC and WHR where no significant association appeared for ER-/PR- subgroup.

As there has been little consistency regarding associations between anthropometry and ER-/PR- tumors, especially at premenopause, the positive association we found with HC is potentially of great interest. Despite the small number of cases, the association with HC reached statistical significance in the ER-/PR- breast cancer subgroup, a result, which needs to be confirmed by studies with larger numbers of ER-/PR- cases. The fact that large hips are associated with risk independently of WC and thus independently of an apple (larger waist than hips) or pear (larger hips than waist) shape is in favor of a specific factor associated with large hips. This could lead to new pathophysiological hypotheses regarding premenopausal breast cancer. To our knowledge, no study exists on the link between HC and breast cancer risk according to hormone receptor status. Similarly to our results for premenopause, HC was found to be a significant and independent predictor of pre- and postmenopausal breast cancer in a Chinese cohort study³⁵ in which, interestingly, women had a mean BMI close to the mean BMI in our study (23.6 vs. 23.3 kg m⁻²). Large HC has been inversely associated with cardiovascular disease and diabetes risk in women,³⁶⁻³⁹ and may thus reflect a proportionally

greater lean mass and subcutaneous fat mass in the lower body; this, in turn, is associated with reduced insulin resistance;³⁸ thus, reduced breast cancer risk should be expected.¹³ Two potential explanations for our contradictory findings can be proposed. Larger HC might reflect greater exposure to gonadal steroids.⁴⁰ This relationship between HC and estradiol exposure might explain why the association between HC and ER+/PR+ postmenopausal cancer risk disappears after adjustment for BMI, as the latter is strongly correlated with estradiol in postmenopause.¹² Conversely, this relationship might account for the increase in the association between HC and premenopausal ER+/PR+ cancer risk after adjustment for BMI, which is inversely correlated with estradiol in premenopausal overweight women.¹⁸

Possible mechanisms

Another mechanism involved in the association between premenopausal ER+/PR+ and ER-/PR- breast cancer risk and HC may involve leptin, one of the most important adipose tissue-derived hormone. Indeed, serum leptin levels were found to be significantly correlated with HC after controlling for fat mass.⁴¹ Leptin stimulates estrogen biosynthesis by inducing aromatase activity and ensuing stimulation of estrogen-dependent breast cancer progression.⁴¹ However, as many other cytokines, it also has direct mitogenic, anti-apoptotic, pro-angiogenic and pro-inflammatory effects in various cellular systems, and could thus promote estrogen-independent breast cancer development.⁴² Consistently with these potential mechanisms, it has been shown *in vitro* that inhibition of leptin signaling results in reduced tumor activity in ER+ as well as ER- breast cancer cells.⁴³ Finally the rapid decline in circulating leptin levels rapidly decline after menopause.⁴⁴ This may contribute to the restriction to premenopausal women of the association between HC and ER-/PR- cancer risk.

Limitations

The self-report of anthropometric measurements is a potential limitation in our study. However, a validation study comparing self-reported measurements to those made by a trained nurse proved them to be very reliable:⁴⁵ except for height ($r=0.56$) correlation coefficients that were higher than 0.80 for all the anthropometric factors analyzed, with a maximum of 0.94 for weight. BMI correlation coefficient was 0.78. Anyway, a non-differential reporting bias would tend to reduce the true associations rather than amplify non-existing ones. Self-measurement of HC, defined as the largest circumference below the umbilicus, could lead to some heterogeneity depending on a woman's morphology. However, the validation study⁴⁵ proved that the measures were indeed highly consistent.

Data on hormone receptors were taken from various laboratories and ER and PR results were scored as positive or negative using techniques and cutoffs that may not have been standardized. However, any resulting outcome

misclassification is unlikely to be related to anthropometric factors, and would tend to weaken and obscure any real differences in the association of anthropometric factors with different types of breast cancer. A total of 531 women were excluded of the present analysis because hormone receptor status was unavailable. We compared these women to those with available data on hormone receptor status in terms of anthropometrical characteristics, and results were very similar, suggesting that these women do not have a specific profile.

Conclusion

Our study is the first, to our knowledge, to model the association between HC, WC, WHR, height, weight and BMI with breast cancer defined by both menopausal status and receptor status. HC, whatever the WC, is associated with an increased risk of premenopausal breast cancer of both the ER+/PR+ and ER-/PR- subtypes, which may provide insight into a specific risk factor for premenopausal breast cancer. Moreover, in light of the obesity epidemic, the number of women with large HC may continue to increase, leading to further epidemiological studies which could confirm our findings. More specific counseling, and eventually specific preventive strategies, may then be offered to obese women or with large HC.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

We are indebted to all participants for providing data and to practitioners for providing pathology reports. The authors are grateful to Jerri Bram for her assistance with the English and to the E3N group. This work was supported by the Institut National du Cancer, the Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale, the Institut de Cancérologie Gustave Roussy and the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale. Guy Fagherazzi was funded by the French Ministry of Research. Alban Fabre was funded by the Cancéropôle – Région Ile de France. The study sponsors had no role in the design of the study, analysis or interpretation of data, writing of the manuscript or the decision to submit the manuscript for publication.

References

- 1 Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 579–591.

- 2 Aronne LJ. Classification of obesity and assessment of obesity-related health risks. *Obes Res* 2002; 10 (Suppl 2): 105S-115S.
- 3 Chen WY, Colditz GA. Risk factors and hormone-receptor status: epidemiology, risk-prediction models and treatment implications for breast cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2007; 4: 415-423.
- 4 Althuis MD, Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Brinton LA, Madigan MP, Sherman ME. Etiology of hormone receptor-defined breast cancer: a systematic review of the literature. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 1558-1568.
- 5 Suzuki R, Orsini N, Saji S, Key TJ, Wolk A. Body weight and incidence of breast cancer defined by estrogen and progesterone receptor status—a meta-analysis. *Int J Cancer* 2009; 124: 698-712.
- 6 Colditz GA, Rosner BA, Chen WY, Holmes MD, Hankinson SE. Risk factors for breast cancer according to estrogen and progesterone receptor status. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 218-228.
- 7 Yasui Y, Potter JD. The shape of age-incidence curves of female breast cancer by hormone-receptor status. *Cancer Causes Control* 1999; 10: 431-437.
- 8 Bentzon N, During M, Rasmussen BB, Mouridsen H, Kroman N. Prognostic effect of estrogen receptor status across age in primary breast cancer. *Int J Cancer* 2008; 122: 1089-1094.
- 9 Ahn J, Schatzkin A, Lacey Jr JV, Albanes D, Ballard-Barbash R, Adams KF *et al.* Adiposity, adult weight change, and postmenopausal breast cancer risk. *Arch Intern Med* 2007; 167: 2091-2102.
- 10 Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet* 2008; 371: 569-578.
- 11 Wiseman M. *The Second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Expert Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective.* World Cancer Research Fund International, 2010; London, UK.
- 12 Friedenreich CM. Review of anthropometric factors and breast cancer risk. *Eur J Cancer Prev* 2001; 10: 15-32.
- 13 Harvie M, Hooper L, Howell AH. Central obesity and breast cancer risk: a systematic review. *Obes Rev* 2003; 4: 157-173.
- 14 Huang Z, Willett WC, Colditz GA, Hunter DJ, Manson JE, Rosner B *et al.* Waist circumference, waist:hip ratio, and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* 1999; 150: 1316-1324.
- 15 Tian YF, Chu CH, Wu MH, Chang CL, Yang T, Chou YC *et al.* Anthropometric measures, plasma adiponectin, and breast cancer risk. *Endocr Relat Cancer* 2007; 14: 669-677.
- 16 Tehard B, Clavel-Chapelon F. Several anthropometric measurements and breast cancer risk: results of the E3N cohort study. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30: 156-163.
- 17 Potischman N, Swanson CA, Siiteri P, Hoover RN. Reversal of relation between body mass and endogenous estrogen concentrations with menopausal status. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 756-758.
- 18 Thomas HV, Key TJ, Allen DS, Moore JW, Dowsett M, Fentiman IS *et al.* Re: Reversal of relation between body mass and endogenous estrogen concentrations with menopausal status. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 396-398.
- 19 Agnoli C, Berrino F, Abagnato CA, Muti P, Panico S, Crosignani P *et al.* Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer in the ORDET cohort: a nested case-control study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010; 20: 41-48.
- 20 Vona-Davis L, Howard-McNatt M, Rose DP. Adiposity, type 2 diabetes and the metabolic syndrome in breast cancer. *Obes Rev* 2007; 8: 395-408.
- 21 Wang J, Thornton JC, Bari S, Williamson B, Gallagher D, Heymsfield SB *et al.* Comparisons of waist circumferences measured at 4 sites. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 379-384.
- 22 Snijder MB, Zimmet PZ, Visser M, Dekker JM, Seidell JC, Shaw JE. Independent and opposite associations of waist and hip circumferences with diabetes, hypertension and dyslipidemia: the AusDiab Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28: 402-409.
- 23 Iwasaki M, Otani T, Inoue M, Sasazuki S, Tsugane S. Body size and risk for breast cancer in relation to estrogen and progesterone receptor status in Japan. *Ann Epidemiol* 2007; 17: 304-312.
- 24 Batty GD, Barzi F, Woodward M, Jamrozik K, Woo J, Kim HC *et al.* Adult height and cancer mortality in Asia: the Asia Pacific Cohort Studies Collaboration. *Ann Oncol* 2010; 21: 646-654.
- 25 Kawai M, Minami Y, Kuriyama S, Kakizaki M, Kakugawa Y, Nishino Y *et al.* Adiposity, adult weight change and breast cancer risk in postmenopausal Japanese women: the Miyagi Cohort Study. *Br J Cancer* 2010; 103: 1443-1447.
- 26 Parr CL, Batty GD, Lam TH, Barzi F, Fang X, Ho SC *et al.* Body-mass index and cancer mortality in the Asia-Pacific Cohort Studies Collaboration: pooled analyses of 424,519 participants. *Lancet Oncol* 2010; 11: 741-752.
- 27 Singh AK, Pandey A, Tewari M, Pratyush DD, Singh HK, Pandey HP *et al.* Obesity augmented breast cancer risk: A potential risk factor for Indian women. *J Surg Oncol* 2011; 103: 217-222.
- 28 Huang WY, Newman B, Millikan RC, Schell MJ, Hulka BS, Moorman PG. Hormone-related factors and risk of breast cancer in relation to estrogen receptor and progesterone receptor status. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 703-714.
- 29 Key TJ, Appleby PN, Reeves GK, Roddam A, Dorgan JF, Longcope C *et al.* Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1218-1226.
- 30 Sonnenschein E, Toniolo P, Terry MB, Bruning PE, Kato I, Koenig KL *et al.* Body fat distribution and obesity in pre- and postmenopausal breast cancer. *Int J Epidemiol* 1999; 28: 1026-1031.
- 31 Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, van Gils CH, Khaw KT, Tehard B *et al.* Body size and breast cancer risk: findings from the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2004; 111: 762-771.
- 32 Mellemejkjaer L, Bigaard J, Tjønneland A, Christensen J, Thomsen B, Johansen C *et al.* Body composition and breast cancer in postmenopausal women: a Danish prospective cohort study. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14: 1854-1862.
- 33 Pinheiro RL, Sarian LO, Pinto-Neto AM, Morais S, Costa-Paiva L. Relationship between body mass index, waist circumference and waist to hip ratio and the steroid hormone receptor status in breast carcinoma of pre- and postmenopausal women. *Breast* 2009; 18: 8-12.
- 34 Harris HR, Willett WC, Terry KL, Michels KB. Body fat distribution and risk of premenopausal breast cancer in the Nurses' Health Study II. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103: 273-278.
- 35 Wu MH, Chou YC, Yu JC, Yu CP, Wu CC, Chu CM *et al.* Hormonal and body-size factors in relation to breast cancer risk: a prospective study of 11,889 women in a low-incidence area. *Ann Epidemiol* 2006; 16: 223-229.
- 36 Heitmann BL, Frederiksen P, Lissner L. Hip circumference and cardiovascular morbidity and mortality in men and women. *Obes Res* 2004; 12: 482-487.
- 37 Lissner L, Bjorkelund C, Heitmann BL, Seidell JC, Bengtsson C. Larger hip circumference independently predicts health and longevity in a Swedish female cohort. *Obes Res* 2001; 9: 644-646.
- 38 Parker ED, Pereira MA, Stevens J, Folsom AR. Association of hip circumference with incident diabetes and coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Am J Epidemiol* 2009; 169: 837-847.
- 39 Seidell JC, Perusse L, Despres JP, Bouchard C. Waist and hip circumferences have independent and opposite effects

- on cardiovascular disease risk factors: the Quebec Family Study. *Am J Clin Nutr* 2001; **74**: 315–321.
- 40 Rosenbaum M, Leibel RL. Clinical review 107: Role of gonadal steroids in the sexual dimorphisms in body composition and circulating concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; **84**: 1784–1789.
- 41 Peltz G, Sanderson M, Perez A, Sexton K, Ochoa CD, Fadden MK. Serum leptin concentration, adiposity, and body fat distribution in Mexican-Americans. *Arch Med Res* 2007; **38**: 563–570.
- 42 Pichard C, Plu-Bureau G, Neves-E Castro Gompel A. Insulin resistance, obesity and breast cancer risk. *Maturitas* 2008; **60**: 19–30.
- 43 Rene GR, Watters A, Xu Y, Singh UP, Mann DR, Rueda BR *et al*. Leptin-signaling inhibition results in efficient anti-tumor activity in estrogen receptor positive or negative breast cancer. *Breast Cancer Res* 2009; **11**: R36.
- 44 Isidori AM, Strollo F, More M, Caprio M, Aversa A, Moretti C *et al*. Leptin and aging: correlation with endocrine changes in male and female healthy adult populations of different body weights. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; **85**: 1954–1962.
- 45 Tehard B, van Liere MJ, Com NC, Clavel-Chapelon F. Anthropometric measurements and body silhouette of women: validity and perception. *J Am Diet Assoc* 2002; **102**: 1779–1784.

Supplementary Information accompanies the paper on International Journal of Obesity website (<http://www.nature.com/ijo>)

Article 4 : Sartorelli DS, **Fagherazzi G**, Balkau B, Touillaud MS, Boutron-Ruault MC, de Lauzon-Guillain B, Clavel-Chapelon F.

Differential effects of coffee on the risk of type 2 diabetes according to meal consumption in a French cohort of women: the E3N/EPIC cohort study.

Am J Clin Nutr. 2010 Apr;91(4):1002-12. Epub 2010 Feb 10.

Differential effects of coffee on the risk of type 2 diabetes according to meal consumption in a French cohort of women: the E3N/EPIC cohort study¹⁻³

Daniela S Sartorelli, Guy Fagherazzi, Beverley Balkau, Marina S Touillaud, Marie-Christine Boutron-Ruault, Blandine de Lauzon-Guillain, and Françoise Clavel-Chapelon

ABSTRACT

Background: Coffee consumption has been associated with a lower risk of diabetes, but little is known about the mechanisms responsible for this association, especially related to the time when coffee is consumed.

Objective: We examined the long-term effect of coffee, globally and according to the accompanying meal, and of tea, chicory, and caffeine on type 2 diabetes risk.

Design: This was a prospective cohort study including 69,532 French women, aged 41–72 y from the E3N/EPIC (Etude Epidémiologique auprès de Femmes de la Mutuelle Générale de l'Education Nationale/European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) cohort study, without diabetes at baseline. Food and drink intakes per meal were assessed by using a validated diet-history questionnaire in 1993–1995.

Results: During a mean follow-up of 11 y, 1415 new cases of diabetes were identified. In multivariable Cox regression models, the hazard ratio in the highest category of coffee consumption [≥ 3 cups (375 mL)/d] was 0.73 (95% CI: 0.61, 0.87; P for trend < 0.001), in comparison with no coffee consumption. This inverse association was restricted to coffee consumed at lunchtime (hazard ratio: 0.66; 95% CI: 0.57, 0.76) when comparing >1.1 cup (125 mL)/meal with no intake. At lunchtime, this inverse association was observed for both regular and decaffeinated coffee and for filtered and black coffee, with no effect of sweetening. Total caffeine intake was also associated with a statistically significantly lower risk of diabetes. Neither tea nor chicory consumption was associated with diabetes risk.

Conclusions: Our data support an inverse association between coffee consumption and diabetes and suggest that the time of drinking coffee plays a distinct role in glucose metabolism. *Am J Clin Nutr* doi: 10.3945/ajcn.2009.28741.

INTRODUCTION

Coffee is among the most widely consumed beverages in the world and has been associated with a lower risk of type 2 diabetes in ≥ 17 prospective cohorts and in one meta-analysis (1–10). It has been suggested that the benefits of increased coffee consumption result principally from its constituents: magnesium, chlorogenic acids, and lignans (11). Many possible mechanisms for the effects of coffee components on glucose metabolism have been hypothesized. Of the proposed mechanisms, a reduction in glucose absorption, glucose hepatic output, and glu-

cose storage (12, 13) could be influenced by the time of the day when it is consumed. Moreover, the metal chelator effect of polyphenols in coffee could lead to diabetes prevention through lower body iron stores (14), because coffee and tea are potent inhibitors of iron absorption (15). However, no epidemiologic study has investigated whether coffee consumption at different meals or at different times during the day has a distinct effect on diabetes risk.

The benefits of tea on the health profile are also increasingly recognized (16). Although an inverse relation between tea intake and risk of diabetes has been suggested in 3 cohort studies (6, 17, 18), it has not been confirmed in others (19–21); thus, the effect of tea consumption on glucose disturbance remains inconclusive.

In our study, we examined the long-term effect of coffee, chicory (a substitute for coffee traditionally consumed in France), tea, and caffeine intake on the incidence of type 2 diabetes in a large prospective cohort of French women and studied whether the average amount of coffee consumed at different times of the day had distinct effects on diabetes risk. We further examined whether the type of coffee, as well as the addition of sugar and/or milk, plays different roles on the risk of type 2 diabetes.

¹ From the Department of Social Medicine, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil (DSS); INSERM ERI 20, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France (GF, MST, M-CB-R, BdL-G, and FC-C); and INSERM U780, Villejuif, France (BB and BdL-G).

² Supported by fellowships from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brazil, 2008/56557-5 (to DSS) and the French Ministry of Research (to GF). Other sources of financial support included Ligue Nationale Contre le Cancer, the European Community, the Mutuelle Générale de l'Education Nationale, Institut de Cancérologie Gustave-Roussy and European Union (Integrated project LSHM-CT-2006-037197 in the Framework Program 6 of the European-Community), InterAct Project.

³ Address correspondence to F Clavel-Chapelon, INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale), ERI 20, EA 4045, and Institut de Cancérologie Gustave Roussy, F-94805 Villejuif, France. E-mail: clavel@igr.fr.

Received September 25, 2009. Accepted for publication January 13, 2010. doi: 10.3945/ajcn.2009.28741.

SUBJECTS AND METHODS

Study design

The E3N (Etude Epidémiologique auprès de femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale) is an ongoing prospective cohort study that was designed to investigate the risk of cancers and other chronic diseases according to dietary, hormonal, and lifestyle factors in women (22). The cohort included 98,995 women living in France in 1990, born between 1925 and 1950, who were enrolled in the health insurance plan for employees of the public education system. E3N is the French part of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (23). All women signed an informed consent from in compliance with the rules of the French National Commission for Computed Data and Individual Freedom (Commission Nationale Informatique et Libertés), from which approval was obtained. At baseline and at subsequent biannual self-administered follow-up questionnaires, participants provided information on demographic and anthropometric characteristics, physical activity, smoking and drinking habits, use of hormonal treatments, family and personal history of diabetes, personal history of hypertension and hypercholesterolemia, and medication use. For the current analysis, follow-up began when the dietary questionnaire, sent in 1993, was completed, and the endpoint was 2007, when the last available questionnaire was completed.

Dietary data

Usual diet over the previous year was assessed by using a validated 208-item diet-history questionnaire (24), structured according to the French meal pattern. Questions were asked about consumption occasions from breakfast to after-dinner snacks. Usually 2 hot meals are eaten per day in France, lunch and dinner. The frequency and portion sizes of 66 food groups or items were investigated by meal: 38 items for breakfast and in-between snacks, 50 for lunch and dinner, and 13 for aperitifs. Participants were asked to report the frequency and usual serving size of coffee, chicory, and tea that they consumed at breakfast, morning, lunch, afternoon, dinner, and after-dinner and to provide information about the type of coffee consumed (regular/decaffeinated, filtered/instant) and the addition of sugar and/or milk to the beverage. Intakes of espresso or French Press coffee were not specifically assessed; they were included in the total coffee intake. In the validation study, the accuracy of the food intake measure of the questionnaire was tested by comparing it with the average of nine to twelve 24-h recalls (24). The correlation coefficient was 0.69 for coffee intake. Portion sizes were estimated with a validated photo booklet (25). For coffee and tea, 6 different cup sizes could be selected at each meal (70, 150, 200, 250, 300, and 400 mL) and converted into standardized 125-mL cups/d. The total consumption of coffee, chicory, and tea were categorized into 0, ≤ 1.0 , 1.1 to 2.9, and ≥ 3.0 cups/d. The consumption by meal was categorized into 0, ≤ 1.0 , and > 1.1 cup/meal.

To convert foods into nutrients, a food-composition table compiled for this study was used, which was derived from a French food-composition table (26). The estimated caffeine contents were 72.8 mg/125 mL coffee, 13.8 mg/125 mL tea, 16.1 mg/125 mL chicory, 17.6 mg/330 mL cola, 2.1 mg/30 g chocolate candy, and 17.8 mg/30 g plain chocolate. For each participant, we

calculated the average daily dietary intakes of caffeine, energy, alcohol, saturated fat, fiber, glycemic load, and iron.

Assessment of incident cases of diabetes

A first set of potential cases of diabetes included women who had self-reported either diabetes, a diet to manage diabetes, use of diabetic drugs, or a hospitalization for diabetes in ≥ 1 of the 8 questionnaires up to 2005. A total of 4289 self-reported potential cases were thus identified. Of them, 2315 cases were identified as having been reimbursed for a diabetic drug between 2004 (date when the file became available) and 2007 (endpoint of the present study) from a drug reimbursement file provided by the health insurance plan and were thus considered to be validated. Of the 1974 women without evidence of diabetic drug reimbursement, women alive and with an accurate address ($n = 1735$) were mailed a questionnaire specifically designed to validate diabetes. It included questions on the circumstances of diagnosis (date of diagnosis, symptoms, and biological data including fasting or random glucose concentrations at diagnosis), current therapy (prescription of diet and/or physical activity, list of diabetes drugs), and monitoring of diabetes (last values of fasting glucose and glycated hemoglobin concentrations). Of the 1480 women who completed this questionnaire (response rate: 84%), 342 potential cases were confirmed, because either reported glucose at diagnosis was consistent with the World Health Organization definition of diabetes [fasting glucose ≥ 7.0 mmol/L (126 mg/dL) or random glucose ≥ 11.1 mmol/L (200 mg/dL)] (27) and/or women reported taking diabetic drugs, and/or their last values of fasting glucose or glycated hemoglobin concentrations were reported to be ≥ 7.0 mmol/L (126 mg/dL) or $\geq 7\%$ respectively (28, 29). Thus, among the 4289 self-reported potential cases, 2657 were validated and subsequently considered as diabetes cases. Of the 1632 non-validated cases, 1144 women reported diabetes only once during the follow-up.

A second set of potential cases of diabetes was identified exclusively from the drug reimbursement file ($n = 1216$) without prior report of diabetes in any of the 8 study questionnaires. We mailed the diabetes specific questionnaire detailed above to 1139 of them, and 734 women completed it (response rate: 64%). We considered as noncases women who reported to be nondiabetic and who had been reimbursed for diabetic drugs only once before 2007 ($n = 233$); we validated as diabetic cases women who confirmed diabetes in the diabetes-specific questionnaire ($n = 458$) and those who did not answer the diabetes-specific questionnaire but who had diabetic drugs reimbursed at least twice ($n = 381$). Other potential cases were considered to be nonvalidated ($n = 144$). Altogether, 3496 diabetes cases were validated up to 2007. Nonvalidated potential cases of diabetes were excluded from our analysis. Although this validation procedure did not systematically allow differentiating between type 1 and type 2 diabetes, the age range of our population implied that incident cases considered in our analyses were essentially type 2 diabetes.

Study population

Of the 98,995 women in the cohort, we excluded those who did not complete the dietary questionnaire ($n = 24,471$), those who

were lost to follow-up ($n = 1339$), prevalent cases of diabetes ($n = 924$), those not confirmed as validated cases of diabetes ($n = 1349$), and those with extreme values for the ratio between energy intake and required energy (ie, the lowest or highest one percentile for the cohort) ($n = 1380$). A total of 69,532 women were included in the present analysis.

Statistical analysis

Person-years of follow-up were calculated from the date of completion of the dietary questionnaire (1993–1995) to the date of diagnosis of type 2 diabetes, the date that the most recent questionnaire was completed when women were lost to follow-up, or 2007, whichever came first. To test for differences across categories of coffee intake, the analysis of variance was applied. Hazards ratios (HRs) for diabetes and 95% CIs were estimated for each category of coffee, chicory, and tea consumption compared with no intake and for quartiles of caffeine intake according to the study population distribution, by using Cox proportional hazards regression models with age as the time scale and simultaneous adjustment for potential confounders. To test for linear trends across categories of consumption, we modeled the median of each category as a continuous variable.

To investigate the effect of coffee consumption at 6 distinct times of the day, 6 separate models were used. For coffee consumption at each meal, the HR for diabetes was estimated with adjustment for total coffee consumption at other meals (as a continuous variable). Moreover, a further model was tested including coffee intake at lunch and dinner. Furthermore, at each meal, we used 4 separate models according to the type of coffee or additions, including 2 opposite characteristics simultaneously in each model: 1) regular and decaffeinated coffee, 2) filtered and instant coffee, 3) black coffee and coffee with milk, and 4) coffee with and without sugar. These models were adjusted for total coffee at other meals (as a continuous variable) and for the amount of coffee with missing information about the type of coffee or additions. Nutrient intakes were adjusted for energy intake (excluding energy from alcohol) by the residual method (30). Physical activity was converted into metabolic equivalent task hours (MET-h) per week (31).

For total coffee, chicory, tea, and caffeine intakes, the main model was adjusted for age (time scale); the following variables considered at baseline: history of diabetes in parents (neither, only one, or both), quartiles of physical activity level (≤ 19.9 , 20.0–32.9, 33.0–52.9, or ≥ 53.0 MET/wk), quartiles of alcohol intake (≤ 1.34 , 1.35–6.15, 6.16–15.63, or ≥ 15.64 g/d), educational level (≤ 9 , 10–16, or ≥ 17 y), hypercholesterolemia (self-reported blood cholesterol > 5.172 mmol/L or use of cholesterol-lowering drugs: yes or no), hypertension (self-reported or use of antihypertensive drugs: yes or no), smoking (never, former, or current smoker), energy-adjusted fiber and saturated fat (both continuous), total energy without alcohol (continuous), and use of oral contraceptives (ever or never); and for the following time-dependant variables: body mass index (BMI; in kg/m^2) (≤ 21.9 , 22.0–25.0, 25.1–27.0, 27.1–29.9, or ≥ 30.0), menopause hormonal treatment (yes or no), and menopausal status (pre or post).

Additional models were tested with adjustment for dietary magnesium intake, history of cardiovascular disease, and/or cancer at baseline and/or during follow-up. Moreover, we also tested models in which individuals with a history of cardiovas-

cular disease and/or cancer were excluded. To investigate potential interactions between coffee and tea intake and covariates, we tested models with cross-product terms. The analyses used SPSS (SPSS Inc, Woking, Surrey, United Kingdom) version 14.0 and SAS version 9.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC).

RESULTS

A total of 1415 new cases of diabetes were identified during a mean follow-up of 11 y. Coffee, chicory, and tea were consumed by 59,222 (85%), 13,368 (19%), and 41,335 (59%) of the women, respectively. Among consumers, the median intakes were 280 mL coffee/d, 140 mL chicory/d, and 214 mL tea/d, which provided 84%, 2%, and 10% of total caffeine intake, respectively. Coffee consumption increased with BMI and smoking. Coffee consumption was also positively associated with dietary intakes of energy, saturated fat, iron, caffeine, and magnesium and was negatively associated with glycemic load in the usual diet (Table 1). Higher consumers of tea were younger and leaner. Tea drinking was also positively associated with dietary fiber intake and inversely associated with saturated fat, caffeine, and magnesium intakes. Addition of milk decreased with increasing tea consumption. A lower prevalence of hypertension was found in individuals with higher consumption of tea, and a lower prevalence of hypercholesterolemia was also found for high coffee consumption (Table 1).

The proportions of women drinking coffee were 61% at breakfast, 37% in the morning, 71% at lunchtime, 24% in the afternoon, 15% at dinner, and 6% in the evening. Lunch was the highest daily source of many nutrients in our study, followed by dinner and breakfast. Lunch provided 40% of daily energy (excluding alcohol), 43% of total fat, 46% of protein, 33% of carbohydrates, 41% of fiber, and 42% of iron. Dinner provided 34% of daily energy, 36% of total fat, 37% of protein, 29% of carbohydrates, 33% of fiber, and 15% of daily iron intake. Breakfast provided 18% of daily energy, 10% of total fat, 13% of protein, 27% of carbohydrates, 15% of fiber, and 13% of daily iron intake (data not tabulated). Women with the highest intakes of coffee at all meals were younger, had a higher mean BMI, and were more often smokers. Moreover, women with higher intakes of coffee in the morning and afternoon were less physically active than were women with no coffee intake at these meals (Table 2).

Coffee drunk at breakfast ($n = 40,265$) was caffeinated for 74% of women, filtered for 60%, black for 53%, and unsweetened for 47%. Corresponding values for coffee in the morning ($n = 23,696$) were 60%, 53%, 45% and 85%, respectively; at lunchtime ($n = 49,283$), 74%, 59%, 85%, and 45% respectively; in the afternoon ($n = 16,805$), 57%, 47%, 46%, and 64% respectively; at dinner time ($n = 10,068$) 57%, 54%, 73%, and 27% respectively; and in the evening ($n = 4,016$), 44%, 44%, 46%, and 65% respectively. Characteristics of coffee consumption were similar at the different meals, except for a higher proportion of women not adding milk at lunch and dinner and a higher proportion of women consuming caffeinated coffee at breakfast and lunchtime.

HRs for type 2 diabetes across categories of coffee, tea, and caffeine intake are shown in Table 3 and Table 4. Whereas there was no association between coffee or caffeine intake and diabetes risk in the age-adjusted model, high coffee intake (≥ 3 cups/d) was associated with a lower risk of diabetes compared

TABLE 1
Baseline characteristics of the Etude Epidémiologique auprès de Femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale/European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (E3N/EPIC) cohort study populations, by usual amounts of coffee and tea consumption ($n = 69,532$)¹

	Coffee				Tea			
	0 cups	≤1 cup	1.1–2.9 cups	≥3 cups	0 cups	≤1 cup	1.1–2.9 cups	≥3 cups
Daily intake (cups) ²	0	0.5	1.9	4.3	0	0.3	2.0	5.4
Coffee (mL/d)	0 (0, 0) ³	70 (35, 90)	240 (175, 300)	538 (447, 694)	0 (0, 0)	270 (121, 436)	154 (50, 330)	95 (0, 224)
Tea (mL/d)	270 (0, 540)	127 (0, 400)	21 (0, 257)	0 (0, 77)	300 (150, 480)	33 (15, 63)	250 (182, 300)	586 (443, 800)
Characteristics								
<i>n</i>	10,345	12,260	26,966	19,691	28,242	15,623	12,388	13,279
Person-years	113,721	135,150	269,992	218,511	309,355	171,864	136,617	146,537
Incident cases of diabetes (<i>n</i>)	198	279	559	379	643	324	245	203
Age (y)	53 ± 6 ⁴	54 ± 7	53 ± 7	52 ± 6	53 ± 6	53 ± 6	53 ± 6	52 ± 6
BMI (kg/m ²)	22.4 ± 3	22.7 ± 3	22.9 ± 3	23.2 ± 3	23.1 ± 3	22.9 ± 3	22.7 ± 3	22.5 ± 3
Overweight (%)	15.4	18.0	20.3	22.7	22.3	20.4	18.0	15.8
Physical activity (MET-h/wk)	39.6 ± 27	40.2 ± 27	40.0 ± 27	39.8 ± 27	39.2 ± 28	40.6 ± 28	39.9 ± 27	40.6 ± 27
Current smokers (%)	6.6	9.8	13.2	19.7	14.2	12.7	12.2	14.2
Family history of diabetes (%)								
In one parent	9.2	9.0	9.5	9.9	9.6	9.7	9.6	8.8
In both parents	0.7	0.5	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5
Hypertension (%)	12.5	14.1	13.5	12.4	13.8	13.4	13.0	11.5
Hypercholesterolemia (%)	28.8	31.0	31.0	27.1	29.8	29.7	30.2	28.1
Postgraduate (%)	15.7	19.1	17.8	17.5	13.9	18.1	18.9	23.7
Current use of hormone replacement therapy (%)	30.7	33.7	32.6	29.1	30.1	31.9	32.6	33.0
Dietary intake ⁵								
Energy without alcohol (kcal/d)	2067 ± 569	2075 ± 551	2076 ± 542	2134 ± 573	2068 ± 564	2142 ± 557	2093 ± 546	2077 ± 552
Saturated fat (% of energy)	14.9 ± 3	15.1 ± 3	15.1 ± 3	15.3 ± 3	15.1 ± 3	15.1 ± 3	15.0 ± 3	15.0 ± 3
Total fiber (g/d)	25.4 ± 8	24.7 ± 8	24.4 ± 8	24.9 ± 8	24.1 ± 8	24.9 ± 8	24.9 ± 8	25.6 ± 8
Glycemic load (g glucose equivalents)	130 ± 54	130 ± 52	129 ± 52	128 ± 54	128 ± 54	133 ± 52	130 ± 51	128 ± 53
Iron (mg/d)	13.6 ± 4	13.7 ± 4	13.8 ± 4	14.4 ± 4	13.8 ± 4	14.1 ± 4	13.9 ± 4	13.9 ± 4
Alcohol (g/d)	3 (0.1, 10)	6 (1, 14)	7 (2, 17)	7 (2, 18)	6 (1.1, 17)	6 (1.8, 15)	6 (1.5, 15)	6 (1.4, 15)
Caffeine (mg/d)	43 (18, 72)	72 (50, 98)	167 (131, 201)	332 (275, 424)	184 (98, 291)	174 (92, 267)	171 (67, 128)	141 (90, 216)
Magnesium (mg/d)	306 ± 92	335 ± 90	402 ± 88	553 ± 140	452 ± 150	444 ± 135	397 ± 132	368 ± 122
Coffee/tea additions								
Sugar (g/d)	0 (0, 2.9)	0.7 (0.6, 8)	0 (0, 10.0)	0 (0, 9.6)	0 (0, 5.0)	0 (0, 8.0)	0.3 (0, 9.0)	0 (0, 8.0)
Milk (mL/d)	0 (0, 51)	30 (0, 180)	11 (0, 120)	0 (0, 46)	0 (0, 118)	21 (0, 150)	0 (0, 90)	0 (0, 47)

¹ MET-h, metabolic equivalent task hours. Statistical test results (ANOVA) for the association between coffee and tea consumption and the covariates were all significant ($P < 0.05$), except for physical activity across categories of coffee intake and hypercholesterolemia across categories of tea intake.

² 1 cup = 125 mL.

³ Median; 25th and 75th percentiles in parentheses (all such values).

⁴ Mean ± SD (all such values).

⁵ Nutrients were adjusted for energy intake from food by using the residual method.

with no coffee consumption (multivariable HR: 0.73; 95% CI: 0.61, 0.87; *P* for linear trend across categories < 0.001) after multiple adjustment for potential confounders. Similarly, after multiple adjustment, caffeine intake was inversely associated with the risk of diabetes (multivariable HR in the highest compared with the lowest quartile: 0.67; 95% CI: 0.58, 0.78; *P* for trend < 0.001). For both coffee and caffeine intakes, BMI was the most important negative confounder. In contrast, tea consumption, which was inversely related with the risk of diabetes in the age-adjusted model, was no longer significantly associated with diabetes risk after adjustment for confounders, especially BMI (multivariable HR for ≥ 3 cups/d compared with no tea consumption: 0.89; 95% CI: 0.76, 1.05; *P* for trend = 0.46). No associations between chicory consumption and diabetes risk were found (multivariable HR for ≥ 3 cups/d compared with no consumption: 0.85; 95% CI: 0.60, 1.19; *P* for trend = 0.21). After further adjustments for dietary magnesium intake and history of cardiovascular disease and cancer at baseline and during follow-up, these results were not modified (multivariable HR for ≥ 3 cups coffee/d compared with no consumption: 0.76; 95% CI: 0.59, 0.98; *P* for trend 0.03). Moreover, results were similar after exclusion of participants with cancer ($n = 4082$) or cardiovascular diseases ($n = 3046$) at baseline or during follow-up (multivariable HR for ≥ 3 cups coffee/d compared with no consumption: 0.80; 95% CI: 0.66, 0.97; *P* for trend 0.004). No interaction term between coffee or tea intakes and any studied covariate was statistically significant.

In multivariable models of coffee consumption according to meals (Table 5), drinking coffee at lunchtime was associated with a lower risk of diabetes [multivariable HR for ≤ 1 and >1.1 cup/meal, respectively, compared with no coffee consumption: 0.84 (95% CI: 0.74, 0.95) and 0.66 (95% CI: 0.57, 0.76); *P* for trend < 0.001] in models adjusted for all considered variables. The relative risk per additional cup (125 mL) was 0.80 (95% CI: 0.73, 0.87; *P* for trend < 0.001). Coffee consumed at dinner time was also associated with a lower risk of diabetes [multivariable HR for ≤ 1 and >1.1 cup/meal, respectively, compared with no coffee consumption: 0.86 (95% CI: 0.75, 0.99) and 0.74 (95% CI: 0.58, 0.93); *P* for trend < 0.001]; however, it was no longer statistically significant after further adjustment for coffee consumption in other meals [multivariable HR for ≤ 1 and >1.1 cup/meal, respectively, compared with no coffee consumption: 0.84 (95% CI: 0.69, 1.02) and 0.81 (95% CI: 0.58, 1.12); *P* for trend < 0.001]. On further analysis, coffee intake at lunch and dinner was included simultaneously in the same model, which did not affect the association between lunchtime coffee and diabetes [multivariable HR for ≤ 1 and >1.1 cup/meal, respectively, compared with no coffee consumption at lunch: 0.85 (95% CI: 0.75, 0.96) and 0.68 (95% CI: 0.59, 0.79); *P* for trend < 0.001]. In this same model, dinner time coffee remained unassociated with diabetes [multivariable HR for ≤ 1 and >1.1 cup/meal, respectively, compared with no coffee consumption at dinner: 0.86 (95% CI: 0.71, 1.04) and 0.86 (95% CI: 0.62, 1.20); *P* for trend 0.11]. No associations were found between the risk of diabetes and the coffee consumed at other times of the day (Table 5), even after stratification for types of coffee and the addition of milk and/or sugar (data not tabulated).

We then investigated characteristics of the coffee consumed at lunchtime (Table 6). Both caffeinated and decaffeinated coffee were associated with significantly lower risks of diabetes

[multivariable HR for >1.1 cup/meal of regular and decaffeinated coffee, respectively, compared with no coffee consumption: 0.67 (95% CI: 0.57, 0.78) and 0.67 (95% CI: 0.47, 0.95)]. Both coffee with and coffee without sugar were associated with significantly lower risks [multivariable HR for >1.1 cup/meal of coffee with and without sugar, respectively, compared with no consumption: 0.69 (95% CI: 0.55, 0.87) and 0.60 (95% CI: 0.50, 0.73)]. Filtered coffee, but not instant coffee, was associated with a statistically significant lower risk of diabetes [multivariable HR for >1.1 cup/meal of filtered and instant coffee, respectively, compared with no consumption: 0.65 (95% CI: 0.55, 0.77) and 0.82 (95% CI: 0.62, 1.08)], but the CIs largely overlapped. Similarly, black coffee but not coffee with milk was associated with a statistically significant lower risk of diabetes [multivariable HR for >1.1 cup/meal of black and coffee with milk, respectively, compared with no coffee consumption: 0.71 (95% CI: 0.61, 0.82) and 1.06 (95% CI: 0.53, 2.15)] (Table 6).

DISCUSSION

In this large prospective study of French women, coffee, especially at lunchtime, and caffeine intakes were inversely associated with the risk of diabetes, whereas there was no significant association with tea or chicory intakes. At lunch, both regular and decaffeinated coffee were inversely associated with diabetes risk, whereas the association was restricted to black coffee as opposed to coffee with milk, and was independent of sweetening.

Our findings of an overall association between coffee and risk of diabetes are consistent with previous reports from prospective studies (3–10, 17, 19, 32–35). The association was of the same order of magnitude as the one described in a meta-analysis of prospective studies (1), that is, 34% for ≥ 4 or more cups/d as compared with none. We also observed an inverse association between caffeine intake and the risk of diabetes, which is also in line with previous cohort studies (17, 20). Given the high correlation between coffee and caffeine intakes ($r = 0.8$), and considering that coffee provided 84% of the caffeine in this population, it was not possible to test for independent effects of coffee and caffeine on diabetes risk. However, the inverse association between lunchtime coffee and diabetes risk was similar for regular and decaffeinated coffee, in line with previous studies (19, 20). This suggests the importance of components in coffee other than caffeine. Addition of sugar to coffee did not modify the association between coffee intake and diabetes risk, similarly to a report from a Dutch cohort study (33).

In agreement with previous studies (19, 32, 33), a high consumption of coffee was associated with an unhealthy lifestyle (eg, high proportion of current smokers, high BMI, and high saturated fat intake). In our study, adjustment for potential confounders, especially BMI, strengthened the association between the risk of diabetes and coffee or caffeine intake. In contrast, tea drinking was associated with a healthy lifestyle, and, after multiple adjustments, especially for BMI, the inverse association between tea and diabetes risk disappeared. Although we could not discriminate the type of tea drunk, most of the tea consumed in France is traditionally black tea; thus, our results do not agree with previous studies (17, 18).

TABLE 2

Baseline selected lifestyle characteristics of the Etude Epidémiologique auprès de Femmes de la Mutuelle Générale de l'Education Nationale/European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (E3N/EPIC) cohort study populations, by categories of coffee intake by meals ($n = 69,532$)¹

	Coffee intake			<i>P</i> ²
	0 cups/d	≤1 cup/d	>1.1 cup/d	
Breakfast				
<i>n</i>	29,267	10,323	29,942	—
Cases/person-years	543/323,272	221/113,457	651/327,643	—
Age (y)	52.9 ± 6 ³	53.1 ± 6	52.6 ± 6	<0.001
BMI (kg/m ²)	22.6 ± 3	23.0 ± 3	23.1 ± 3	<0.001
Physical activity (MET-h/wk)	39.8 ± 27	39.6 ± 27	40.1 ± 28	0.18
Current smokers (%)	10.6	12.7	16.6	<0.001
Morning				
Intake (mL/d)	0 (0, 0) ⁴	43 (20, 70)	150 (150, 320)	—
<i>n</i>	44,001	19,074	6457	—
Cases/person-years	945/483,668	340/210,145	130/70,560	—
Age (y)	54.1 ± 7	50.7 ± 6	50.3 ± 5	<0.001
BMI (kg/m ²)	22.8 ± 3	22.8 ± 3	23.3 ± 3	<0.001
Physical activity (MET-h/wk)	40.8 ± 28	38.6 ± 27	38.1 ± 27	<0.001
Current smokers (%)	9.8	18.3	24.8	<0.001
Lunch				
Intake (mL/d)	0 (0, 0)	70 (40, 70)	150 (150, 200)	—
<i>n</i>	20,249	27,642	21,641	—
Cases/person-years	493/221,430	558/304,326	364/238,617	—
Age (y)	53.0 ± 7	52.9 ± 7	52.6 ± 6	<0.001
BMI (kg/m ²)	22.7 ± 3	22.8 ± 3	23.1 ± 3	<0.001
Physical activity (MET-h/wk)	39.7 ± 28	39.9 ± 27	40.1 ± 28	0.21
Current smokers (%)	9.8	14.0	16.3	<0.001
Afternoon				
Intake (mL/d)	0 (0, 0)	29 (10, 64)	171 (150, 225)	—
<i>n</i>	52,727	13,146	3659	—
Cases/person-years	1067/580,476	272/144,036	76/39,861	—
Age (y)	53.1 ± 7	52.0 ± 6	51.8 ± 6	<0.001
BMI (kg/m ²)	22.7 ± 3	23.2 ± 3	23.5 ± 3	<0.001
Physical activity (MET-h/wk)	40.1 ± 27	39.3 ± 27	39.3 ± 28	0.003
Current smokers (%)	12.1	17.0	21.7	<0.001
Dinner				
Intake (mL/d)	0 (0, 0)	15 (5, 57)	150 (150, 200)	—
<i>n</i>	59,405	76,39	2488	—
Cases/person-years	1246/653,196	129/83,800	40/27,378	—
Age (y)	53.0 ± 7	52.0 ± 6	51.3 ± 6	<0.001
BMI (kg/m ²)	22.8 ± 3	23.1 ± 3	23.1 ± 3	<0.001
Physical activity (MET-h/wk)	39.9 ± 27	40.3 ± 28	39.4 ± 27	0.32
Current smokers (%)	12.1	20.7	25.1	<0.001
Evening				
Intake (mL/d)	0 (0, 0)	10 (5, 43)	179 (150, 225)	—
<i>n</i>	65,407	3477	648	—
Cases/person-years	1338/719,150	63/38,163	14/7060	—
Age (y)	52.9 ± 7	51.6 ± 6	51.3 ± 6	<0.001
BMI (kg/m ²)	22.9 ± 3	23.0 ± 3	23.3 ± 4	<0.001
Physical activity (MET-h/wk)	39.9 ± 27	40.1 ± 27	40.8 ± 30	0.65
Current smokers (%)	12.9	21.7	27.6	<0.001

¹ 1 cup = 125 mL. MET-h, metabolic equivalent task hours.

² Significant differences between categories of coffee intake were tested by ANOVA.

³ Mean ± SD (all such values).

⁴ Median; 25th and 75th percentiles in parentheses (all such values).

Several pathways have been proposed to explain the protective effect of coffee consumption on diabetes risk. Coffee is rich in magnesium, which has been related to improved insulin sensitivity (36). Our data do not support this hypothesis, because adjustment for dietary magnesium intake did not modify the observed association, consistent with previous studies (4, 19, 34).

A protective effect of coffee through its lignan and chlorogenic acid content has been suggested in experimental studies and deserves to be further explored in epidemiologic studies. Chlorogenic acid has antioxidant properties (37, 38) and has been associated in experimental studies with improved insulin sensitivity (39) and in rats with a reduction of glucose concentration

TABLE 3

Incident type 2 diabetes according to total coffee and tea intakes: Etude Epidémiologique auprès de Femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale/European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort study (E3N/EPIC) populations, France (1993–2007; $n = 69,532$)¹

	0 cups/d	≤1 cup/d	1.1–2.9 cups/d	≥3 cups/d	<i>P</i> for trend ²
Coffee intake					
Daily intake (mL)	0 ± 0 ³	63 ± 34	241 ± 72	613 ± 255	—
<i>n</i>	10,345	12,260	26,966	19,691	—
Cases/person-years	198/113,721	279/135,150	559/296,992	379/218,511	—
Age-adjusted model ⁴	1.00 (Ref)	1.12 (0.94,1.35)	1.06 (0.90,1.24)	1.09 (0.92,1.30)	0.98
Multivariable model 1 ^{4,5}	1.00 (Ref)	1.13 (0.94,1.36)	1.04 (0.88,1.22)	1.00 (0.84,1.19)	0.60
Multivariable model 2 ^{4,6}	1.00 (Ref)	1.04 (0.87,1.26)	0.86 (0.73,1.02)	0.73 (0.61,0.87)	<0.001
Tea intake					
Daily intake (mL)	0 ± 0	44 ± 34	245 ± 70	680 ± 345	—
<i>n</i>	28,242	15,623	12,388	13,279	—
Cases/person-years	643/309,355	324/171,864	245/136,617	203/146,537	—
Age-adjusted model ⁴	1.00 (Ref)	0.90 (0.79,1.03)	0.86 (0.74,0.99)	0.68 (0.58,0.80)	<0.001
Multivariable model 1 ^{4,5}	1.00 (Ref)	0.97 (0.85,1.11)	0.94 (0.81,1.09)	0.78 (0.67,0.92)	0.14
Multivariable model 2 ^{4,6}	1.00 (Ref)	0.99 (0.87,1.14)	1.02 (0.88,1.19)	0.89 (0.76,1.05)	0.46

¹ 1 cup = 125 mL. Ref, reference.

² To test for linear trends across categories, we modeled the median of each category of coffee and tea intakes as continuous variables.

³ Mean ± SD (all such values).

⁴ Values are hazard ratios; 95% CIs in parentheses.

⁵ Adjusted for age (time scale), history of diabetes in ascendants (none, only one parent, or both parents), quartiles of physical activity level (≤19.9, 20.0–32.9, 33.0–52.9, or ≥53.0 metabolic equivalent tasks/wk), quartiles of alcohol intake (≤1.34, 1.35–6.15, 6.16–15.63, or ≥15.64 g/d), educational level (≤9, 10–16, or ≥17 y), hypercholesterolemia (self-reported blood cholesterol >2 g/L or use of cholesterol-lowering drugs: yes or no), hypertension (self-reported or use of antihypertensive drugs: yes or no), smoking (never, former, or current smoker), energy-adjusted fiber and saturated fat (continuous), total energy without alcohol (continuous), menopausal status (pre or post), hormone replacement therapy as a time-dependent variable (yes or no), and use of oral contraceptives at baseline (ever or never).

⁶ Adjusted for the same variables as in model 1 with the addition of BMI category (in kg/m²) as a time-dependent variable (≤21.9, 22.0–25.0, 25.1–27.0, 27.1–29.9, or ≥30.0).

(40) and of glucose absorption, thus lowering post load glucose concentrations (12). The lignan secoisolariciresinol has also been shown to prevent diabetes development in experimental models through a possible antioxidant pathway (41).

The most original finding of our study is a selective association between diabetes risk and coffee consumed at lunchtime. Our

data showed that having coffee at lunch would be sufficient to benefit from the putative protective effect of coffee on diabetes, and the coffee intake at dinner or other meals did not change the estimation for lunchtime coffee and diabetes. Whereas lunchtime coffee consumption represented <60% of daily coffee for 75% of our population, our findings strongly suggest that only coffee

TABLE 4

Incident type 2 diabetes according to caffeine intakes: Etude Epidémiologique auprès de Femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale/European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (E3N/EPIC) cohort study populations, France (1993–2007; $n = 69,532$)¹

	Caffeine intake				<i>P</i> for trend ²
	Quartile 1	Quartile 2	Quartile 3	Quartile 4	
Daily intake (mg)	48 ± 25 ³	126 ± 21	209 ± 28	397 ± 150	—
<i>n</i>	17,382	17,384	17,384	17,382	—
Cases/person-years	393/191,100	355/192,134	344/191,123	323/190,017	—
Age-adjusted model ⁴	1.00 (Ref)	0.89 (0.78,1.04)	0.90 (0.78,1.04)	0.90 (0.78,1.05)	0.19
Multivariable model 1 ^{4,5}	1.00 (Ref)	0.92 (0.79,1.06)	0.91 (0.78,1.05)	0.89 (0.77,1.04)	0.14
Multivariable model 2 ^{4,6}	1.00 (Ref)	0.84 (0.72,0.96)	0.77 (0.66,0.89)	0.67 (0.58,0.78)	<0.001

¹ Ref, reference.

² To test for linear trends across categories, we modeled the median of caffeine intake as a continuous variable.

³ Mean ± SD (all such values).

⁴ Values are hazard ratios; 95% CIs in parentheses.

⁵ Adjusted for age (time scale), history of diabetes in ascendants (none, only one parent, or both parents), quartiles of physical activity level (≤19.9, 20.0–32.9, 33.0–52.9, or ≥53.0 metabolic equivalent tasks/wk), quartiles of alcohol intake (≤1.34, 1.35–6.15, 6.16–15.63, or ≥15.64 g/d), educational level (≤9, 10–16, or ≥17 y), hypercholesterolemia (self-reported blood cholesterol >2 g/L or use of cholesterol-lowering drugs: yes or no), hypertension (self-reported or use of antihypertensive drugs: yes or no), smoking (never, former, or current smoker), energy-adjusted fiber and saturated fat (continuous), total energy without alcohol (continuous), menopausal status (pre or post), hormone replacement therapy as a time-dependent variable (yes or no), and use of oral contraceptives at baseline (ever or never).

⁶ Adjusted for the same variables as in model 1 with the addition of BMI category (in kg/m²) as a time-dependent variable (≤21.9, 22.0–25.0, 25.1–27.0, 27.1–29.9, or ≥30.0).

TABLE 5

Incident type 2 diabetes according to categories of coffee intake, by meals: Etude Epidémiologique auprès de Femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale/European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (E3N/EPIC) cohort study populations, France (1993–2007; $n = 69,532$ women)¹

Coffee consumption by meal	Categories of intake			P for trend ²
	0 cup/d	≤1 cup/d	>1.1 cup/d	
Breakfast				
<i>n</i>	29,267	10,323	29,942	—
Cases/person-years	543/323,272	221/113,457	651/327,643	—
Coffee intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	66 (30, 90)	280 (200, 320)	—
Multivariable model 1 ^{4,5}	1.00 (Ref)	1.08 (0.92, 1.26)	1.10 (0.97, 1.25)	0.30
Multivariable model 2 ^{4,6}	1.00 (Ref)	0.96 (0.85, 1.17)	1.04 (0.92, 1.17)	0.47
Morning				
<i>n</i>	44,001	19,074	6457	—
Cases/person-years	945/483,668	340/210,145	130/70,560	—
Coffee intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	43 (20, 70)	150 (150, 320)	—
Multivariable model 1 ^{4,5}	1.00 (Ref)	0.99 (0.87, 1.12)	1.15 (0.96, 1.39)	0.28
Multivariable model 2 ^{4,6}	1.00 (Ref)	0.98 (0.85, 1.12)	0.97 (0.79, 1.19)	0.93
Lunch				
<i>n</i>	20,249	27,642	21,641	—
Cases/person-years	493/221,430	558/304,326	364/238,617	—
Coffee intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	70 (40, 70)	150 (150, 200)	—
Multivariable model 1 ^{4,5}	1.00 (Ref)	0.83 (0.74, 0.94)	0.67 (0.58, 0.77)	<0.001
Multivariable model 2 ^{4,6}	1.00 (Ref)	0.84 (0.74, 0.95)	0.66 (0.57, 0.76)	<0.001
Afternoon				
<i>n</i>	52,727	13,146	3659	—
Cases/person-years	1067/580,476	272/144,036	76/39,861	—
Coffee intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	29 (10, 64)	171 (150, 225)	—
Multivariable model 1 ^{4,5}	1.00 (Ref)	1.05 (0.91, 1.96)	1.03 (0.81, 1.30)	0.80
Multivariable model 2 ^{4,6}	1.00 (Ref)	0.96 (0.84, 1.11)	0.89 (0.69, 1.15)	0.64
Dinner				
<i>n</i>	59,408	7639	2488	—
Cases/person-years	1246/653,196	129/83,800	40/27,378	—
Coffee intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	15 (5, 57)	150 (150, 200)	—
Multivariable model 1 ^{4,5}	1.00 (Ref)	0.86 (0.75, 0.99)	0.74 (0.58, 0.93)	<0.001
Multivariable model 2 ^{4,6}	1.00 (Ref)	0.84 (0.69, 1.02)	0.81 (0.58, 1.12)	0.12
Evening				
<i>n</i>	65,407	3477	648	—
Cases/person-years	1338/719,150	63/38,163	14/7060	—
Coffee intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	10 (5, 43)	179 (150, 225)	—
Multivariable model 1 ^{4,5}	1.00 (Ref)	0.92 (0.80, 1.05)	0.90 (0.70, 1.15)	0.38
Multivariable model 2 ^{4,6}	1.00 (Ref)	0.98 (0.75, 1.26)	1.18 (0.69, 2.03)	0.81

¹ 1 cup = 125 mL, Ref. reference.

² To test for linear trends across categories, we modeled the median of each category of coffee consumption as a continuous variable.

³ Values are medians; 25th and 75th percentiles in parentheses.

⁴ Values are hazard ratios; 95% CIs in parentheses.

⁵ Adjusted for age (time scale), history of diabetes in ascendants (none, only one parent, or both parents), BMI categories (in kg/m²) as a time-dependent variable (<21.9, 22.0–25.0, 25.1–27.0, 27.1–29.9, or ≥30.0), quartiles of physical activity level (≤19.9, 20.0–32.9, 33.0–52.9, or ≥53.0 metabolic equivalent tasks/wk), quartiles of alcohol intake (≤1.34, 1.35–6.15, 6.16–15.63, or ≥15.64 g/d), educational level (≤9, 10–16, or ≥17 y), hypercholesterolemia (self-reported blood cholesterol >2 g/L or use of cholesterol-lowering drugs: yes or no), hypertension (self-reported or use of antihypertensive drugs: yes or no), smoking (never, former, or current smoker), energy-adjusted fiber and saturated fat (continuous), total energy without alcohol (continuous), menopausal status (pre or post), hormone replacement therapy as a time-dependent variable (yes or no), and use of oral contraceptives at baseline (ever or never). Six separate models were carried out for categories of coffee consumption at each of the 6 meals.

⁶ Adjusted for the same variables as in model 1 with further adjustment for coffee consumption at other meals as a continuous variable.

taken with lunch may reduce diabetes risk. Breakfast was the second most frequent meal for drinking coffee (57.8% of women), but no association with diabetes was found. Coffee consumed at dinner time was no longer significantly inversely associated with diabetes risk after adjustment for coffee intake at other meals, especially lunch. However, because a limited number of women had coffee at dinner time, there was possibly insufficient statistical power to show this association indepen-

dently of coffee at other meals. Some nutritional aspects specific to lunch might interfere in the relation between coffee consumed at these meals and diabetes risk. First, according to Hurrell et al (42), polyphenol-containing beverages such as coffee and tea, are potent inhibitors of iron absorption, but this effect has only been verified when coffee and the iron source are consumed simultaneously (15). High body iron stores have been related to an increased risk of diabetes (14, 43) and for the metabolic

TABLE 6

Incident type 2 diabetes according to characteristics of coffee intake at lunchtime: Etude Epidémiologique auprès de Femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale/European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (E3N/EPIC) cohort study populations, France (1993–2007; $n = 69,532$ women)¹

Characteristics of coffee consumption	Categories of intake			<i>P</i> for trend ²
	0 cups/meal	≤1 cup/meal	>1.1 cup/meal	
Regular coffee				
Intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	70 (42, 70)	150 (150, 200)	—
<i>n</i>	24,218	20,308	16,202	—
Cases/person-years	570/264,966	391/223,923	260/178,995	—
Multivariable model ⁴	1.00	0.85 (0.74,0.97)	0.67 (0.57,0.78)	<0.001
Decaffeinated coffee				
Intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	60 (21, 70)	150 (150, 210)	—
<i>n</i>	56,485	2536	1707	—
Cases/person-years	1139/62,1331	48/27,838	34/18,714	—
Multivariable model ⁴	1.00	0.69 (0.51,0.93)	0.67 (0.47,0.95)	0.006
Filtered coffee				
Intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	70 (42, 70)	150 (150, 200)	—
<i>n</i>	26,496	16,494	13,054	—
Cases/person-years	622/289,997	329/182,010	218/144,350	—
Multivariable model ⁴	1.00	0.85 (0.73,0.98)	0.65 (0.55,0.77)	<0.001
Instant coffee				
Intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	70 (35, 70)	150 (150, 200)	—
<i>n</i>	49,291	3949	2804	—
Cases/person-years	1031/542,232	82/43,497	56/30,627	—
Multivariable model ⁴	1.00	0.86 (0.68,1.08)	0.82 (0.62,1.08)	0.19
Black coffee				
Intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	70 (43, 70)	150 (150, 200)	—
<i>n</i>	19,384	22,497	19,426	—
Cases/person-years	462/212,614	431/248,032	321/214,697	—
Multivariable model ⁴	1.00	0.88 (0.76,1.01)	0.71 (0.61,0.82)	<0.001
Coffee with milk added				
Intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	49 (21, 75)	167 (140, 210)	—
<i>n</i>	61348	680	226	—
Cases/person-years	1212/675,753	21/7356	8/2404	—
Multivariable model ⁴	1.00	1.12 (0.72,1.73)	1.06 (0.53,2.15)	0.91
Coffee with sugar				
Intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	70 (40, 70)	150 (150, 200)	—
<i>n</i>	40480	11,258	6848	—
Cases/person-years	829/445,335	176/124,769	89/76,161	—
Multivariable model ⁴	1.00	0.88 (0.74,1.05)	0.69 (0.55,0.87)	0.017
Coffee without sugar				
Intake (mL/d) ³	0 (0, 0)	70 (42, 70)	150 (150, 210)	—
<i>n</i>	36,160	11,658	10,768	—
Cases/person-years	680/399,140	250/128,307	164/118,818	—
Multivariable model ⁴	1.00	0.88 (0.75,1.04)	0.60 (0.50,0.73)	<0.001

¹ 1 cup = 125 mL.

² To test for linear trends across categories, we modeled the median of each category of coffee consumption as a continuous variable.

³ Values are medians; 25th and 75th percentiles in parentheses.

⁴ Values are hazard ratios; 95% CIs in parentheses. Adjusted for age (time scale), history of diabetes in ascendants (none, only one parent, or both parents), BMI categories (in kg/m²) as a time-dependent variable (≤21.9, 22.0–25.0, 25.1–27.0, 27.1–29.9, or ≥30.0), quartiles of physical activity level (≤19.9, 20.0–32.9, 33.0–52.9, or ≥53.0 metabolic equivalent tasks/wk), quartiles of alcohol intake (≤1.34, 1.35–6.15, 6.16–15.63, or ≥15.64 g/d), educational level (≤9, 10–16, or ≥17 y), hypercholesterolemia (self-reported blood cholesterol >2 g/L or use of cholesterol lowering drugs: yes or no), hypertension (self-reported or use of antihypertensive drugs: yes or no), smoking (never, former, or current smoker), energy-adjusted fiber and saturated fat (continuous), total energy without alcohol (continuous), menopausal status (pre or post), hormone replacement therapy as a time-dependent variable (yes or no), use of oral contraceptives at baseline (ever or never). Four different models were carried out according to the type of coffee or additions: 1) regular/decaffeinated, 2) filtered/instant, 3) black coffee/with milk, and 4) with/without sugar, adjusted for coffee consumption at other meals as a continuous variable. The models were also adjusted on the amount of coffee consumption at the same meal without available information of the type of coffee and/or addition of milk.

syndrome both among men and among pre- and postmenopausal women (44). Iron acts as a catalyst in the formation of hydroxyl radicals, prooxidants that attack cellular membranes, lipids, proteins, and nucleic acids (45). Moreover, excess iron is usually

stored in the liver, muscle, and pancreas and might cause organ-specific oxidative damage leading to insulin resistance and β cell dysfunction (14). In our study, no data on iron stores were available. According to the dietary questionnaire, lunch

provided 47% of the total daily iron intake. It can be suggested that coffee intake at lunch is inversely associated with diabetes via reduced iron absorption. However, it has been shown that tea intake has an even stronger inhibitory effect on iron absorption than coffee (46). In the present study, no association between tea intake, overall or by meal (data not shown), and diabetes was found; thus, our findings do not support the iron hypothesis. Second, milk added to coffee may neutralize some active components of coffee, as suggested by the absence of association between coffee consumed with milk at lunch and diabetes risk, compared with the lower risk associated with black coffee. However, there are some limitations to our interpretation. There were few white coffee drinkers at lunch, which possibly limited the statistical power to show an association with white coffee, if any exists; further, there were no differential associations between black coffee and coffee with milk at other meals, in particular at breakfast (data not tabulated). Third, the chlorogenic acids in coffee can delay intestinal glucose absorption through inhibition of Na⁺-dependent transport across the brush border membranes (47). Experimental studies conducted in both rodents and humans showed that chlorogenic acids may reduce the blood glucose response to an oral-tolerance test (47). This suggests that the putative protective effect of coffee consumption at larger meals, such as lunch and dinner, on diabetes could be related to the reduced glucose absorption by the chlorogenic acid content of coffee.

To our knowledge, this was the first prospective study to address the timing of coffee intake and diabetes risk. Our data suggest that the time of drinking coffee, or alternatively the accompanying meal, might play a role in diabetes protection and suggest that mechanisms involving interactions with other meal components may be relevant. Limitations of our study include the absence of information on the type of tea consumed and incomplete information on coffee type. In particular, we did not specifically assess espresso coffee intake and the absence of biochemical data and recorded diet and beverages only once, which opened the possibility that participants changed their habits during follow-up. Moreover, despite careful adjustment for potential confounders, residual confounding due to unadjusted lifestyle factors cannot be ruled out. However, such potential misclassification of exposure would probably weaken, not bias the associations. Finally, our results are restricted to women.

In conclusion, our prospective study of French women further supports an inverse association between coffee intake and risk of type 2 diabetes and suggests that this association may be independent of caffeine content and be influenced by the meal when coffee is drunk. Further research is warranted to fully understand the role of time of drinking coffee and the association with specific nutrients of the diet on the risk of type 2 diabetes.

We are indebted to all participants for providing the data used in the E3N study; to R Chaff, M Fangon, L Hoang, M Niravong, and J Sabuquillo for their technical assistance; and to the INSERM ERI-20 team.

The authors' responsibilities were as follows—FC-C: data acquisition, full access to the data in the study, full responsibility for the integrity of the data and the conduct of the study, and controlled the decision to publish; DSS, BB, and FC-C: study concept and design; DSS and GF: data analysis; DSS, GF, BB, and MST: data interpretation; DSS: drafting of the manuscript; DSS, GF, BB, MST, M-CB-R, Bdl-G, and FC-C: critical revision of the manuscript for important intellectual content; and DSS, GF, BB, MST, M-CB-R, Bdl-G, and

FC-C: final approval of the version to be published. None of the authors declared a conflict of interest.

REFERENCES

1. Van Dam RM, Hu F. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *JAMA* 2005;294:97–104.
2. Greenberg JA, Boozer CN, Gellebter A. Coffee, diabetes, and weight control. *Am J Clin Nutr* 2006;84:682–93.
3. Paynter NP, Yeh HC, Voutilainen S, et al. Coffee and sweetened beverage consumption and the risk of type 2 diabetes mellitus. *Am J Epidemiol* 2006;164:1075–84.
4. Pereira MA, Parker ED, Folsom AR. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. *Arch Intern Med* 2006;166:1311–6.
5. Bidel S, Silventoinen K, Hu G, Lee D-H, Kaprio J, Tuomilehto J. Coffee consumption, serum γ -glutamyltransferase and risk of type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr* 2008;62:178–85.
6. Odegaard AO, Pereira MA, Koh WP, Arakawa K, Lee HP, Yu MC. Coffee, tea, and incident type 2 diabetes: the Singapore Chinese Health Study. *Am J Clin Nutr* 2008;88:979–85.
7. Oba S, Nagata C, Nakamura K, et al. Consumption of coffee, green tea, oolong tea, black tea, chocolate snacks and the caffeine content in relation to risk of diabetes in Japanese men and women. *Br J Nutr* (Epub ahead of print 12 October 2009).
8. Smith B, Wingard DL, Smith TC, Kritiz-Silverstein D, Barrett-Connor E. Does coffee consumption reduce the risk of type 2 diabetes in individuals with impaired glucose? *Diabetes Care* 2006;29:2385–90.
9. van Dieren S, Uiterwaal CSPM, van der Schouw YT, et al. Coffee and tea consumption and risk of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2009;52:2561–9.
10. Fuhrman BJ, Smit E, Crespo CJ, Garcia-Palmeri MR. Coffee intake and risk of incident diabetes in Puerto Rican men: results from the Puerto Rico Heart Health Program. *Public Health Nutr* 2009;12:842–8.
11. Van Dam RM. Coffee and type 2 diabetes: from beans to beta-cells. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006;16:69–77.
12. Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005;45:287–306.
13. Greer F, Hudson R, Ross R, Graham T. Caffeine ingestion decreases glucose disposal during a hyperinsulinemic-euglycemic clamp in sedentary humans. *Diabetes* 2001;50:2349–54.
14. Jiang R, Manson JE, Meigs JB, Ma J, Rifai N, Hu FB. Body iron stores in relation to risk of type 2 diabetes in apparently health women. *JAMA* 2004;291:711–7.
15. Fleming DJ, Jacques PF, Dallal GE, Tucker KL, Wilson PWF, Wood RJ. Dietary determinants of iron stores in a free-living elderly population; the Framingham Heart Study. *Am J Clin Nutr* 1998;67:722–33.
16. McKay DL, Blumberg JB. The role of tea in human health: an update. *J Am Coll Nutr* 2002;21:1–13.
17. Greenberg JA, Axen KV, Schnoll R, Boozer CN. Coffee, tea and diabetes: the role of weight loss and caffeine. *Int J Obes* 2005;29:1121–9.
18. Iso H, Date C, Wabai K, Fukui M, Tamakoshi A, for the JACC Study Group. The relationship between green tea and total caffeine intake and risk for self-reported type 2 diabetes among Japanese adults. *Ann Intern Med* 2006;144:554–62.
19. Salazar-Martinez E, Willett WC, Aschiero A, et al. Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2004;140:1–8.
20. van Dam RM, Willett WC, Manson JE, Hu FB. Coffee, caffeine, and risk of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006;29:398–403.
21. Hu G, Jousilahti P, Peltonen M, Bidel S, Tuomilehto J. Joint association of coffee consumption and other factors to the risk of type 2 diabetes: a prospective study in Finland. *Int J Obes* 2006;30:1742–9.
22. Clavel-Chapelon F. Cumulative number of menstrual cycles and breast cancer risk: results from the E3N cohort study of French women. *Cancer Causes Control* 2002;13:831–8.
23. Slimani N, Kaaks R, Ferrari P, et al. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) calibration study: rationale, design and population characteristics. *Public Health Nutr* 2002;5:1125–45.
24. Van Liere MJV, Lucas F, Clavel F, Slimani N, Villemainot S. Relative validity and reproducibility of a French dietary history questionnaire. *Int J Epidemiol* 1997;26(suppl 1):128S–36S.
25. Lucas F, Niravong M, Villemainot S, Kaaks R, Clavel-Chapelon F. Estimation of food portion size using photographs: relative validity,

- strengths, weaknesses and recommendations. *J Hum Nutr Diet* 2008;8: 65–74.
26. Favier JC, Ireland-Ripert J, Toque C, Feinberg M. Répertoire Général des Aliments. Table de composition. [Composition tables.] INRA, CIQUAL-REGAL, editors. 2nd ed. Paris, France: Tec & Doc Lavoisier, 1995 (in French).
 27. World Health Organization, Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. Geneva, Switzerland: World Health Organization / International Diabetes Federation, 2006.
 28. Kilpatrick ES. Haemoglobin A1c in the diagnosis and monitoring of diabetes mellitus. *J Clin Pathol* 2008;61:977–82.
 29. Saudek CD, Herman WH, Sacks DB, Bergenstal RM, Edelman D, Davidson MB. A new look at screening and diagnosing diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2447–53.
 30. Willett W, Stampfer M. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. *Am J Epidemiol* 1986;124:17–27.
 31. Ainsworth BE, Haskell WL, Whitt MC, et al. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(suppl 9):S498–504.
 32. Tuomilehto J, Hu G, Bidel S, Lindstrom J, Jousilahti P. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus among middle-aged Finnish men and women. *JAMA* 2004;291:1213–9.
 33. Van Dam RM, Feskens EJ. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 2002;360:1477–8.
 34. van Dam RM, Dekker JM, Nijpels G, Stehouwer CD, Bouter LM, Heine RJ. Coffee consumption and incidence of impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes: the Hoorn Study. *Diabetologia* 2004;47:2152–9.
 35. Carlsson S, Hammar N, Grill V, Kaprio J. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes in Finnish twins. *Int J Epidemiol* 2004;33:616–7.
 36. deValk HW. Magnesium in diabetes mellitus. *Neth J Med* 1999;54: 139–46.
 37. Svilaas A, Sakhi AK, Andersen LF, et al. Intake of antioxidants in coffee, wine, and vegetables are correlated with plasma carotenoids in humans. *J Nutr* 2004;134:562–7.
 38. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergell A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol* 2005;4:5–15.
 39. Shearer J, Farah A, Paulis T, et al. Quinides of roasted coffee enhance insulin action in conscious rats. *J Nutr* 2003;133:3529–32.
 40. Arion WJ, Canfield WK, Ramos FC, et al. Chlorogenic acid and hydroxynitrobenzaldehyde: new inhibitors of hepatic glucose 6-phosphatase. *Arch Biochem Biophys* 1997;339:315–22.
 41. Prasad K, Mantha SV, Muir AD, Westcott ND. Protective effect of secoisolariciresinol diglucoside against streptozotocin-induced diabetes and its mechanism. *Mol Cell Biochem* 2000;206:141–9.
 42. Hurrell RF, Reddy M, Cook JD. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *Br J Nutr* 1999;81:289–95.
 43. Fumeron F, Péan F, Driss F, et al. Ferritin and transferrin are both predictive of the onset of hyperglycemia in men and women over 3 years. *Diabetes Care* 2006;29:2090–4.
 44. Vari JS, Balkau B, Kettaneh A, et al. Ferritin and transferrin are associated with metabolic syndrome abnormalities and their change over time in a general population. Data from an Epidemiological Study on the Insulin Resistance Syndrome (DESIR). *Diabetes Care* 2007;30:1795–801.
 45. Perron NR, Brumaghim JL. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochem Biophys* 2009;53:75–100.
 46. Hallberg L, Hulthén L. Prediction of dietary iron absorption: an algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1147–60.
 47. Tunnicliffe JM, Shearer J. Coffee, glucose homeostasis, and insulin resistance: physiological mechanisms and mediators. *Appl Physiol Nutr Metab* 2008;33:1290–300.

Article 5 : **Fagherazzi G**, Fabre A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F.
*Serum cholesterol level, use of a cholesterol-lowering drug, and breast cancer:
results from the prospective E3N cohort.*
Eur J Cancer Prev. 2010 Mar;19(2):120-5.

Serum cholesterol level, use of a cholesterol-lowering drug, and breast cancer: results from the prospective E3N cohort

Guy Fagherazzi, Alban Fabre, Marie-Christine Boutron-Ruault and Françoise Clavel-Chapelon

Metabolic syndrome, including low HDL cholesterol, has been associated with an increased breast cancer risk, whereas little is known of the relationship with total cholesterol. Cox proportional hazards regression models were performed to evaluate the association between self-reported total serum cholesterol, cholesterol-lowering drugs, and risk of breast cancer in 69 088 women from the French E3N cohort study. A total of 2932 cases of primary invasive breast cancer were reported during 12 years of follow-up. Compared with women with low/normal serum cholesterol (<6.6 mol/l), users of cholesterol-lowering drugs had a significantly decreased breast cancer risk [hazard ratio (HR): 0.79, 95% confidence interval (CI): 0.68, 0.93]. There was no variation in HRs according to the menopausal status. In strata defined by the hormone receptor status of the tumor, the risk reached statistical significance only for the estrogen-positive and progesterone-positive receptor subtype (HR: 0.64, 95% CI: 0.50, 0.82). A high cholesterol without cholesterol-lowering drug use was not associated with breast cancer risk

Breast cancer is the most common cancer in women in France (Belot *et al.*, 2008). Although its etiology is partially unknown, there is evidence for a role of factors that affect hormonal status. Several components of the metabolic syndrome, including visceral adiposity, insulin resistance, history of diabetes, and a low HDL cholesterol level have been related to increased breast cancer risk. HDL cholesterol level has also been positively associated with high alcohol consumption, a well-known breast cancer risk factor (Boyd and McGuire, 1990). Regarding total serum cholesterol, the literature is less conclusive.

Some studies have shown inverse relationships between total serum cholesterol and cancer risk (Feinleib, 1981; Nomura *et al.*, 1991; Schuit *et al.*, 1993), whereas others showed no association (Salonen, 1982; Keys *et al.*, 1985; Sidney *et al.*, 1986; Kritchevsky, 1992). However, use of cholesterol-lowering drugs was not taken into account and women with a normal cholesterol level, whether treated or not, were analyzed in a single category.

Many pharmacological studies and clinical trials have analyzed the effect of statins, currently the most common treatment for high cholesterol level. Use of statins has been consistently associated with a decrease in coronary heart disease risk (Delahoy *et al.*, 2009), but there is no

(HR: 0.99, 95% CI: 0.85, 1.15) in the entire population. Our result concerning cholesterol-lowering drugs is consistent with studies showing that hypolipidemic molecules are effective in inhibiting cancer cell growth proliferation. Further studies should investigate whether these findings apply to all classes of cholesterol-lowering drugs. *European Journal of Cancer Prevention* 19:120–125 © 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins.

European Journal of Cancer Prevention 2010, 19:120–125

Keywords: breast cancer, cholesterol, cholesterol-lowering drug, cohort study

Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, ERI-20, EA4045 Paris-Sud Université, and Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

Correspondence to Dr Françoise Clavel-Chapelon, PhD, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Espace Maurice Tubiana, 39 rue Camille Desmoulins, 94805 Villejuif, Cedex, France
Tel: +33 1 42 11 41 48; fax: +33 1 42 11 40 00; e-mail: clavel@igr.fr

Received 7 September 2009 Accepted 8 October 2009

evidence of association with overall mortality and overall cancer risk (Kuoppala *et al.*, 2008), except weak evidence for colorectal cancer risk (Browning and Martin, 2007). Prospective studies which analyzed their association with breast cancer risk (Beck *et al.*, 2003; Eliassen *et al.*, 2005; Friis *et al.*, 2005; Cauley *et al.*, 2006; Boudreau *et al.*, 2007; Setoguchi *et al.*, 2007) failed to find an association; however, they did not adjust for serum cholesterol level, menopausal status, and breast cancer hormone receptor status.

We used data from the French E3N cohort to investigate the association between breast cancer risk and both total serum cholesterol level and cholesterol-lowering drugs, taking into account both menopausal and hormone receptor status.

Materials and methods

Study population

The E3N cohort has already been described (Flamant *et al.*, 2006). Briefly, it is composed of 98 995 women living in France, insured through a health insurance scheme primarily covering teachers. Participants were between 40 and 65 years of age at inclusion (between June 1990 and November 1991). Since then, they have been required to complete self-administered questionnaires sent out approximately every 2 years. All questionnaires investigated

cancer occurrence and requested addresses of physicians and permission to obtain pathology reports. The present analysis involved women who had responded to a dietary history questionnaire sent in 1993. After two reminders to nonresponders, 77 613 dietary questionnaires were collected (81.1% response rate). Among them, 2104 were excluded because of miscoding and 985 because responders did not give consent to follow-up by the health insurer (MGEN) in case of dropout. In addition, 4510 women who had reported cancer diagnosis before responding to the dietary questionnaire and 926 women with unavailable subsequent follow-up information were excluded. We finally studied 69 088 women. During follow-up (up to July 2005), 2932 incident primary invasive breast cancers were diagnosed (640 were premenopausal and 2292 postmenopausal). Histological confirmation was obtained for 96% of cases.

Total serum cholesterol levels were requested through five questionnaires. Cholesterol levels in the interval (2.6–10.4) mmol/l were reported at least once during follow-up in 76% of included women.

Information on the use of cholesterol-lowering drugs was requested in the questionnaire following inclusion (1995) in this study (mean delay between the two questionnaires: 1.5 years). Women were asked whether they were taking a hypolipidemic drug. Those who reported being treated were considered treated for the entire follow-up period, as discontinuation of such treatment is uncommon (Cubeddu and Seamon, 2006).

To enable us to distinguish intrinsic effects of serum cholesterol from effects of the treatment, we considered the following time-dependent categories that were reevaluated after each questionnaire: untreated women with low/normal serum cholesterol levels (≤ 6.6 mmol/l, which corresponded to the two first tertiles in our population), untreated women with high serum cholesterol levels (> 6.6 mmol/l), treated women whatever their cholesterol level, and women with missing information on serum cholesterol.

We defined the date of menopause as the date preceding 12 consecutive months of amenorrhea (excluding hysterectomy), the date of bilateral oophorectomy or, if not available, in decreasing order of priority, the self-reported date of menopause, the date when hormone menopause therapy use began, the date when menopausal symptoms began, or an imputed date corresponding to 47 years of age if menopause was because of oophorectomy and 51 years of age otherwise (median ages for surgical and natural menopause in the cohort, respectively).

Statistical analysis

We adjusted for the following potential confounders recorded at baseline: alcohol intake, total dietary fat, energy intake (without alcohol and total fat), ever use of

oral contraceptives, age at menarche, age at menopause, number of children and age at first pregnancy, history of breast cancer in the family, diabetes status, and years of schooling. We also adjusted for current use of postmenopausal hormone therapy (for postmenopausal women only) and personal history of benign breast disease considered as time-dependent variables in the models. Analyses were further stratified on menopausal status and BMI. Cut-offs are indicated in footnotes of tables.

Cox proportional hazards regression models with age as the time scale were performed to estimate hazard ratio (HR) and 95% confidence interval (CI) of the association between total serum cholesterol level (treated and untreated) and breast cancer risk. We used competitive risk models to assess the risk for five different types of breast cancer defined by hormone receptor status: the four different combinations of positive or negative estrogen receptor (ER) and positive or negative progesterone receptor (PR), and unspecified receptor status. All analyses were performed using SAS software, version 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, North Carolina, USA).

Results

We first analyzed the distribution of cholesterol level/cholesterol-lowering drug, our main exposure variable at baseline, according to several factors (Table 1). Women treated for a high cholesterol level were older, had used fewer oral contraceptives, consumed less total dietary fat, had a higher BMI, were more frequently diabetic, less often received postmenopausal hormone therapy, and were less well educated.

At baseline, mean levels of serum cholesterol were 5.79 mmol/l in treated women, 5.43 mmol/l in untreated women with low or normal serum cholesterol level and 7.28 mmol/l in untreated women with high serum cholesterol level.

Table 2 presents multivariate HRs of breast cancer in relation to the cholesterol level/cholesterol-lowering drug variable in the whole population, and in premenopausal and postmenopausal women. As compared with untreated women with normal or low serum cholesterol levels, treated women had significantly lower breast cancer risk (HR: 0.79, 95% CI: 0.68, 0.93). No association was observed in untreated women with high levels of cholesterol (HR: 0.99, 95% CI: 0.85, 1.15). Use of a cholesterol-lowering drug was also associated with a decrease in risk which was significant in postmenopausal women (HR: 0.79, 95% CI: 0.67, 0.93), but not in premenopausal women (HR: 0.81, 95% CI: 0.43, 1.51). There was no association between untreated high cholesterol levels and breast cancer risk, either in premenopausal or postmenopausal women (HR: 0.92, 95% CI: 0.66, 1.27 and HR: 1.00, 95% CI: 0.85, 1.19, respectively). HRs were similar (test for homogeneity $P=0.58$) in the three strata of BMI: for women who used cholesterol-lowering drugs, risks

Table 1 Baseline distribution of the different modalities of the main exposure variable on other factors

Variables	Treated women N=4934	Nontreated women		Missing cholesterolia N=43655
		Cholesterolia >6.6 mmol/l N=4085	Cholesterolia ≤ 6.6 mmol/l N=16414	
Age at baseline (years) (%)				
<47	6	26	26	26
47-51	11	24	24	23
51-57	26	26	27	26
>57	57	24	23	25
Alcohol intake (g/day) (%)				
<1.37	27	25	25	25
1.37-6.13	25	25	26	24
6.13-15.56	25	25	25	25
>15.56	22	25	25	25
Total dietary fat intake (g/day) (%)				
<69	33	24	25	25
69-86	27	25	25	25
86-105	22	26	25	25
>105	18	25	26	26
Energy intake without alcohol and dietary fat (kcal/day) (%)				
<1035	28	25	25	26
1035-1261	26	26	25	25
1261-1519	24	24	25	25
>1519	23	25	26	25
Use of contraceptives (%)				
Never	59	37	37	38
Ever	41	63	63	62
Age at menarche (years) (%)				
<12	21	21	21	21
12-13	26	26	26	26
13-14	24	25	25	25
>14	29	28	28	28
Age at menopause (years) (%)				
<48	22	16	16	17
48-52	43	46	46	47
<52	35	38	38	38
Number of children (%)				
0	14	11	11	12
One before 30	13	13	12	12
More than one, with the 1st one before 30	65	66	69	68
One after 30	3	4	3	4
More than one, with the first one after 30	5	6	5	5
Age at first pregnancy (years) (%)				
<22	18	18	19	19
22-24	44	41	42	42
24-27	15	17	16	16
>27	23	24	23	24
Family history of breast cancer (%)				
None	88	88	88	88
At least one	12	12	12	12

Table 1 (continued)

Variables	Treated women N=4934	Nontreated women		Missing cholesterolia N=43655
		Cholesterolia >6.6 mmol/l N=4085	Cholesterolia ≤ 6.6 mmol/l N=16414	
Diabetes status (%)				
No	95	97	97	97
Yes	5	3	3	3
Years of schooling (%)				
<9	19	14	14	15
10-16	67	67	68	67
>16	14	19	18	18
Current use of hormone replacement therapy (postmenopausal women only) (%)				
No	33	23	23	26
Yes	67	77	77	74
Personal history of benign breast disease (%)				
No	74	71	71	72
Yes	26	29	29	28
Menopausal status (%)				
Premenopause	14	46	47	43
Postmenopause	86	54	53	57
BMI (kg/m²) (%)				
Lean (<22)	2	4	4	4
Normal (22-25)	67	78	78	76
Overweight (25-30)	25	15	15	16
Obesity (>30)	6	3	3	4

were 0.78 (95% CI: 0.58, 1.07), 0.84 (95% CI: 0.65, 1.08), and 0.76 (95% CI: 0.59, 0.98) in women with low, medium, and high BMI, respectively.

Table 3 presents HRs of breast cancer defined by hormone receptor status. Women who used cholesterol-lowering drugs had a significant 36% decreased risk of ER + /PR + breast cancer compared with non-users with low serum cholesterol (HR: 0.64, 95% CI: 0.50, 0.82; $P < 0.01$). HRs corresponding to other breast cancer subtypes were of similar magnitude (test for homogeneity $P > 0.10$), but did not reach statistical significance.

As treated women were older, we performed sensitivity analyses to investigate potential misclassification of exposure to cholesterol-lowering drugs. Restricting our population to (i) women above age 50 years of age (mean age at menopause in our population), (ii) women above 55 years of age (90th centile of age at menopause), and (iii) menopausal women at baseline, the association between the use of a cholesterol-lowering drug and breast cancer risk remained similar.

Table 2 Hazard ratios in the entire population and in strata defined by menopausal status and BMI levels

	Number of cases	Entire population		Number of cases	Premenopausal women		Number of cases	Menopausal women	
All levels of BMI together	2932			640			2292		
Untreated cholesterolemia ≤ 6.6 mmol/l		1	(Reference)		1	(Reference)		1	(Reference)
Untreated cholesterolemia > 6.6 mmol/l		0.99	0.85,1.15		0.92	0.66,1.27		1.00	0.85-1.19
Use of cholesterol-lowering drug		0.79	0.68,0.93		0.81	0.43,1.51		0.79	0.68-0.93
BMI < 22 kg/m ²	1075			298			777		
Untreated cholesterolemia ≤ 6.6 mmol/l		1	(Reference)		1	(Reference)		1	(Reference)
Untreated cholesterolemia > 6.6 mmol/l		0.96	0.75,1.23		0.96	0.60,1.52		0.96	0.71-1.29
Use of cholesterol-lowering drug		0.78	0.58,1.07		1.25	0.51,3.03		0.74	0.53-1.04
BMI between 22 and 25 kg/m ²	1069			221			848		
Untreated cholesterolemia ≤ 6.6 mmol/l		1	(Reference)		1	(Reference)		1	(Reference)
Untreated cholesterolemia > 6.6 mmol/l		1.08	0.85,1.36		1.08	0.64,1.84		1.08	0.83-1.40
Use of cholesterol-lowering drug		0.84	0.65,1.08		1.13	0.41,3.04		0.82	0.63-1.06
BMI > 25 kg/m ²	788			121			667		
Untreated cholesterolemia ≤ 6.6 mmol/l		1	(Reference)		1	(Reference)		1	(Reference)
Untreated cholesterolemia > 6.6 mmol/l		0.89	0.65,1.20		0.48	0.17,1.36		0.95	0.69-1.31
Use of cholesterol-lowering drug		0.76	0.59,0.98		0.21	0.03,1.48		0.80	0.62-1.03

Hazard ratios were estimated using a multivariable Cox proportional hazards regression model adjusted for alcohol intake (g/day), total dietary fat (g/day), energy intake (without alcohol and total fat, kcal/day), ever use of oral contraceptives (yes/no), age at menarche, age at menopause (< 48 , between 48 and 52, > 52 years), number of children and age at first pregnancy (0 child, one child and before age 30, more than one child, first child before age 30, one child and after age 30, more than one child and first child after age 30), history of breast cancer in the family, diabetes status (yes, no), and years of schooling (< 10 , 10-16, > 16). We also adjusted for current use of postmenopausal hormone therapy (for postmenopausal women only, yes/no) and personal history of benign breast disease (yes/no) considered as time-dependent variables in the models.

Table 3 Hazard ratios defined by hormone receptor status

Breast cancer types defined by hormone receptor status Cases (N)	ER + /PR + 1345		ER + /PR - 481		ER - /PR + 101		ER - /PR - 383		Unspecified 642	
Nontreated cholesterolemia ≤ 6.6 mmol/l	1	(Reference)	1	(Reference)	1	(Reference)	1	(Reference)	1	(Reference)
Nontreated cholesterolemia > 6.6 mmol/l	0.95	0.76,1.18	0.90	0.62,1.31	0.67	0.23,1.95	0.92	0.60,1.42	1.24	0.92,1.67
Use of cholesterol-lowering drug	0.64	0.50,0.82	0.84	0.58,1.21	0.94	0.58,2.36	0.91	0.59,1.41	1.00	0.75,1.34

ER, estrogen receptor; PR, progesterone receptor.

Discussion

This is the first prospective study analyzing the link between breast cancer risk, categorized by hormone receptor status, and serum cholesterol level, specifically differentiating users of hypolipidemic drugs from non-users, and adjusting for dietary habits, of major importance when considering the cholesterol level. We observed a decrease in breast cancer risk in women who used a cholesterol-lowering drug compared with non-users, whereas there was no such association between serum total cholesterol and breast cancer risk among untreated women. Although the inverse association was statistically significant in menopausal women and for the ER + /

PR + breast cancer subgroup, no significant heterogeneity was observed according to menopausal status or receptor subtype.

As suggested by experimental studies (Glynn *et al.*, 2008), cholesterol-lowering drugs might inhibit cancer cell growth proliferation. Although treated women may also modify their lifestyle (Brookhart *et al.*, 2007), the efficacy of currently used cholesterol-lowering drugs, especially statins, reduces the need for a stringent diet. It is unlikely that increased health consciousness of women who receive chronic treatments such as cholesterol-lowering drugs can explain the reduction in breast cancer

risk observed in our population. Indeed, careful adjustment for several confounders is likely to have limited residual confounding. Moreover, if our results were because of healthy user bias, then increased breast cancer risk would be observed in untreated women with high cholesterol levels, as women with unhealthy lifestyle are likely to be overrepresented in this group.

The significant association we found between the use of cholesterol-lowering drugs and breast cancer risk was found mainly in the ER+/PR+ breast cancer subgroup. Hypolipidemic properties of estrogens may complement those of molecules of cholesterol-lowering drugs and strengthen the decrease in breast cancer risk (De Marinis *et al.*, 2008). However, existing cohort studies that considered only statins (Eliassen *et al.*, 2005; Cauley *et al.*, 2006; Boudreau *et al.*, 2007) failed to find such an association in ER+/PR+ breast cancers.

Our results on serum cholesterol level itself are in agreement with previous studies showing no association, but all these studies but one (Ha *et al.*, 2009) considered all cancer sites together (Salonen, 1982; Keys *et al.*, 1985; Sidney *et al.*, 1986; Kritchevsky, 1992).

Cholesterol-lowering drugs were not updated. However, misclassification because of later onset of cholesterol-lowering drugs would be nondifferential and would essentially dilute the observed association. In addition, sensitivity analyses restricted to older age groups, where such misclassification is less likely, did not modify the findings. We were unable to distinguish a change in dietary habits during or after the use of cholesterol-lowering drugs.

Recent studies have suggested a possible inverse association between low HDL cholesterol and increased breast cancer risk among premenopausal women (Kucharska-Newton *et al.*, 2008). Data were lacking in our study on HDL and LDL cholesterol separately, preventing us from investigating the effect of different cholesterol fractions.

The percentage of unreported cholesterol levels was fairly high. However, characteristics of women who did (or did not) report cholesterol levels were similar. This level of missing information is linked to the fact that, in 2004 for example, only 7% of the French population underwent lipid exploration for serum total cholesterol level through blood drawing (Caisse Nationale d'Assurance Maladie, 2007). Data on serum cholesterol were self-reported, which may result in recall bias, although this bias should not be differential between cases and non-cases because of the prospective design of our study.

Our data concerning hypolipidemic drugs were transversal and not longitudinal like the cholesterol data. In France, use of statins has dramatically increased since they were first introduced in 1991, reaching 78% of prescribed hypolipidemic drugs in 2007 (Caisse Nationale d'Assurance Maladie, 2007). Thus, women in our study

(focusing on the 1993–2005 period) would presumably be users of fibrates, statins, and other hypolipidemic drugs in equivalent proportions, pointing to a hypolipidemic effect rather than the specific effect of a molecule.

In conclusion, women taking a cholesterol-lowering drug may have a significantly decreased breast cancer risk compared with untreated women with normal or low cholesterol level. These findings will require confirmation, and further studies should combine updated information on both cholesterol level and related treatments.

Acknowledgements

This work was carried out with the financial support of the 'Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale' (MGEN); European Community; French League against Cancer (LNCC); Gustave Roussy Institute (IGR); French Institute of Health and Medical Research (Inserm). Guy Fagherazzi was funded by the French Ministry of Research. Alban Fabre was funded by the Cancéropôle – Région Ile de France. The study sponsors had no role in the design of the study, the analysis or interpretation of the data, the writing of the manuscript, or the decision to submit the manuscript for publication.

Conflict of interest: none declared.

References

- Beck P, Wysowski DK, Downey W, Butler-Jones D (2003). Statin use and the risk of breast cancer. *J Clin Epidemiol* 56:280–285.
- Belot A, Grosclaude P, Bossard N, Jouglu E, Berhameou E, Delafosse P, *et al.* (2008). Cancer incidence and mortality in France over the period 1980–2005. *Rev Epidemiol Sante Publique* 56:159–175.
- Boudreau DM, Yu O, Mglorotti DL, Buist DS, Heckbert SR, Daling JR (2007). Statin use and breast cancer risk in a large population-based setting. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16:416–421.
- Boyd NF, McGuire V (1990). Evidence of association between plasma high-density lipoprotein cholesterol and risk factors for breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 82:460–468.
- Brookhart MA, Patrick AR, Domuth C, Avorn J, Shrank W, Cadarette SM, Solomon DH (2007). Adherence to lipid-lowering therapy and the use of preventive health services: an investigation of the healthy user effect. *Am J Epidemiol* 166:348–354.
- Browning DR, Martin RM (2007). Statins and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* 120:833–843.
- Caisse Nationale d'Assurance Maladie (2007). BIOLAM/MEDICAM. www.amef.fr
- Cauley JA, McTiernan A, Rodabough RJ, LaCroix A, Bauer DC, Margolis KL, *et al.* (2006). Statin use and breast cancer: prospective results from the Women's Health Initiative. *J Natl Cancer Inst* 98:700–707.
- Cubeddu LX, Seamon MJ (2006). Statin withdrawal: clinical implications and molecular mechanisms. *Pharmacotherapy* 26:1288–1296.
- De Marinis E, Martini C, Trentalance A, Pallottini V (2008). Sex differences in hepatic regulation of cholesterol homeostasis. *J Endocrinol* 198: 635–643.
- Delahoy PJ, Magliano D J, Webb K, Grobler M, Liew D (2009). The relationship between reduction in low-density lipoprotein cholesterol by statins and reduction in risk of cardiovascular outcomes: an updated meta-analysis. *Clin Ther* 31:236–244.
- Eliassen AH, Colditz GA, Rosner B, Willett WC, Hankinson SE (2005). Serum lipids, lipid-lowering drugs, and the risk of breast cancer. *Arch Intern Med* 165:2264–2271.
- Feinleib M (1981). On a possible inverse relationship between serum cholesterol and cancer mortality. *Am J Epidemiol* 114:5–10.
- Flamant C, Gauthier E, Clavel-Chapelon F (2006). Determinants of non-compliance to recommendations on breast cancer screening among women participating in the French E3N cohort study. *Eur J Cancer Prev* 15:27–33.

- Fris S, Poulsen AH, Johnsen SP, McLaughlin JK, Fryzek JP, Dalton SO, et al. (2005). Cancer risk among statin users: a population-based cohort study. *Int J Cancer* 114:643–647.
- Glynn SA, O'Sullivan D, Eustace AJ, Clynes M, O'Donovan N (2008). The 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors simvastatin, lovastatin and mevastatin inhibit proliferation and invasion of melanoma cells. *BMC Cancer* 8:9.
- Ha M, Sung J, Song YM (2009). Serum total cholesterol and the risk of breast cancer in postmenopausal Korean women. *Cancer Causes Control* 20:1055–1060.
- Keys A, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Dontas AS, Fidanza F, et al. (1985). Serum cholesterol and cancer mortality in the Seven Countries Study. *Am J Epidemiol* 121:870–883.
- Kritchevsky SB (1992). Dietary lipids and the low blood cholesterol-cancer association. *Am J Epidemiol* 135:509–520.
- Kucharska-Newton AM, Rosmond WD, Mink PJ, Alberg AJ, Shahar E, Folsom AR (2008). HDL-cholesterol and incidence of breast cancer in the ARIC cohort study. *Ann Epidemiol* 18:671–677.
- Kuoppala J, Lamminpaa A, Pukkala E (2008). Statins and cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 44:2122–2132.
- Nomura AM, Stemmermann GN, Chyou PH (1991). Prospective study of serum cholesterol levels and large-bowel cancer. *J Natl Cancer Inst* 83:1403–1407.
- Salonen JT (1982). Risk of cancer and death in relation to serum cholesterol. A longitudinal study in an eastern Finnish population with high overall cholesterol level. *Am J Epidemiol* 116:622–630.
- Schuit AJ, Van Dijk CE, Dekker JM, Schouten EG, Kok FJ (1993). Inverse association between serum total cholesterol and cancer mortality in Dutch civil servants. *Am J Epidemiol* 137:966–976.
- Setoguchi S, Glynn RJ, Avorn J, Mogun H, Schneeweiss S (2007). Statins and the risk of lung, breast, and colorectal cancer in the elderly. *Circulation* 115:27–33.
- Sidney S, Friedman GD, Hiatt RA (1986). Serum cholesterol and large bowel cancer. A case-control study. *Am J Epidemiol* 124:33–38.

Article 6 : Engel P, **Fagherazzi G**, Mesrine S, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F.

Joint effects of dietary vitamin D and sun exposure on breast cancer risk: results from the French E3N cohort.

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2011 Jan;20(1):187-98. Epub 2010 Dec

2

Joint Effects of Dietary Vitamin D and Sun Exposure on Breast Cancer Risk: Results from the French E3N Cohort

Pierre Engel^{1,2}, Guy Fagherazzi^{1,2}, Sylvie Mesrine^{1,2}, Marie-Christine Boutron-Ruault^{1,2}, and Françoise Clavel-Chapelon^{1,2}

Abstract

Background: Ecological studies have suggested that vitamin D production through ultraviolet (UV) solar irradiance could reduce breast cancer (BC) risk. Although studies restricted to dietary vitamin D intake have provided inconsistent results, little is known about the relationship between pre- and postmenopausal BC and combined intakes from diet, supplements, and sun exposure.

Methods: Cox proportional hazards regression models evaluated the association between vitamin D intakes, mean daily ultraviolet radiation dose (UVRd) at the place of residence and risk of BC among 67,721 women of the French E3N cohort. All analyses were stratified on menopausal status taking into account important confounders including calcium consumption.

Results: During 10 years of follow-up, a total of 2,871 BC cases were diagnosed. Dietary and supplemental vitamin D intakes were not associated with BC risk; however, in regions with the highest UVRd, postmenopausal women with high dietary or supplemental vitamin D intake had a significantly lower BC risk as compared with women with the lowest vitamin D intake (HR = 0.68, 95% CI: 0.54–0.85, and HR = 0.57, 95% CI: 0.36–0.90, respectively).

Conclusion: Our results suggest that a threshold of vitamin D exposure from both sun and diet is required to prevent BC and this threshold is particularly difficult to reach in postmenopausal women at northern latitudes where quality of sunlight is too poor for adequate vitamin D production.

Impact: Prospective studies should further investigate associations between BC risk, vitamin D status and sunlight exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 20(1); 187–98. ©2011 AACR.

Introduction

Experimental studies have shown anti-carcinogenic properties of vitamin D (1, 2) through regulation of proliferation, differentiation, and apoptosis of breast cells *in vitro* and *in vivo*. Yet, evidence from observational studies that examined the association between breast cancer (BC) risk and vitamin D dietary intakes remains inconclusive (3–6), while among those that specifically assessed vitamin D serum concentrations (7–10), several case-control studies nested in prospective cohorts (8, 11) described a decreasing BC risk with increasing vitamin D concentrations.

Solar ultraviolet radiation B (UVB) irradiation (280–315 nm) provides 50% to 90% of the circulating vitamin D through cutaneous conversion of 7-dehydrocholesterol (12), the remaining coming from the diet, especially dairy foods and fish, or from dietary supplements.

Vitamin D from skin solar irradiation and diet is first metabolized in the liver into 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D]—the relevant serum biomarker to assess a patient's vitamin D status—and then undergoes a second hydroxylation in the kidney and other cells such as breast cells, into 1,25 dihydroxyvitamin D [1,25(OH)D₂], the active biological form, tightly regulated by serum hormone, and calcium levels (12).

Discrepant results on the effects of vitamin D intakes on BC may be related to the tight calcium–vitamin D interrelation (5) or on heterogeneous intakes across countries due to different levels of food fortification, supplementation (13, 14), or sun exposure (15, 16).

Although ecological studies have supported an inverse association between UV-vitamin D and BC mortality or incidence (17), only very few studies explored simultaneous associations between vitamin D dietary intakes and UV exposure, and BC risk (18–20), while taking into

Authors' Affiliations: ¹Inserm, CESP Centre for Research in Epidemiology and Population Health, U1018, Nutrition, Hormones and Women's Health Team, and ²Paris South University, UMRS 1018, F-94805, Villejuif, France

Corresponding Author: Françoise Clavel-Chapelon, Inserm U1018, Institut Gustave Roussy, 114 rue Edouard Vaillant, F-94805 Villejuif, France. Phone: +33-14-2114148; Fax: +33-14-2114000. E-mail: clavel@igr.fr

doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-1039

©2011 American Association for Cancer Research.

account dietary calcium intakes (20). Furthermore, limited evidence suggests that the association between vitamin D intakes and BC risk may differ by menopausal status (21, 22), although others did not find such effect modification (23, 24).

The objectives of the present study were to evaluate the relationship between BC risk and overall vitamin D intakes from diet and UV solar exposure in the large French E3N (Etude Epidémiologique auprès des femmes de l'Education Nationale) cohort taking into account calcium intakes and menopausal status.

Material and Methods

The E3N cohort

E3N is a prospective cohort initiated in 1990 that includes 98,995 French women born between 1925 and 1950 and insured by a health insurance plan mainly covering teachers (25). Participants, who provided written informed consents for external health follow-up through the health insurer, completed biennial self-administered questionnaires sent from 1990 to 2008 on medical and gynaecological history, menopausal status, and a variety of lifestyle characteristics. The study was approved by the French National Commission for Data Protection and Privacy.

Identification of participants with breast cancer

Occurrence of cancer was self-reported in each questionnaire, and a small number of cancers were further identified from the insurance files or information on causes of death obtained from the National Service on Causes of Deaths. The pathology report, used to confirm the diagnosis of invasive BC (our primary outcome), was obtained for 93% of declared BC cases. We also included participants who reported a BC diagnosis but for whom pathology reports had not been obtained, because the proportion of false-positive self-reports was low (<5%).

Dietary data

A validated 208-item diet history questionnaire administered between 1993 and 1995 assessed the previous year usual diet; it was available for 74,524 participants (26).

We estimated the average daily vitamin D, calcium, and energy intakes using a food composition table derived from the updated French national database (27).

Information on vitamin D and calcium supplement use was extracted from questions on treatment/prevention of osteoporosis and on dietary supplementation.

Place of residence and mean daily UV dose solar irradiance estimates

Data on region of residence was assessed for all participants at baseline, and linked to a database containing mean daily ultraviolet radiations doses (UVRd in kJ/m²/day) in French departments obtained from the Joint Research Centre of the European Commission. UVRd

were estimated by a satellite-derived mapping algorithm (28). In brief, the database covers the period from January 1, 1984 to August 21, 2003, with UVRd maps covering Europe with a spatial resolution of 0.05°. UVRd is obtained by interpolation in a validated look-up table (LUT) using the UVspec code (29) of the radiative transfer model package (version 13), the entries of which are solar zenith angle, total column ozone amount, cloud liquid water thickness, near-surface horizontal visibility, surface elevation, and UV albedo. Both satellite (Meteosat, the European geostationary meteorological satellite) and nonsatellite (synoptic observations, meteorological model results, digital elevation model) data are exploited to assign values to the influencing factors. UVRd is constructed by numerical integration of the dose rate estimated at half-hourly intervals from, and including, the local solar noon (for each pixel from the full resolution satellite images).

The quality of the satellite-derived estimates has been assessed at several sites in Europe with usually good r.m.s (relative difference between the satellite estimates and the measured ground erythemal daily doses) and small bias (<3%; ref 28).

For the present study, UVRd estimated over spring and summer seasons were used as the primary surrogate for vitamin D variation in the population since it appears that UVB irradiance, especially in summer, is the strongest determinant of geographical variation in serum 25(OH)D in the United States and much of the world (30). Quartiles of UVRd were thus estimated to categorize the study women (<2.4/2.4–2.5/2.5–2.7/>2.7 kJ/m²/day; Fig. 1) as well as tertiles of latitude of residence, that is, Northern (>49°N), Central (46–49°N), and Southern (<46°N).

Information on region of residence was assessed in 1990 (first questionnaire), at baseline (diet questionnaire), and at the end of follow-up. In addition, birth place, data on skin complexion, recreational physical activity, and usual sunburn resistance were also requested at inclusion. No data were available on individual sunlight exposure.

Definition of menopause

Information on menopausal status was requested in each questionnaire. Women were considered postmenopausal if they had had 12 consecutive months without menstrual periods (unless due to hysterectomy), had undergone bilateral oophorectomy, had ever used menopausal hormone therapy (MHT), or self-reported that they were postmenopausal. Age at menopause was defined as age at the last menstrual period (if the latter occurred before any MHT use, and if amenorrhea was not due to hysterectomy), age at bilateral oophorectomy, or, in decreasing order of priority, self-reported age at menopause, age at start of MHT, or age at start of menopausal symptoms. Women whose age at menopause could not be determined were considered menopausal at age 47 if menopause was surgical and otherwise at age 51, the median ages for surgical and natural menopause, respectively, in the cohort.

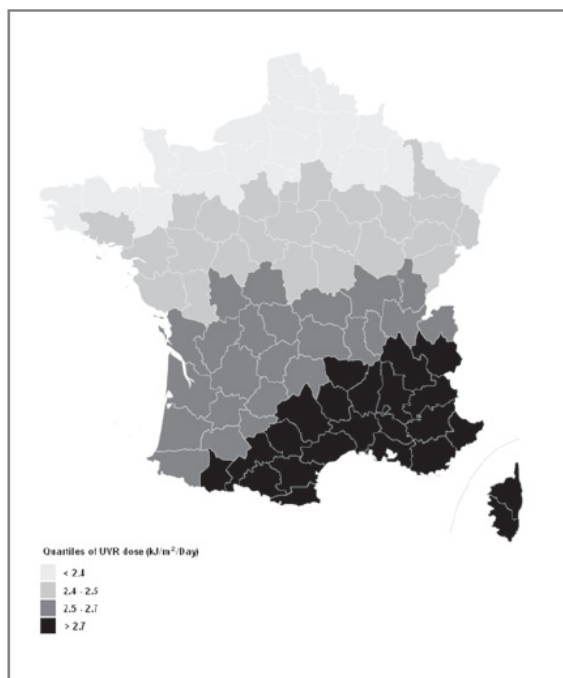


Figure 1. Average daily UVR dose ($\text{kJ}/\text{m}^2/\text{day}$) estimated during spring and summer seasons across French departments. French E3N Cohort.

Statistical analysis

Participants contributed person-years of follow-up from the date they completed the 1993 dietary questionnaire to the date of diagnosis of pre- or postmenopausal invasive BC as first primary cancer, date of diagnosis of another cancer, date of death, or July 2005, whichever came first. Among the 74,524 women with dietary data, women with extreme values (in the bottom 1% or top 1%) of the ratio between energy intake and energy required (computed after taking into account age, weight and height) were excluded ($n = 1,339$). In addition, 4,654 women who had reported cancer diagnosis before responding to the dietary questionnaire and 810 women with unavailable subsequent follow-up information were excluded. We finally studied 67,721 women.

To take into account the correlation between vitamin D and energy intakes ($r = 0.40$, $P < 0.0001$), we calculated the residuals of the linear regression of vitamin D intakes on energy intake from food (excluding energy from alcohol) and added corresponding mean vitamin D intake as a constant, according to the regression-residual method (31). We then categorized the obtained energy-adjusted vitamin D intakes into tertiles according to the distribution observed in the E3N study population. Women taking vitamin D supplements during follow-up were considered in a fourth separate category. Baseline characteristics of the participants were examined by tertiles of energy-adjusted total dietary and supplement vitamin D intakes and by quartiles of UVRd at the place of residence; P values for differences

in characteristics across tertiles were calculated using the global 2-sided chi-square test (for nominal variables), the 2-sided Mantel-Haenszel chi-square test (for ordinal variables), or the 2-sided Wald chi-square test (for continuous variables in the linear regression on vitamin D intakes).

Hazard ratios (HR) and 95% confidence intervals (CI) were obtained for each tertile of dietary vitamin D intake plus a vitamin D supplement category, quartile of UVRd, and tertile of latitude, compared with the lowest category by using Cox's proportional hazards model stratified by 5-year-interval birth cohorts with the women's age as the time scale.

Known risk factors for BC and potential confounders were included in the final models, which were therefore adjusted for body mass index (BMI) before and after menopause ($<20/20-25/>25$ kg/m^2 , considered as a time-dependent variable), physical activity at baseline (in metabolic task per hour in a week; $<34/34-46/46-62/>62$ Met-h/week), menopausal status (time-dependent), age at menopause ($<47/47-54/>54$ years among postmenopausal women), age at menarche, number of full-term pregnancies, previous use of oral contraceptives (ever/never), use of MHT (never/current/past/unknown, time-dependent variable, among postmenopausal women only), mean dietary calcium intakes ($<868.4/868.4-1,092.5/>1,092.5$ mg/day), current use of calcium supplement (yes/no, time-dependent variable), alcohol intake (g/day), total energy intake without alcohol (kcal/day), university degree (yes/no), previous family history of BC (yes/no), previous history of personal benign breast disease (ever/never, time dependent variable), previous mammography (yes/no, time-dependent variable), sun burn resistance (low/medium/high), and skin complexion (very fair/fair/medium/dark/very dark). Smoking status (current/ex/never-smoker; time-dependent variable), personal history of diabetes or thyroid disease (yes/no, time-dependent variables), and bone mineral densitometry exams (ever/never, time dependent variable) were not retained in the final model because they did not improve the model fit by the $P < 0.05$ criterion.

For time-dependent covariates, data recorded in questionnaires i and earlier was used to prospectively categorize women for the period that followed (i.e., between questionnaire i and questionnaire j , where j was the next completed questionnaire).

Multivariate analyses on vitamin D consumption were stratified by menopausal status and additionally adjusted for UVRd in region of residence; HRs for quartiles of UVRd were also computed by adjusting for tertiles of dietary and supplemental vitamin D. We evaluated separately the associations between vitamin D and calcium intakes and BC risk within strata of vitamin D and calcium, respectively. We also investigated the consumption of foods or food groups that were the main contributors to vitamin D intakes in the study population. Although UVRd estimation was not available before

1984, we examined a possible differential effect of UVR childhood exposure by performing sensitivity analyses among women who were born in regions belonging to the same UVRd quartiles than at baseline. Additional analyses were computed by excluding women who moved between regions from 1990 until the beginning of the study (in 1993) or during the follow-up. Finally, we conducted stratified analyses on women whose diagnosis was close to or far from exposure assessment (according to median duration of follow-up until BC diagnosis). To test for trend, the median value for each quintile of UVRd or dietary vitamin D intakes was used as a continuous variable. Trends for dietary intakes were performed while excluding the supplement category because we did not have information on doses. To test for interactions, we included a cross-product term of the median value of intake for each tertile of vitamin D intake and a separate category for vitamin D supplements separately, and the pre-specified categories of stratification, that is, menopausal status, quartiles of UVRd, tertiles of calcium plus calcium supplementation. Log-likelihood tests were used to investigate potential interactions. All *P* values were 2 tailed. We used the SAS statistical software (Version 9.02) for data analysis. Results were presented as mean, standard deviation (SD) for continuous variables and *N* (%) for categorical variables.

Results

A total of 2,871 incident primary invasive BC were diagnosed (618 were premenopausal and 2,253 postmenopausal) in 67,721 women including in the analysis during 711,523 person-years of follow-up (mean duration = 10.4 years, SD, 2.4). The age range was 41.8 to 72.0 (mean age = 52.8 years, SD, 6.6) at baseline, and 43.9 to 78.8 (mean age = 59.2 years, SD, 7.0) at BC diagnosis. The distribution of baseline characteristics by tertiles of energy-adjusted vitamin D plus supplement and by quartiles of residential UVRd is provided in Table 1.

Median vitamin D intake was 96 IU/day (or 2.4 µg/day, 10th–90th percentile range: 52–172 IU/day) and median intake in energy-adjusted tertiles ranged from 64 to 143 IU/day. With regard to the contributions from different foods, 45.5% dietary vitamin D originated from fish and seafood, 16.1% from eggs, 11.0% from dairy products, 10.4% from oils and margarine, 6.5% from cakes, 5.1% from meat, 1.2% from breakfast cereals, and 4.2% from other miscellaneous foods.

Women with higher dietary vitamin D intakes had higher calcium intakes and were more likely to be overweight (BMI >25 kg/m²), to use current MHT, and to report a previous mammography. Women with vitamin D supplements were older, mostly postmenopausal, had higher calcium consumption, a mean consumption of dietary vitamin D of 104 UI, SD = 48 UI, mostly took concomitantly calcium supplement intakes; they were more likely to have higher physical activity and to use MHT at baseline.

As compared with areas of lower sun exposure, women in areas with high sunlight exposure were older, had the lowest alcohol intakes, higher calcium consumption, and used more frequently calcium supplementation; the proportion of postmenopausal women was highest; women also declared to have the highest resistance to sun burn and the highest level of physical activity.

Vitamin D intake from either diet or supplements was not associated with overall, pre- or postmenopausal BC risk (Table 2). Dietary and supplemental vitamin D intakes were not associated with BC risk: third versus first tertile 0.94 (95% CI: 0.86–1.03); *P* for trend = 0.1; and supplement versus first tertile 0.90 (95% CI: 0.72–1.12). Considering other cutoffs for dietary vitamin D intake (<60; 60–120; 120–180; >180 IU/day) led to similar results.

There was no association between BC risk and any of the main food contributors to dietary vitamin D and calcium, in tertiles (data not shown).

Living in the regions with the highest UVRd (>2.7 kJ/m²/day) was associated with a statistically significant decreased BC risk as compared to women with the lowest UVRd (HR = 0.91, 95% CI: 0.82–0.99, *P* for trend across quartiles = 0.06), especially in postmenopausal women (HR = 0.92, 95% CI: 0.82–0.98; *P* for trend = 0.05). Results were similar when considering residential latitudes. Compared to women living in Northern latitudes (>49°N), women in Southern latitudes (<46°N) had a significantly decreased BC risk (HR = 0.90, 95% CI: 0.82–0.98, *P* for trend = 0.02). The association was borderline significant in postmenopausal women (HR = 0.90, 95% CI: 0.81–1.00, *P* for trend = 0.06).

Since dietary vitamin D and calcium intakes were correlated (Pearson's *r* = 0.28, *P* < 0.0001), we evaluated the combined effect of calcium and vitamin D intakes (using tertiles of dietary intakes and additional categories for supplements) on the risk of BC. We did not observe any significant association between BC risk and calcium intake, nor with vitamin D over any stratum of calcium intake (data not shown).

There was no correlation between UVRd and dietary vitamin D intake (*r* = -0.06, *P* < 0.0001) nor between dietary vitamin D and calcium or alcohol intake. The association between vitamin D and BC risk was not significantly modified by age at menarche, age at menopause, BMI, alcohol, current use of MHT, family history of BC, history of benign breast disease, physical activity or dietary and supplement intake of calcium.

We observed a significant interaction between UVRd and dietary vitamin D intake in post (*P* = 0.02) but not in premenopausal women (*P* = 0.4). Relative risks of BC for each level of vitamin D intake and UVRd are presented in Table 3, taking as the reference both low dietary vitamin D and low UV exposure. There was no clear linear dose-response relationship in the joint associations between UVRd and vitamin D intakes, and BC risk, but BC risk was significantly decreased in women with both high UV exposure and the highest dietary (>113 IU/day) or supplemental vitamin D intakes (HR = 0.73, 95% CI:

Table 1. Baseline characteristics by tertiles of energy-adjusted vitamin D, vitamin D supplement, and quartiles of UVR dose at place of residence ($n = 67,721$) E3N cohort 1993 to 2005

Baseline characteristics	Vitamin D dietary intakes, IU/d % or mean (SD)			Mean daily UVR doses, kJ/m ² /d % or mean (SD)				
	< 80	80-113	> 113	Supplement	< 2.4	2.4-2.5	2.5-2.7	> 2.7
N	21,362	21,431	21,367	3,561	17,189	15,946	17,926	16,660
Age, y	52.7 (6.8)	52.4 (6.5)	52.8 (6.5)	54.3 (6.8)	52.5 (6.7)	52.4 (6.6)	52.8 (6.7)	53.3 (6.6)
Age at menarche, y	12.9 (1.4)	12.8 (1.4)	12.7 (1.4)	12.8 (1.4)	12.8 (1.4)	12.8 (1.4)	12.7 (1.4)	12.7 (1.4)
BMI								
<20	18.5	15.4	12.0	13.3	14.4	15.0	16.4	16.5
20-25	65.1	64.6	63.1	65.2	63.0	64.8	64.4	65.0
>25	16.4	20.0	24.9	21.5	22.6	20.2	19.2	18.5
Number of full-term pregnancies	2.0 (1.1)	2.0 (1.1)	2.0 (1.1)	1.9 (1.2)	2.0 (1.2)	2.1 (1.1)	2.0 (1.1)	2.0 (1.1)
Postmenopausal%	53.8	53.2	56.2	71.1	53.2	53.2	55.2	59.5
Age at menopause								
<47	13.4	13.3	14.2	16.7	13.4	13.2	13.8	14.6
47-52	59.6	59.7	60.2	57.3	60.7	60.7	58.8	58.7
>52	27.0	27.0	25.6	26.0	25.9	26.1	27.4	26.7
University degree, %	85.9	86.3	86.0	86.9	85.9	86.5	85.8	86.3
First degree relative with breast cancer, %	11.9	11.5	11.5	11.8	11.4	12.1	11.1	12.0
History of benign breast disease, %	26.2	26.7	25.8	27.0	26.4	25.9	26.1	26.4
Previous mammography, %	32.6	33.4	35.7	33.6	34.2	35.0	34.8	35.2
Ever oral contraceptive use, %	39.7	42.1	40.9	39.4	41.1	41.9	40.4	38.8
Use of postmenopausal MHT, %								
Never	70.8	69.1	66.7	56.8	68.7	67.5	69.2	67.4
Current	18.3	20.3	21.8	25.7	20.7	21.5	19.6	20.1
Past	10.9	10.6	11.5	17.5	10.6	11.0	11.2	12.5
Dietary variables								
Alcohol intake, g/d	9.9 (1.3)	11.3 (1.4)	12.5 (1.5)	10.0 (1.3)	12.3 (1.5)	12.2 (1.4)	10.2 (1.3)	10.9 (1.5)
Mean dietary calcium intake, mg/d	1,006.1 (315.1)	1,015.3 (298.4)	1,038.2 (302.7)	1,050.5 (330.8)	1,012.5 (313.2)	1,009.5 (297.4)	1,020.2 (301.5)	1,043.7 (315.1)
Mean dietary vitamin D intake, IU/d	60 (16)	96 (8)	156 (44)	104 (48)	108 (48)	108 (48)	104 (47)	100 (48)
Total energy intake without alcohol, kcal/d	2,139.6 (557.8)	2,025.9 (543.9)	2,110.2 (569.7)	2,067.9 (552.9)	2,098.0 (563.9)	2,103.1 (558.7)	2,097.8 (553.8)	2,063.9 (558.9)
Calcium supplement use, % ^a	17.0	16.2	16.3	78.3	18.6	18.4	19.8	22.2

(Continued on the following page)

Table 1. Baseline characteristics by tertiles of energy-adjusted vitamin D, vitamin D supplement, and quartiles of UVR dose at place of residence (n = 67,721) E3N cohort 1993 to 2005 (Cont'd)

Baseline characteristics	Vitamin D dietary intakes, IU/d % or mean (SD)			Mean daily UVR doses, kJ/m ² /d % or mean (SD)				
	< 80	80–113	> 113	Supplement	< 2.4	2.4–2.5	2.5–2.7	> 2.7
Sun-related variables								
UVR dose exposure (kJ/m ² /day)	2.6 (0.3)	2.6 (0.3)	2.5 (0.3)	2.6 (0.3)	2.3 (0.1)	2.4 (0.04)	2.6 (0.07)	2.9 (0.1)
Latitude for region of residence	46.8 (2.2)	47.0 (2.2)	47.1 (2.2)	46.8 (2.2)	49.3 (0.7)	48.4 (0.4)	46.1 (1.1)	44.0 (0.8)
Sunburn resistance								
Low	28.2	28.1	27.8	27.1	29.2	29.4	27.1	26.4
Medium	50.4	49.6	49.0	50.7	50.5	50.1	49.8	48.4
High	21.4	22.3	23.2	22.2	20.3	20.5	23.1	25.2
Skin complexion								
Fair	1.0	1.1	1.2	0.8	1.3	1.2	1.0	0.9
Medium	58.8	58.4	57.9	59.2	61.4	60.8	56.7	54.8
Dark	38.7	39.2	39.3	38.4	36.1	36.7	40.7	42.3
Very dark	1.5	1.3	1.6	1.6	1.2	1.3	1.6	1.9
Recreational physical activity, METs-h/wk								
<34	23.3	24.2	25.3	21.0	26.1	25.5	24.1	20.6
34–46	24.3	25.0	24.5	23.7	25.9	24.8	23.8	23.7
46–62	26.8	26.4	25.8	26.1	25.8	26.3	26.4	26.8
>62	25.6	24.4	24.4	29.2	22.2	23.4	25.7	28.9

Table 2. HRs of breast cancer according to: tertiles of energy-adjusted vitamin D and supplement intakes, quartiles of UVR dose exposure and latitudes at the region of residence ($n = 67,721$) E3N cohort 1993 to 2005

	Entire Population			Premenopausal			Postmenopausal			
	Median value	Person-Years	Cases	HR ^a (CI 95%)	Person-Years	Cases	HR ^a (CI 95%)	Person-Years	Cases	HR ^a (CI 95%)
Vitamin D, IU/d ^b										
< 80	64.4	230,702	927	(Reference)	48,676	212	(Reference)	182,026	715	(Reference)
80-113	96	228,375	947	1.02 (0.93-1.11)	48,649	199	0.92 (0.76-1.12)	179,726	748	1.04 (0.94-1.16)
>113	143.2	224,915	887	0.94 (0.86-1.03)	44,391	203	1.03 (0.85-1.25)	180,524	684	0.92 (0.83-1.02)
Supplemented	unknown	27,531	110	0.90 (0.72-1.12)	1,195	4	0.68 (0.25-1.87)	26,336	106	0.91 (0.73-1.14)
P value for trend				0.13			0.9			0.08
Mean daily UVR dose exposure at place of residence, kJ/m ^{2c}										
< 2.4	2.3	182,934	756	(Reference)	37,024	168	(Reference)	145,910	588	(Reference)
2.4-2.5	2.4	177,040	707	1.01 (0.91-1.12)	36,515	162	1.06 (0.85-1.31)	140,525	545	0.99 (0.88-1.11)
2.5-2.7	2.6	178,854	746	0.95 (0.86-1.06)	37,154	169	1.01 (0.81-1.25)	141,700	577	0.94 (0.84-1.05)
>2.7	3.0	172,695	662	0.91 (0.82-0.99)	32,218	119	0.85 (0.67-1.08)	140,477	543	0.92 (0.82-0.98)
P value for trend				0.06			0.2			0.05
Latitudes at place of residence ^d										
>48.6°N	49.0	234,174	896	(Reference)	45,638	173	(Reference)	188,536	723	(reference)
45.8-48.6°N	47.4	238,435	964	0.98 (0.90-1.08)	48,221	221	1.01 (0.83-1.21)	190,214	743	0.98 (0.88-1.08)
< 45.8° N	44.0	238,914	1,011	0.90 (0.82-0.98)	49,052	224	0.89 (0.73-1.09)	189,862	787	0.90 (0.81-1.00)
P value for trend				0.02			0.2			0.06

^aAdjusted for menopausal status (time dependent), BMI (<20/20-25/>25 kg/m²), physical activity in 1993 (in Met-h/week; <34/34-46/46-62/>62), age at menopause (<47/47-54/>54 years among postmenopausal women only), age at menarche, parity (number of full-term pregnancies), previous use of oral contraceptives (ever/never), use of menopausal hormone therapy (never, current, past, unknown, time-dependent variable, among postmenopausal women only), daily calcium intake (< 868.4/868.4-1,092.5/>1,092.5 mg/day), current use of calcium supplement (yes, no, time-dependent variable), alcohol intake (g/day), total energy intake without alcohol (kcal/day), university degree (yes/no), previous family history of breast cancer (yes/no), previous personal history of benign breast disease (ever, never, time-dependent variable), previous history of mammographic exam (yes, no, time-dependent variable), sun burn resistance (low, medium, high), skin complexion (very fair, fair, medium, dark, very dark).

^bHR were adjusted for the same covariates as ^a plus vitamin D dietary [$<80/80-113/>113$ (IU/day)] and supplement intakes.

^cHR were adjusted for the same covariates as ^a plus UVR dose exposure at place of residence (<2.4/2.4-2.5/2.5-2.7/> 2.7 kJ/m²/day).

Table 3. HRs of breast cancer according to tertile of energy-adjusted vitamin D and supplement intakes, quartiles of UVR dose exposure at the region of residence ($n = 67,721$) E3N cohort 1993 to 2005.

UV dose exposure, $\text{kJ/m}^2/\text{d}$	Vitamin D dietary intakes, IU/d											
	< 80			80-113			> 113			Supplement		
	Cases	Person-Years	HR ^a (CI 95%)	Cases	Person-Years	HR ^a (CI 95%)	cases	Person-Years	HR ^a (CI 95%)	Person-Years	Cases	HR ^a (CI 95%)
Entire population												
< 2.4	58,032	230	(reference)	58,644	248	0.91 (0.76-1.09)	59,156	248	0.86 (0.72-1.03)	7,102	30	0.88 (0.60-1.29)
2.4-2.5	54,158	203	0.89 (0.73-1.07)	59,202	244	0.99 (0.82-1.18)	57,053	238	0.92 (0.76-1.10)	6,627	22	0.72 (0.47-1.12)
2.5-2.7	58,299	243	0.85 (0.71-1.02)	57,189	236	0.88 (0.73-1.05)	55,849	232	0.89 (0.74-1.07)	7,517	35	1.00 (0.70-1.43)
> 2.7	60,213	251	0.88 (0.74-1.05)	53,340	219	0.91 (0.75-1.09)	52,857	169	0.73 (0.60-0.90)	6,285	23	0.63 (0.41-0.96)
Postmenopausal women												
< 2.4	46,809	182	(reference)	44,692	186	0.86 (0.70-1.06)	47,602	191	0.81 (0.66-0.99)	6,807	29	0.87 (0.59-1.28)
2.4-2.5	42,250	149	0.81 (0.65-1.02)	47,393	193	0.98 (0.80-1.20)	44,558	182	0.86 (0.70-1.05)	6,324	21	0.70 (0.45-1.10)
2.5-2.7	44,537	183	0.80 (0.65-1.04)	44,326	180	0.83 (0.68-1.02)	45,320	179	0.83 (0.68-1.02)	7,517	35	1.01 (0.71-1.46)
> 2.7	48,430	201	0.86 (0.70-1.05)	43,315	189	0.94 (0.77-1.15)	43,044	132	0.68 (0.54-0.85)	5,688	21	0.57 (0.36-0.90)
Premenopausal women												
< 2.4	11,223	48	(reference)	13,952	62	1.08 (0.74-1.57)	11,554	57	1.05 (0.72-1.55)	295	1	0.63 (0.09-4.54)
2.4-2.5	11,908	54	1.19 (0.81-1.75)	11,809	51	0.99 (0.67-1.47)	12,495	56	1.15 (0.78-1.69)	303	1	0.68 (0.09-4.96)
2.5-2.7	13,762	60	1.03 (0.70-1.51)	12,863	56	1.03 (0.70-1.52)	10,529	53	1.13 (0.76-1.66)	0	0	-
> 2.7	11,783	50	0.95 (0.64-1.41)	10,025	30	0.71 (0.45-1.12)	9,813	37	0.97 (0.63-1.49)	597	2	1.57 (0.38-6.44)

^aAdjusted for menopausal status (time dependent), BMI (<20/20-25/>25 kg/m^2), physical activity in 1993 (in Met-h/week; <34/34-46/46-62/>62), age at menopause (<47/47-54/>54 years among postmenopausal women), age at menarche, parity (number of full-term pregnancies), previous use of oral contraceptives (ever/never), use of menopausal hormone therapy (never, current, past, unknown, time-dependent variable, among postmenopausal women only), daily calcium (<868.4/868.4-1,092.5/>1,092.5 mg/day), current use of calcium supplement (yes, no, unknown; time-dependent variable), alcohol intake (g/day), total energy intake without alcohol (kcal/day), university degree (yes/no), previous family history of breast cancer (yes, no), previous personal history of benign breast disease (ever, never, time-dependent variable), previous history of mammographic exam (yes, no, time-dependent variable), sun burn resistance (low, medium, high), skin complexion (very fair, fair, medium, dark, very dark).

0.60–0.90; and HR = 0.63, 95% CI: 0.41–0.96, respectively). The association was restricted to postmenopausal women (corresponding HRs = 0.68, 95% CI: 0.54–0.85 and 0.57, 95% CI: 0.36–0.90, respectively).

Based on UVRd quartile distribution (Fig. 1), analyses excluding participants who lived in regions in a different UVR exposure quartile than in 1990 (2%) or who moved before the end of follow-up (3%) provided similar results (data not tabulated). Analyses restricted to women who were born in regions in the same UVRd quartile than their residence at baseline (57%) showed similar BC risk figures, although results were no longer statistically significant (e.g., in postmenopausal women born and living in regions in the upper quartile of UVRd, HRs were 0.75, 95% CI: 0.56–1.01 for dietary vitamin D and 0.76, 95% CI: 0.44–1.32 for supplement intake as compared with those with the lowest intakes born in regions with low sun exposure). Finally, previous analyses stratified on women whose BC diagnosis was close to dietary exposure assessment (<6.3 years corresponding to median duration of follow-up until BC diagnosis) or far from it (>6.3 years) provided consistent BC risk reduction, and no differences were found between point estimates of these 2 groups (data not shown).

Discussion

In this French prospective cohort, with low dietary vitamin D, dietary and supplement vitamin D intakes alone were not associated with the risk of pre- or postmenopausal BC, while high dietary and supplemental vitamin D intakes are associated with a reduced BC risk in women living in areas with higher UV exposure. Although, our results do not support a linear dose-response relationship of both UVR dose and dietary vitamin D on BC risk, our findings suggest that a threshold of vitamin D exposure is required to prevent BC; this minimal amount is likely to vary with individual ability to metabolize or synthesize vitamin D from both sources.

As previously described (3–6, 9), evidence from observational studies on the relationship between vitamin D intake and BC risk is inconsistent. Some observational studies did not describe a decreased risk of BC with increasing vitamin D intakes (20, 32, 33), whereas others support such a relationship (19, 21, 23, 34–37), in either postmenopausal (24, 37), or premenopausal women (22, 34).

Only few observational studies (20–22, 34, 35, 38) examined the joint effect of dietary calcium and vitamin D intakes with discrepant conclusions; consistently to previous findings, we found no significant interaction between calcium and vitamin D intakes (21, 22, 34, 35) and analyses stratified on these 2 nutrients demonstrated that they did not confound each other. Our inconclusive results may be due to low intakes of both nutrients in France as compared to the United States. In the United States, fortification of foods, especially dairy products and margarines, with vitamin D and calcium has been

common practice for a long time (13, 14), while it is still restricted to very few products in France. Indeed a recent meta-analysis (6) concluded to a significant decrease in BC risk only in women with vitamin D intakes over 10 µg/day (400 IU), a threshold that is difficult to reach in Western European countries without supplementation. Vitamin D dietary intakes from foods only were indeed particularly low in our population in comparison to North American populations [median intakes of vitamin D from diet only were 145 IU in women from the Women's Health Initiative trial (39) and 245 IU in the Women's Health Study (21), while only 96 IU in our population]. These low intakes may explain in part the absence of association in our study between overall vitamin D intake from diet and BC risk. Thus, as suggested by our results, diet alone seems unable to provide an adequate amount of vitamin D.

Regarding vitamin D from UV exposure, previous ecological studies (15, 40–42) described a significant inverse association between increased UVRd exposure and BC risk. It is noteworthy that we observed some inverse association between BC risk and a combination of high vitamin D dietary intakes and high UV solar irradiation, despite the fact that our population resides north of 41° latitude (Corsica); indeed, in most parts of France, sun exposure is sufficient for vitamin D production no more than 4 months a year (12), and over half of the year, most of the skin is covered up. High doses (>400 UI/day) of vitamin D supplements have been associated with BC risk reduction (35) but other observational or intervention studies (20) failed to show any association with lower doses of vitamin D supplements. Thus, in situations of low sun exposure, vitamin D dietary intakes may not provide sufficient amounts of vitamin D to observe any association with BC. In our population, the proportion of supplement users was small, and vitamin D intake from dietary sources was too low to compensate for the seasonal variations of vitamin D status at northerly latitudes where quality of sunlight is often too poor for adequate vitamin D production (43). However, we cannot exclude some other mechanism than vitamin D synthesis to account for the observed association between higher UVRd exposure and decreased BC risk.

Results from the first NHANES Epidemiologic study also suggested a stronger BC risk associated with vitamin D dietary intake in women living in areas with high solar radiation (19). In the opposite, others (20) found that the decrease in postmenopausal BC with high dietary vitamin D intake was confined to women living in American States with low UV index (*P* for interaction between dietary vitamin D and UV index = 0.05). Although apparently discrepant, these results suggest that both dietary and UV-produced vitamin D are of importance to ensure doses sufficient for controlling health hazards, the interaction between dietary and UV production depending on the level of each of these components, that is, level of dietary and supplement intake, and level of UVRd.

In France, both the Suvimax study (44) in over 1,500 women and a case-control study nested among 1,908 women of the E3N cohort (8) showed a south-north gradient of mean serum 25(OH)D concentrations with the highest levels in Southern regions and the lowest ones in Northern regions. Studies that examine 25(OH)D serum concentration (45) in relation to BC risk are of particular importance because 25(OH)D is a far more reliable indicator of the vitamin D status, less prone to misclassification bias, than dietary vitamin D intake. Our previous results found a decreased risk of BC with 25(OH)D concentrations above 27 ng/mL as compared with the lowest tertile, under 20 ng/mL (8). 25(OH) vitamin D3 serum concentration has been described to be mainly determined by sunlight exposure (12), whereas in our sample we observed no significant correlation between 25(OH)D and dietary or supplement vitamin D intake (8). Thus the most likely explanation for our present results of an inverse association between residential UVRd and BC risk is through vitamin D photosynthesis and consequently circulating 25(OH)D concentration, making more of this substrate available to the epithelial tissues of the terminal ductal lobular unit of the breast (9); when a sufficient vitamin D level is secured through UV exposure, variations in dietary intake may become of importance; in the opposite, when the underlying level of vitamin D photosynthesis is low, variations in dietary intake are insufficient to make any difference in disease risk.

The above-discussed associations in our study were confined to postmenopausal women. The likelihood of vitamin D deficiency increases with age, as intestinal absorption of vitamin D decreases (46), renal production of 1,25(OH)₂D, the metabolically active form of vitamin D, may be impaired, and production of vitamin D by the skin declines, with the 7-dehydrocholesterase content of the skin being halved after 70 years of age (47). Moreover, after menopause, estrogen deficiency seems to reduce activation of vitamin D and the expression of the vitamin D receptor (48) resulting in increased risk of vitamin D deficiency in older and postmenopausal women (48, 49). However, since previous results from our nested case-control study were stronger in younger than in older women (8), our present results may be due to reduced power in premenopausal women. Alternatively we can hypothesize that vitamin D variation is more strongly related to UV exposure in the place of residence in older women, while place and duration of holidays, as well as other factors (duration of outdoors sports), which we could not consider in our study may be stronger determinants of the vitamin D level in younger women.

Strengths and limits

The prospective design of this study and the small number of women lost to follow-up limits the possibility of recall bias and selection bias as explanations for our results. Although residual confounding may be present, the minimal variation in our point estimates before and

after adjustment for several recognized risk factors for BC reduces this possibility. In addition, we validated the dietary assessment tool, which proved reliable (26).

Previous data demonstrated that sunlight exposure measured by geographic proxies such as region of residence is reflective of the vitamin D status (18, 19, 42). Solar irradiance at the place of residence was assessed by satellite UVR dose calculation, and was thus unbiased, whereas self-declared data on sunbathing habits and outdoor sun exposure provided by sunlight exposure questionnaires may provide imprecise estimates of vitamin D status (50).

Furthermore, although results were of the same magnitude when analyses were stratified on latitude of residence, disparities between UV doses across French regions at same latitudes have been previously observed (28). Thus, use of UV doses may have reduced possible exposure misclassification. In addition, we adjusted for skin complexion, recreational physical activity, usual sunburn resistance, which are additional important predictors of the vitamin D status (14, 51, 52).

At last, our population was mainly composed of sedentary women living at latitudes above 43° where there is a minimal production of vitamin D in the skin during the winter; few women moved regions after inclusion in the study, and sensitivity analyses excluding women who moved between regions before and during the follow-up led to similar results. Thus, we can hypothesize that mean summer and spring UVR dose provided a good indicator of sunlight exposure.

Nevertheless, this study has some limitations. First, we only used a single dietary assessment and thus we could not estimate long-term effects of vitamin D dietary intake in early life as suggested by some studies (22, 23, 32) despite heterogeneous results. Some participants may also have changed their diets through follow-up resulting in some misclassification of exposure, which, though nondifferential, would have weakened the observed associations. In addition, analyses conducted on participants born in regions from same quartile of UVRd than at baseline failed to provide clear evidence of an early benefit of sun exposure on BC risk reduction. However, we can hypothesize that these findings may be due in some parts, to a lack of power and also unavailable estimation of UVRd in early life.

Second, we had no reliable information on doses of vitamin D supplements. However, taking account of vitamin D supplement intake did not affect the observed associations between dietary vitamin D and BC risk, since we considered supplementation as a fourth separate category, which was prospectively updated. This may have limited a potential misclassification bias. Moreover, updating the information on supplement use at each questionnaire could have put more emphasis on short-term effects of high vitamin D doses (53) than a single measurement at baseline.

Third, although adjustment was made for a number of risk factors for BC in the multivariate analyses, we cannot

exclude the possibility that within the main dietary sources of vitamin D and calcium, other nutrients could counteract potential benefits of vitamin D and calcium on BC risk (54). However, models using tertiles of the main food contributors of dietary vitamin D in the population one at a time did not demonstrate any association of these foods with BC risk.

Last, we used UVR dose that only corresponds to a proxy of UVB estimation. Nevertheless, UVR doses were estimated during summer months according to previous work (30) to attenuate the difference between UVB and effective UVR to synthesize vitamin D. Indeed, it has been shown that exposure of the body, in a bathing suit, to 1 minimal erythemal dose (MED; i.e., slight redness of the skin) is equivalent to taking between 10,000 and 25,000 IU of vitamin D orally (12).

Conclusion

In conclusion, based on this large population-based study of French women living above latitude 41°, our findings support a protective effect of sun exposure on the risk of BC and suggest that benefits of vitamin D dietary intakes on BC risk are modulated by UV exposure.

Considering that, in France, mean vitamin D dietary intake is low, and 25(OH)D serum concentrations are mostly below the 30 ng/mL recommended threshold (8), our results suggest that an increase in overall vitamin D intake should be encouraged by food and health agencies, possibly through fortification of foods.

Further investigations are warranted to improve assessment of UVR exposure and its correlation with the vitamin D status. Prospective studies should further investigate the associations between BC risk, vitamin D

status, and sunlight exposure, while also considering the risk of cutaneous melanoma, examining different UVR exposure, and vitamin D intake thresholds.

Disclosure of Potential Conflicts of Interest

No potential conflicts of interest were disclosed.

Ethical approval

This study was approved by the ethics review board of the Inserm-U1018 research team.

Acknowledgments

We are indebted to all participants for providing data. We are grateful to R. Chait, M. Fangon, M. Niravong, and L. Hoang for managing the data. We thank Dr. Jean Verdebout who kindly provided data on mean daily UVRd in French metropolitan departments. The authors are also indebted to all participants for providing data and to practitioners for providing pathology reports.

Grant Support

P. Engel is grateful to the Fondation de France and G. Fagherazzi to the French Ministry of Research for their financial support. The E3N study is being carried out with financial support from the French League Against Cancer, the European Community, the Mutuelle Generale de l'Education Nationale, the Institut Gustave Roussy, the Institut National de la Santé et de la Recherche Medicale, Ligue contre le cancer, Institut Gustave Roussy, and several French local governments. The present study received grant support from the French National Cancer Institute (INCA), the French National Research Agency (ANR), and the French Research Cancer Association (ARC).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. This article must therefore be hereby marked *advertisement* in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

Received October 1, 2010; revised November 10, 2010; accepted November 18, 2010; published OnlineFirst December 2, 2010.

References

- Colston KW, Hansen CM. Mechanisms implicated in the growth regulatory effects of vitamin D in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2002;9:45–59.
- Welsh JE. Vitamin D and breast cancer: insights from animal models. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1721S.
- Bertone-Johnson ER. Vitamin D and breast cancer. *Ann Epidemiol* 2009;19:462–7.
- Chen P, Hu P, Xie D, et al. Meta-analysis of vitamin D, calcium and the prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;121:469–77.
- Cui Y, Rohan TE. Vitamin D, calcium, and breast cancer risk: a review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:1427–37.
- Gissel T, Rejnmark L, Mosekilde L, Vestergaard P. Intake of vitamin D and risk of breast cancer—a meta-analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008;111:195–9.
- Almquist M, Bondeson AG, Bondeson L, Malm J, Manjer J. Serum levels of vitamin D, PTH and calcium and breast cancer risk—a prospective nested case-control study. *Int J Cancer* 2010;127:2159–68.
- Engel P, Fagherazzi G, Boutten A, et al. Serum 25(OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study from the French E3N cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:2341–50.
- Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, et al. Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007;103:708–11.
- Yin L, Grandi N, Raum E, et al. Meta-analysis: serum vitamin D and breast cancer risk. *Eur J Cancer* 2010;46:2196–205.
- Rejnmark L, Tietze A, Vestergaard P, et al. Reduced prediagnostic 25-hydroxyvitamin D levels in women with breast cancer: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:2655–60.
- Holick MF. Vitamin D: A millenium perspective. *J Cell Biochem* 2003;88:296–307.
- Calvo MS, Whiting SJ, Barton CN. Vitamin D fortification in the United States and Canada: current status and data needs. *Am J Clin Nutr* 2004;80Suppl:1710S–6S.
- McKenna MJ. Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *Am J Med* 1992;93:69–77.
- Grant WB. An ecologic study of dietary and solar ultraviolet-B links to breast carcinoma mortality rates. *Cancer* 2002;94:272–81.
- Porojnicu AC, Lagunova Z, Robsahm TE, et al. Changes in risk of death from breast cancer with season and latitude: sun exposure and breast cancer survival in Norway. *Breast Cancer Res Treat* 2007;102:323–8.
- Grant WB, Mohr SB. Ecological studies of ultraviolet B, vitamin D and cancer since 2000. *Ann Epidemiol* 2009;19:446–54.
- Edvardson K, Veierod MB, Brustad M, et al. Vitamin D-effective solar UV radiation, dietary vitamin D and breast cancer risk. *Int J Cancer* Epub 2010 May 13.

19. John EM, Schwartz GG, Dreon DM, Koo J. Vitamin D and breast cancer risk: the NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971 à 1975 to 1992. National Health and Nutrition Examination Survey. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:399–406.
20. McCullough ML, Rodriguez C, Diver WR, et al. Dairy, calcium, and vitamin D intake and postmenopausal breast cancer risk in the Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2898–904.
21. Lin J, Manson JAE, Lee I. Intakes of calcium and vitamin D and breast cancer risk in women. *Arch Int Med* 2007;167:1050.
22. Shin MH, Holmes MD, Hankinson SE, et al. Intake of dairy products, calcium, and vitamin d and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1301–11.
23. Knight JA, Lesosky M, Barnett H, Raboud JM, Vieth R. Vitamin D and reduced risk of breast cancer: a population-based case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:422–9.
24. Rossi M, McLaughlin JK, Lagiou P, et al. Vitamin D intake and breast cancer risk: a case-control study in Italy. *Ann Oncol* 2009;20(2):374–8.
25. Fournier A, Fabre A, Mesrine S, et al. Use of different postmenopausal hormone therapies and risk of histology-and hormone receptor-defined invasive breast cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:1260.
26. Van Liere MJ, Lucas F, Clavel F, Slimani N, Villeminot S. Relative validity and reproducibility of a French dietary history questionnaire. *Int J Epidemiol* 1997;26:128–36.
27. Favier JC, Ireland-Ripert J, Toque C, Feinberg M. Table de composition (Composition tables) INRA, CIQUAL-REGAL, Tec & Doc Lavoisier; Paris: 1995. Répertoire Général des Aliments.
28. Verdebout J. A European satellite-derived UV climatology available for impact studies. *Radiat Prot Dosimetry* 2004;111:407–11.
29. Mayer B, Seckmeyer G, Kylling A. Systematic long-term comparison of spectral UV measurements and UVSPEC modeling results. *J Geophys Res* 1997;102:8755–67.
30. Grant WB, Garland CF. The association of solar ultraviolet B (UVB) with reducing risk of cancer: multifactorial ecologic analysis of geographic variation in age-adjusted cancer mortality rates. *Anticancer Res* 2006;26:2687–99.
31. Willett W. *Nutritional epidemiology*. New York: Oxford University Press; 1998.
32. Frazier AL, Li L, Cho E, Willett WC, Colditz GA. Adolescent diet and risk of breast cancer. *Cancer Causes Control* 2004;15:73–82.
33. Potischman N, Swanson CA, Coates RJ, et al. Intake of food groups and associated micronutrients in relation to risk of early-stage breast cancer. *Int J Cancer* 1999;82:315–21.
34. Abbas S, Linseisen J, Chang-Claude J. Dietary vitamin D and calcium intake and premenopausal breast cancer risk in a German case-control study. *Nutr Cancer* 2007;59:54–61.
35. Anderson LN, Cotterchio M, Vieth R, Knight JA. Vitamin D and calcium intakes and breast cancer risk in pre- and postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2010;91:1699–707.
36. Braga C, La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Parpinel M. Intake of selected foods and nutrients and breast cancer risk: an age- and menopause-specific analysis. *Nutr Cancer* 1997;28:258–63.
37. Robien K, Cutler GJ, Lazovich DA. Vitamin D intake and breast cancer risk in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *Cancer Causes Control* 2007;18:775–82.
38. Levi F, Pasche C, Lucchini F, La Vecchia C. Dietary intake of selected micronutrients and breast-cancer risk. *Int J Cancer* 2001;91:261–3.
39. Chlebowski RT, Johnson KC, Kooperberg C, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1581–91.
40. Boscoe FP, Schymura MJ. Solar ultraviolet-B exposure and cancer incidence and mortality in the United States, 1993–2002. *BMC Cancer* 2006;6:264.
41. Gorham ED, Garland FC, Garland CF. Sunlight and breast cancer incidence in the USSR. *Int J Epidemiol* 1990;19:820–4.
42. Laden F, Spiegelman D, Neas LM, et al. Geographic variation in breast cancer incidence rates in a cohort of U.S. women. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1373–8.
43. Hypponen E, Power C. Hypovitaminosis D in British adults at age 45 years: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. *Am J Clin Nutr* 2007;85:860–8.
44. Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 1997;7:439–43.
45. Gandini S, Boniol M, Haukka J, et al. Meta-analysis of observational studies of serum 25-hydroxyvitamin D levels and colorectal, breast and prostate cancer and colorectal adenoma. *Int J Cancer Epub* 2010 May 6.
46. Bell NH. Vitamin D metabolism, aging, and bone loss. *Endocrine Soc* 1995;80:1051.
47. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266–81.
48. Welsh J, Wietzke JA, Zinser GM, et al. Vitamin D-3 receptor as a target for breast cancer prevention. *J Nutr* 2003;133 Suppl:2425S–33S.
49. Malabanan AO, Holick MF. Vitamin D and bone health in postmenopausal women. *J Women's Health* 2003;12:151–6.
50. Millen AE, Bodnar LM. Vitamin D assessment in population-based studies: a review of the issues. *Am J Clin Nutr* 2008;87:1102S–5S.
51. Millen AE, Pettinger M, Freudenheim JL, et al. Incident invasive breast cancer, geographic location of residence, and reported average time spent outside. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:495–507.
52. Tangpricha V, Turner A, Spina C, et al. Tanning is associated with optimal vitamin D status (serum 25-hydroxyvitamin D concentration) and higher bone mineral density. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1645–9.
53. Crew KD, Gammon MD, Steck SE, et al. Association between plasma 25-hydroxyvitamin D and breast cancer risk. *Cancer Prev Res* 2009;2:598–604.
54. Moorman PG, Terry PD. Consumption of dairy products and the risk of breast cancer: a review of the literature. *Am J Clin Nutr* 2004;80:5–14.

Références bibliographiques

1. Russo J, Hu YF, Yang X, Russo IH. Developmental, cellular, and molecular basis of human breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2000;17-37.
2. Preston-Martin S, Pike MC, Ross RK, Jones PA, Henderson BE. Increased cell division as a cause of human cancer. *Cancer Res* 1990;50:7415-7421.
3. Allred DC, Mohsin SK, Fuqua SA. Histological and biological evolution of human premalignant breast disease. *Endocr Relat Cancer* 2001;8:47-61.
4. Burstein HJ, Polyak K, Wong JS, Lester SC, Kaelin CM. Ductal carcinoma in situ of the breast. *N Engl J Med* 2004;350:1430-1441.
5. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;127:2893-2917.
6. Belot A, Grosclaude P, Bossard N, Jouglu E, Benhamou E, Delafosse P, Guizard AV, Molinie F, Danzon A, Bara S, Bouvier AM, Tretarre B, Binder-Foucard F, Colonna M, Daubisse L, Hedelin G, Launoy G, Le Stang N, Maynadie M, Monnereau A, Troussard X, Faivre J, Collignon A, Janoray I, Arveux P, Buemi A, Raverdy N, Schvartz C, Bovet M, Cherie-Challine L, Esteve J, Remontet L, Velten M. Cancer incidence and mortality in France over the period 1980-2005. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2008;56:159-175.
7. Ringa V, Fournier A. [Did the decrease in use of menopausal hormone therapy induce a decrease in the incidence of breast cancer in France (and elsewhere)?]. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2008;56:297-301.
8. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet* 2001;358:1389-1399.
9. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* 2001;2:133-140.
10. Keen JC, Davidson NE. The biology of breast carcinoma. *Cancer* 2003;97:825-833.
11. Thompson D, Easton D. The genetic epidemiology of breast cancer genes. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2004;9:221-236.
12. Key TJ, Pike MC. The role of oestrogens and progestagens in the epidemiology and prevention of breast cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988;24:29-43.
13. Begg L, Kuller LH, Gutai JP, Caggiula AG, Wolmark N, Watson CG. Endogenous sex hormone levels and breast cancer risk. *Genet Epidemiol* 1987;4:233-247.
14. Korenman SG. The endocrinology of breast cancer. *Cancer* 1980;46:874-878.

15. Clavel-Chapelon F, Gerber M. Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis? *Breast Cancer Res Treat* 2002;72:107-115.
16. Clavel-Chapelon F. Cumulative number of menstrual cycles and breast cancer risk: results from the E3N cohort study of French women. *Cancer Causes Control* 2002;13:831-838.
17. Titus-Ernstoff L, Longnecker MP, Newcomb PA, Dain B, Greenberg ER, Mittendorf R, Stampfer M, Willett W. Menstrual factors in relation to breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:783-789.
18. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. *Lancet* 1997;350:1047-1059.
19. Li CI, Anderson BO, Porter P, Holt SK, Daling JR, Moe RE. Changing incidence rate of invasive lobular breast carcinoma among older women. *Cancer* 2000;88:2561-2569.
20. Rosner B, Colditz GA, Willett WC. Reproductive risk factors in a prospective study of breast cancer: the Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* 1994;139:819-835.
21. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15:36-47.
22. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet* 2002;360:187-195.
23. Kaaks R, Rinaldi S, Key TJ, Berrino F, Peeters PH, Biessy C, Dossus L, Lukanova A, Bingham S, Khaw KT, Allen NE, Bueno-de-Mesquita HB, van Gils CH, Grobbee D, Boeing H, Lahmann PH, Nagel G, Chang-Claude J, Clavel-Chapelon F, Fournier A, Thiebaut A, Gonzalez CA, Quiros JR, Tormo MJ, Ardanaz E, Amiano P, Krogh V, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Trichopoulou A, Kalapothaki V, Trichopoulos D, Ferrari P, Norat T, Saracci R, Riboli E. Postmenopausal serum androgens, oestrogens and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Endocr Relat Cancer* 2005;12:1071-1082.
24. Key T, Appleby P, Barnes I, Reeves G. Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:606-616.
25. Missmer SA, Eliassen AH, Barbieri RL, Hankinson SE. Endogenous estrogen, androgen, and progesterone concentrations and breast cancer risk among postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1856-1865.
26. Kaaks R, Berrino F, Key T, Rinaldi S, Dossus L, Biessy C, Secreto G, Amiano P, Bingham S, Boeing H, Bueno de Mesquita HB, Chang-Claude J, Clavel-Chapelon F, Fournier A, van Gils CH, Gonzalez CA, Gurree AB, Critselis E, Khaw KT,

- Krogh V, Lahmann PH, Nagel G, Olsen A, Onland-Moret NC, Overvad K, Palli D, Panico S, Peeters P, Quiros JR, Roddam A, Thiebaut A, Tjønneland A, Chirlaque MD, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tumino R, Vineis P, Norat T, Ferrari P, Slimani N, Riboli E. Serum sex steroids in premenopausal women and breast cancer risk within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst* 2005;97:755-765.
27. Micheli A, Muti P, Secreto G, Krogh V, Meneghini E, Venturelli E, Sieri S, Pala V, Berrino F. Endogenous sex hormones and subsequent breast cancer in premenopausal women. *Int J Cancer* 2004;112:312-318.
 28. Breast cancer and hormonal contraceptives: further results. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. *Contraception* 1996;54:1S-106S.
 29. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:321-333.
 30. Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003;362:419-427.
 31. Fournier A, Berrino F, Riboli E, Avenel V, Clavel-Chapelon F. Breast cancer risk in relation to different types of hormone replacement therapy in the E3N-EPIC cohort. *Int J Cancer* 2005;114:448-454.
 32. Fournier A, Berrino F, Clavel-Chapelon F. Unequal risks for breast cancer associated with different hormone replacement therapies: results from the E3N cohort study. *Breast Cancer Res Treat* 2008;107:103-111.
 33. WCRF Systematic literature review report : The Associations between Food, Nutrition and Physical Activity and the Risk of Breast Cancer and Underlying Mechanisms. In: 2010.
 34. Gandini S, Merzenich H, Robertson C, Boyle P. Meta-analysis of studies on breast cancer risk and diet: the role of fruit and vegetable consumption and the intake of associated micronutrients. *Eur J Cancer* 2000;36:636-646.
 35. Chajes V, Thiebaut AC, Rotival M, Gauthier E, Maillard V, Boutron-Ruault MC, Joulin V, Lenoir GM, Clavel-Chapelon F. Association between serum trans-monounsaturated fatty acids and breast cancer risk in the E3N-EPIC Study. *Am J Epidemiol* 2008;167:1312-1320.
 36. Cottet V, Touvier M, Fournier A, Touillaud MS, Lafay L, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC. Postmenopausal breast cancer risk and dietary patterns in the E3N-EPIC prospective cohort study. *Am J Epidemiol* 2009;170:1257-1267.
 37. Friedenreich CM, Cust AE. Physical activity and breast cancer risk: impact of timing, type and dose of activity and population subgroup effects. *Br J Sports Med* 2008;42:636-647.

38. Tehard B, Friedenreich CM, Oppert JM, Clavel-Chapelon F. Effect of physical activity on women at increased risk of breast cancer: results from the E3N cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:57-64.
39. Bergstrom A, Pisani P, Tenet V, Wolk A, Adami HO. Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. *Int J Cancer* 2001;91:421-430.
40. Boyd NF, Rommens JM, Vogt K, Lee V, Hopper JL, Yaffe MJ, Paterson AD. Mammographic breast density as an intermediate phenotype for breast cancer. *Lancet Oncol* 2005;6:798-808.
41. McCormack VA, dos SS, I. Breast density and parenchymal patterns as markers of breast cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:1159-1169.
42. Dupont WD, Page DL. Breast cancer risk associated with proliferative disease, age at first birth, and a family history of breast cancer. *Am J Epidemiol* 1987;125:769-779.
43. Xue F, Michels KB. Diabetes, metabolic syndrome, and breast cancer: a review of the current evidence. *Am J Clin Nutr* 2007;86:s823-s835.
44. Grimaldi A. Diabète de type 2. 2004.
45. International Diabetes Federation. The Diabetes Atlas. Third Edition. In: 2006.
46. Saudek CD, Herman WH, Sacks DB, Bergenstal RM, Edelman D, Davidson MB. A new look at screening and diagnosing diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2447-2453.
47. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004;27:1047-1053.
48. World Health Organization, International Diabetes Federation. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. In: **WHO Document Production Services**; 2006.
49. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998;21:1414-1431.
50. Kusnik-Joinville O, Weill A, Ricordeau P, Allemand H. Diabète traité : quelles évolutions entre 2000 et 2005 ? *Pratiques et Organisation des Soins* 2007;38.
51. Ricordeau P, Weill A, Vallier N, Bourrel R, Guilhot J, Fender P, Allemand H. Prévalence et coût du diabète en France métropolitaine : quelles évolutions entre 1998 et 2000 ? *Revue Médicale de l'Assurance Maladie* 2002;33:257-265.
52. Ricci P, Blotière P0, Weill A, Simon D, Tuppin P, Ricordeau P, Allemand H. Diabète traité : quelles évolutions entre 2000 et 2009 en France ? *Bulletin épidémiologique hebdomadaire* 2010;42-43:425-431.

53. Jarrett RJ. Epidemiology and public health aspects of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Epidemiol Rev* 1989;11:151-171.
54. Donahue RP, Orchard TJ. Diabetes mellitus and macrovascular complications. An epidemiological perspective. *Diabetes Care* 1992;15:1141-1155.
55. Zimmet PZ, Alberti KG. The changing face of macrovascular disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus: an epidemic in progress. *Lancet* 1997;350 Suppl 1:SI1-SI4.
56. Zimmet PZ, McCarty DJ, de Court. The global epidemiology of non-insulin-dependent diabetes mellitus and the metabolic syndrome. *J Diabetes Complications* 1997;11:60-68.
57. Profenno LA, Porsteinsson AP, Faraone SV. Meta-analysis of Alzheimer's disease risk with obesity, diabetes, and related disorders. *Biol Psychiatry* 2010;67:505-512.
58. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, Willett WC. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* 2001;345:790-797.
59. Eschwege E. [Epidemiology of type II diabetes, diagnosis, prevalence, risk factors, complications]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2000;93 Spec No 4:13-17.
60. Vazquez G, Duval S, Jacobs DR, Jr., Silventoinen K. Comparison of body mass index, waist circumference, and waist/hip ratio in predicting incident diabetes: a meta-analysis. *Epidemiol Rev* 2007;29:115-128.
61. Laaksonen MA, Knekt P, Rissanen H, Harkanen T, Virtala E, Marniemi J, Aromaa A, Heliovaara M, Reunanen A. The relative importance of modifiable potential risk factors of type 2 diabetes: a meta-analysis of two cohorts. *Eur J Epidemiol* 2010;25:115-124.
62. Astrup A. Healthy lifestyles in Europe: prevention of obesity and type II diabetes by diet and physical activity. *Public Health Nutr* 2001;4:499-515.
63. Lauzon-Guillain B, Fournier A, Fabre A, Simon N, Mesrine S, Boutron-Ruault MC, Balkau B, Clavel-Chapelon F. Menopausal hormone therapy and new-onset diabetes in the French Etude Epidemiologique de Femmes de la Mutuelle Generale de l'Education Nationale (E3N) cohort. *Diabetologia* 2009;52:2092-2100.
64. Dean L, McEntyre J. *The Genetic Landscape of Diabetes*. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2004.
65. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15:539-553.
66. Grundy SM, Brewer HB, Jr., Cleeman JI, Smith SC, Jr., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood

Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109:433-438.

67. Balkau B, Charles MA, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Wareham N, Yudkin JS, Morris R, Zavaroni I, van Dam R, Feskens E, Gabriel R, Diet M, Nilsson P, Hedblad B. Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab* 2002;28:364-376.
68. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC, Jr. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120:1640-1645.
69. Jiralerspong S, Palla SL, Giordano SH, Meric-Bernstam F, Liedtke C, Barnett CM, Hsu L, Hung MC, Hortobagyi GN, Gonzalez-Angulo AM. Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:3297-3302.
70. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2004;4:579-591.
71. Saenz A, Fernandez-Esteban I, Mataix A, Ausejo M, Roque M, Moher D. Metformin monotherapy for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev* 2005:CD002966.
72. Marena S, Tagliaferro V, Montegrosso G, Pagano A, Scaglione L, Pagano G. Metabolic effects of metformin addition to chronic glibenclamide treatment in type 2 diabetes. *Diabete Metab* 1994;20:15-19.
73. Campbell IW. Metformin and the sulphonylureas: the comparative risk. *Horm Metab Res Suppl* 1985;15:105-111.
74. Gan SC, Barr J, Arieff AI, Pearl RG. Biguanide-associated lactic acidosis. Case report and review of the literature. *Arch Intern Med* 1992;152:2333-2336.
75. Aguilar C, Reza A, Garcia JE, Rull JA. Biguanide related lactic acidosis: incidence and risk factors. *Arch Med Res* 1992;23:19-24.
76. Chen WY, Colditz GA, Rosner B, Hankinson SE, Hunter DJ, Manson JE, Stampfer MJ, Willett WC, Speizer FE. Use of postmenopausal hormones, alcohol, and risk for invasive breast cancer. *Ann Intern Med* 2002;137:798-804.
77. Allen NE, Beral V, Casabonne D, Kan SW, Reeves GK, Brown A, Green J. Moderate alcohol intake and cancer incidence in women. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:296-305.

78. Suzuki R, Ye W, Rylander-Rudqvist T, Saji S, Colditz GA, Wolk A. Alcohol and postmenopausal breast cancer risk defined by estrogen and progesterone receptor status: a prospective cohort study. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1601-1608.
79. Koppes LL, Dekker JM, Hendriks HF, Bouter LM, Heine RJ. Moderate alcohol consumption lowers the risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective observational studies. *Diabetes Care* 2005;28:719-725.
80. Carlsson S, Hammar N, Grill V. Alcohol consumption and type 2 diabetes Meta-analysis of epidemiological studies indicates a U-shaped relationship. *Diabetologia* 2005;48:1051-1054.
81. Conigrave KM, Rimm EB. Alcohol for the prevention of type 2 diabetes mellitus? *Treat Endocrinol* 2003;2:145-152.
82. Seike N, Noda M, Kadowaki T. Alcohol consumption and risk of type 2 diabetes mellitus in Japanese: a systematic review. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008;17:545-551.
83. Hodge AM, English DR, O'Dea K, Giles GG. Alcohol intake, consumption pattern and beverage type, and the risk of Type 2 diabetes. *Diabet Med* 2006;23:690-697.
84. Tang N, Zhou B, Wang B, Yu R. Coffee consumption and risk of breast cancer: a metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:290-299.
85. Ganmaa D, Willett WC, Li TY, Feskanich D, van Dam RM, Lopez-Garcia E, Hunter DJ, Holmes MD. Coffee, tea, caffeine and risk of breast cancer: a 22-year follow-up. *Int J Cancer* 2008;122:2071-2076.
86. Ishitani K, Lin J, Manson JE, Buring JE, Zhang SM. Caffeine consumption and the risk of breast cancer in a large prospective cohort of women. *Arch Intern Med* 2008;168:2022-2031.
87. Nkondjock A. Coffee consumption and the risk of cancer: an overview. *Cancer Lett* 2009;277:121-125.
88. Nagata C, Kabuto M, Shimizu H. Association of coffee, green tea, and caffeine intakes with serum concentrations of estradiol and sex hormone-binding globulin in premenopausal Japanese women. *Nutr Cancer* 1998;30:21-24.
89. Ferrini RL, Barrett-Connor E. Caffeine intake and endogenous sex steroid levels in postmenopausal women. The Rancho Bernardo Study. *Am J Epidemiol* 1996;144:642-644.
90. van Dam RM. Coffee and type 2 diabetes: from beans to beta-cells. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006;16:69-77.
91. Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005;45:287-306.
92. Greer F, Hudson R, Ross R, Graham T. Caffeine ingestion decreases glucose disposal during a hyperinsulinemic-euglycemic clamp in sedentary humans. *Diabetes* 2001;50:2349-2354.

93. van Dieren S, Uiterwaal CS, van der Schouw YT, van der AD, Boer JM, Spijkerman A, Grobbee DE, Beulens JW. Coffee and tea consumption and risk of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2009;52:2561-2569.
94. van Dam RM, Hu FB. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *JAMA* 2005;294:97-104.
95. Greenberg JA, Boozer CN, Geliebter A. Coffee, diabetes, and weight control. *Am J Clin Nutr* 2006;84:682-693.
96. Paynter NP, Yeh HC, Voutilainen S, Schmidt MI, Heiss G, Folsom AR, Brancati FL, Kao WH. Coffee and sweetened beverage consumption and the risk of type 2 diabetes mellitus: the atherosclerosis risk in communities study. *Am J Epidemiol* 2006;164:1075-1084.
97. Pereira MA, Parker ED, Folsom AR. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus: an 11-year prospective study of 28 812 postmenopausal women. *Arch Intern Med* 2006;166:1311-1316.
98. Bidel S, Silventoinen K, Hu G, Lee DH, Kaprio J, Tuomilehto J. Coffee consumption, serum gamma-glutamyltransferase and risk of type II diabetes. *Eur J Clin Nutr* 2008;62:178-185.
99. Odegaard AO, Pereira MA, Koh WP, Arakawa K, Lee HP, Yu MC. Coffee, tea, and incident type 2 diabetes: the Singapore Chinese Health Study. *Am J Clin Nutr* 2008;88:979-985.
100. Oba S, Nagata C, Nakamura K, Fujii K, Kawachi T, Takatsuka N, Shimizu H. Consumption of coffee, green tea, oolong tea, black tea, chocolate snacks and the caffeine content in relation to risk of diabetes in Japanese men and women. *Br J Nutr* 2010;103:453-459.
101. Smith B, Wingard DL, Smith TC, Kritz-Silverstein D, Barrett-Connor E. Does coffee consumption reduce the risk of type 2 diabetes in individuals with impaired glucose? *Diabetes Care* 2006;29:2385-2390.
102. Fuhrman BJ, Smit E, Crespo CJ, Garcia-Palmieri MR. Coffee intake and risk of incident diabetes in Puerto Rican men: results from the Puerto Rico Heart Health Program. *Public Health Nutr* 2009;12:842-848.
103. Greenberg JA, Axen KV, Schnoll R, Boozer CN. Coffee, tea and diabetes: the role of weight loss and caffeine. *Int J Obes (Lond)* 2005;29:1121-1129.
104. Iso H, Date C, Wakai K, Fukui M, Tamakoshi A. The relationship between green tea and total caffeine intake and risk for self-reported type 2 diabetes among Japanese adults. *Ann Intern Med* 2006;144:554-562.
105. Salazar-Martinez E, Willett WC, Ascherio A, Manson JE, Leitzmann MF, Stampfer MJ, Hu FB. Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2004;140:1-8.

106. van Dam RM, Willett WC, Manson JE, Hu FB. Coffee, caffeine, and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study in younger and middle-aged U.S. women. *Diabetes Care* 2006;29:398-403.
107. Hu G, Jousilahti P, Peltonen M, Bidel S, Tuomilehto J. Joint association of coffee consumption and other factors to the risk of type 2 diabetes: a prospective study in Finland. *Int J Obes (Lond)* 2006;30:1742-1749.
108. MacFarlane A, MacFarlane I. *The Empire of Tea*. 2004.
109. McAfee AJ, McSorley EM, Cuskelly GJ, Moss BW, Wallace JM, Bonham MP, Fearon AM. Red meat consumption: an overview of the risks and benefits. *Meat Sci* 2010;84:1-13.
110. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, Overvad K, Olsen A, Tjonneland A, Clavel F, Boutron-Ruault MC, Kesse E, Boeing H, Bergmann MM, Nieters A, Linseisen J, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tountas Y, Berrino F, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Skeie G, Ardanaz E, Gonzalez C, Navarro C, Quiros JR, Sanchez MJ, Berglund G, Mattisson I, Hallmans G, Palmqvist R, Day NE, Khaw KT, Key TJ, San Joaquin M, Hemon B, Saracci R, Kaaks R, Riboli E. Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:906-916.
111. Missmer SA, Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS, Adami HO, Beeson WL, van den Brandt PA, Fraser GE, Freudenheim JL, Goldbohm RA, Graham S, Kushi LH, Miller AB, Potter JD, Rohan TE, Speizer FE, Toniolo P, Willett WC, Wolk A, Zeleniuch-Jacquotte A, Hunter DJ. Meat and dairy food consumption and breast cancer: a pooled analysis of cohort studies. *Int J Epidemiol* 2002;31:78-85.
112. Cho E, Chen WY, Hunter DJ, Stampfer MJ, Colditz GA, Hankinson SE, Willett WC. Red meat intake and risk of breast cancer among premenopausal women. *Arch Intern Med* 2006;166:2253-2259.
113. Taylor VH, Misra M, Mukherjee SD. Is red meat intake a risk factor for breast cancer among premenopausal women? *Breast Cancer Res Treat* 2009;117:1-8.
114. Taylor EF, Burley VJ, Greenwood DC, Cade JE. Meat consumption and risk of breast cancer in the UK Women's Cohort Study. *Br J Cancer* 2007;96:1139-1146.
115. Kabat GC, Cross AJ, Park Y, Schatzkin A, Hollenbeck AR, Rohan TE, Sinha R. Meat intake and meat preparation in relation to risk of postmenopausal breast cancer in the NIH-AARP diet and health study. *Int J Cancer* 2009;124:2430-2435.
116. Cosgrove M, Flynn A, Kiely M. Consumption of red meat, white meat and processed meat in Irish adults in relation to dietary quality. *Br J Nutr* 2005;93:933-942.
117. Song Y, Manson JE, Buring JE, Liu S. A prospective study of red meat consumption and type 2 diabetes in middle-aged and elderly women: the women's health study. *Diabetes Care* 2004;27:2108-2115.

118. Fung TT, Schulze M, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Dietary patterns, meat intake, and the risk of type 2 diabetes in women. *Arch Intern Med* 2004;164:2235-2240.
119. Mannisto S, Kontto J, Kataja-Tuomola M, Albanes D, Virtamo J. High processed meat consumption is a risk factor of type 2 diabetes in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention study. *Br J Nutr* 2010;103:1817-1822.
120. Schulze MB, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Processed meat intake and incidence of Type 2 diabetes in younger and middle-aged women. *Diabetologia* 2003;46:1465-1473.
121. van Dam RM, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary fat and meat intake in relation to risk of type 2 diabetes in men. *Diabetes Care* 2002;25:417-424.
122. Aune D, Ursin G, Veierod MB. Meat consumption and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Diabetologia* 2009;52:2277-2287.
123. Villegas R, Shu XO, Gao YT, Yang G, Cai H, Li H, Zheng W. The association of meat intake and the risk of type 2 diabetes may be modified by body weight. *Int J Med Sci* 2006;3:152-159.
124. Azadbakht L, Esmailzadeh A. Red meat intake is associated with metabolic syndrome and the plasma C-reactive protein concentration in women. *J Nutr* 2009;139:335-339.
125. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
126. Grant WB, Mohr SB. Ecological studies of ultraviolet B, vitamin D and cancer since 2000. *Ann Epidemiol* 2009;19:446-454.
127. Gorham ED, Garland FC, Garland CF. Sunlight and breast cancer incidence in the USSR. *Int J Epidemiol* 1990;19:820-824.
128. Grant WB. An ecologic study of dietary and solar ultraviolet-B links to breast carcinoma mortality rates. *Cancer* 2002;94:272-281.
129. Garland FC, Garland CF, Gorham ED, Young JF. Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev Med* 1990;19:614-622.
130. Salamone LM, Dallal GE, Zantos D, Makrauer F, Dawson-Hughes B. Contributions of vitamin D intake and seasonal sunlight exposure to plasma 25-hydroxyvitamin D concentration in elderly women. *Am J Clin Nutr* 1994;59:80-86.
131. Webb AR, Pilbeam C, Hanafin N, Holick MF. An evaluation of the relative contributions of exposure to sunlight and of diet to the circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D in an elderly nursing home population in Boston. *Am J Clin Nutr* 1990;51:1075-1081.
132. Welsh J. Vitamin D and breast cancer: insights from animal models. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1721S-1724S.

133. Welsh J, Wietzke JA, Zinser GM, Byrne B, Smith K, Narvaez CJ. Vitamin D-3 receptor as a target for breast cancer prevention. *J Nutr* 2003;133:2425S-2433S.
134. Abbas S, Linseisen J, Chang-Claude J. Dietary vitamin D and calcium intake and premenopausal breast cancer risk in a German case-control study. *Nutr Cancer* 2007;59:54-61.
135. Anderson LN, Cotterchio M, Vieth R, Knight JA. Vitamin D and calcium intakes and breast cancer risk in pre- and postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2010;91:1699-1707.
136. Knight JA, Lesosky M, Barnett H, Raboud JM, Vieth R. Vitamin D and reduced risk of breast cancer: a population-based case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:422-429.
137. Braga C, La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Parpinel M. Intake of selected foods and nutrients and breast cancer risk: an age- and menopause-specific analysis. *Nutr Cancer* 1997;28:258-263.
138. Levi F, Pasche C, Lucchini F, La Vecchia C. Dietary intake of selected micronutrients and breast-cancer risk. *Int J Cancer* 2001;91:260-263.
139. Potischman N, Swanson CA, Coates RJ, Gammon MD, Brogan DR, Curtin J, Brinton LA. Intake of food groups and associated micronutrients in relation to risk of early-stage breast cancer. *Int J Cancer* 1999;82:315-321.
140. Simard A, Vobecky J, Vobecky JS. Vitamin D deficiency and cancer of the breast: an unprovocative ecological hypothesis. *Can J Public Health* 1991;82:300-303.
141. Rossi M, McLaughlin JK, Lagiou P, Bosetti C, Talamini R, Lipworth L, Giacosa A, Montella M, Franceschi S, Negri E, La Vecchia C. Vitamin D intake and breast cancer risk: a case-control study in Italy. *Ann Oncol* 2009;20:374-378.
142. Frazier AL, Li L, Cho E, Willett WC, Colditz GA. Adolescent diet and risk of breast cancer. *Cancer Causes Control* 2004;15:73-82.
143. Shin MH, Holmes MD, Hankinson SE, Wu K, Colditz GA, Willett WC. Intake of dairy products, calcium, and vitamin d and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1301-1311.
144. John EM, Schwartz GG, Dreon DM, Koo J. Vitamin D and breast cancer risk: the NHANES I Epidemiologic follow-up study, 1971-1975 to 1992. National Health and Nutrition Examination Survey. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:399-406.
145. Lin J, Manson JE, Lee IM, Cook NR, Buring JE, Zhang SM. Intakes of calcium and vitamin D and breast cancer risk in women. *Arch Intern Med* 2007;167:1050-1059.
146. McCullough ML, Rodriguez C, Diver WR, Feigelson HS, Stevens VL, Thun MJ, Calle EE. Dairy, calcium, and vitamin D intake and postmenopausal breast cancer risk

- in the Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2898-2904.
147. Robien K, Cutler GJ, Lazovich D. Vitamin D intake and breast cancer risk in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *Cancer Causes Control* 2007;18:775-782.
 148. Chen P, Hu P, Xie D, Qin Y, Wang F, Wang H. Meta-analysis of vitamin D, calcium and the prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;121:469-477.
 149. McKenna MJ. Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *Am J Med* 1992;93:69-77.
 150. Calvo MS, Whiting SJ, Barton CN. Vitamin D fortification in the United States and Canada: current status and data needs. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1710S-1716S.
 151. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004;79:820-825.
 152. Danescu LG, Levy S, Levy J. Vitamin D and diabetes mellitus. *Endocrine* 2009;35:11-17.
 153. Pittas AG, Dawson-Hughes B. Vitamin D and diabetes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;121:425-429.
 154. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2017-2029.
 155. Hypponen E, Power C. Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. *Am J Clin Nutr* 2007;85:860-868.
 156. Macdonald HM, Mavroceidi A, Barr RJ, Black AJ, Fraser WD, Reid DM. Vitamin D status in postmenopausal women living at higher latitudes in the UK in relation to bone health, overweight, sunlight exposure and dietary vitamin D. *Bone* 2008;42:996-1003.
 157. Ford ES, Ajani UA, McGuire LC, Liu S. Concentrations of serum vitamin D and the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care* 2005;28:1228-1230.
 158. Hypponen E, Boucher BJ, Berry DJ, Power C. 25-hydroxyvitamin D, IGF-1, and metabolic syndrome at 45 years of age: a cross-sectional study in the 1958 British Birth Cohort. *Diabetes* 2008;57:298-305.
 159. Feinleib M. On a possible inverse relationship between serum cholesterol and cancer mortality. *Am J Epidemiol* 1981;114:5-10.
 160. Nomura AM, Stemmermann GN, Heilbrun LK. Serum cholesterol and colon cancer. *JAMA* 1982;247:304.
 161. Nomura AM, Stemmermann GN, Chyou PH. Prospective study of serum cholesterol levels and large-bowel cancer. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:1403-1407.

162. Schuit AJ, Van Dijk CE, Dekker JM, Schouten EG, Kok FJ. Inverse association between serum total cholesterol and cancer mortality in Dutch civil servants. *Am J Epidemiol* 1993;137:966-976.
163. Salonen JT. Risk of cancer and death in relation to serum cholesterol. A longitudinal study in an eastern Finnish population with high overall cholesterol level. *Am J Epidemiol* 1982;116:622-630.
164. Keys A, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Dontas AS, Fidanza F, Karvonen MJ, Menotti A, Nedeljkovic S, Punsar S, . Serum cholesterol and cancer mortality in the Seven Countries Study. *Am J Epidemiol* 1985;121:870-883.
165. Sidney S, Friedman GD, Hiatt RA. Serum cholesterol and large bowel cancer. A case-control study. *Am J Epidemiol* 1986;124:33-38.
166. Kritchevsky SB, Kritchevsky D. Serum cholesterol and cancer risk: an epidemiologic perspective. *Annu Rev Nutr* 1992;12:391-416.
167. Boyd NF, McGuire V. Evidence of association between plasma high-density lipoprotein cholesterol and risk factors for breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1990;82:460-468.
168. Beck P, Wysowski DK, Downey W, Butler-Jones D. Statin use and the risk of breast cancer. *J Clin Epidemiol* 2003;56:280-285.
169. Eliassen AH, Colditz GA, Rosner B, Willett WC, Hankinson SE. Serum lipids, lipid-lowering drugs, and the risk of breast cancer. *Arch Intern Med* 2005;165:2264-2271.
170. Friis S, Poulsen AH, Johnsen SP, McLaughlin JK, Fryzek JP, Dalton SO, Sorensen HT, Olsen JH. Cancer risk among statin users: a population-based cohort study. *Int J Cancer* 2005;114:643-647.
171. Cauley JA, McTiernan A, Rodabough RJ, LaCroix A, Bauer DC, Margolis KL, Paskett ED, Vitolins MZ, Furberg CD, Chlebowski RT. Statin use and breast cancer: prospective results from the Women's Health Initiative. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:700-707.
172. Boudreau DM, Yu O, Miglioretti DL, Buist DS, Heckbert SR, Daling JR. Statin use and breast cancer risk in a large population-based setting. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:416-421.
173. Setoguchi S, Glynn RJ, Avorn J, Mogun H, Schneeweiss S. Statins and the risk of lung, breast, and colorectal cancer in the elderly. *Circulation* 2007;115:27-33.
174. Klein BE, Klein R, Lee KE. Components of the metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease and diabetes in Beaver Dam. *Diabetes Care* 2002;25:1790-1794.
175. Ley SH, Harris SB, Mamakeesick M, Noon T, Fiddler E, Gittelsohn J, Wolever TM, Connelly PW, Hegele RA, Zinman B, Hanley AJ. Metabolic syndrome and its

- components as predictors of incident type 2 diabetes mellitus in an Aboriginal community. *CMAJ* 2009;180:617-624.
176. Aronne LJ. Classification of obesity and assessment of obesity-related health risks. *Obes Res* 2002;10 Suppl 2:105S-115S.
 177. Chen WY, Colditz GA. Risk factors and hormone-receptor status: epidemiology, risk-prediction models and treatment implications for breast cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2007;4:415-423.
 178. Althuis MD, Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Brinton LA, Madigan MP, Sherman ME. Etiology of hormone receptor-defined breast cancer: a systematic review of the literature. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:1558-1568.
 179. Suzuki R, Orsini N, Saji S, Key TJ, Wolk A. Body weight and incidence of breast cancer defined by estrogen and progesterone receptor status--a meta-analysis. *Int J Cancer* 2009;124:698-712.
 180. Colditz GA, Rosner BA, Chen WY, Holmes MD, Hankinson SE. Risk factors for breast cancer according to estrogen and progesterone receptor status. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:218-228.
 181. Ahn J, Schatzkin A, Lacey JV, Jr., Albanes D, Ballard-Barbash R, Adams KF, Kipnis V, Mouw T, Hollenbeck AR, Leitzmann MF. Adiposity, adult weight change, and postmenopausal breast cancer risk. *Arch Intern Med* 2007;167:2091-2102.
 182. Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet* 2008;371:569-578.
 183. Wiseman M. The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. *Proc Nutr Soc* 2008;67:253-256.
 184. Friedenreich CM. Review of anthropometric factors and breast cancer risk. *Eur J Cancer Prev* 2001;10:15-32.
 185. Harvie M, Hooper L, Howell AH. Central obesity and breast cancer risk: a systematic review. *Obes Rev* 2003;4:157-173.
 186. Tian YF, Chu CH, Wu MH, Chang CL, Yang T, Chou YC, Hsu GC, Yu CP, Yu JC, Sun CA. Anthropometric measures, plasma adiponectin, and breast cancer risk. *Endocr Relat Cancer* 2007;14:669-677.
 187. Tehard B, Clavel-Chapelon F. Several anthropometric measurements and breast cancer risk: results of the E3N cohort study. *Int J Obes (Lond)* 2006;30:156-163.
 188. Huang Z, Willett WC, Colditz GA, Hunter DJ, Manson JE, Rosner B, Speizer FE, Hankinson SE. Waist circumference, waist:hip ratio, and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* 1999;150:1316-1324.

189. Potischman N, Swanson CA, Siiteri P, Hoover RN. Reversal of relation between body mass and endogenous estrogen concentrations with menopausal status. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:756-758.
190. Thomas HV, Key TJ, Allen DS, Moore JW, Dowsett M, Fentiman IS, Wang DY. Reversal of relation between body mass and endogenous estrogen concentrations with menopausal status. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:396-398.
191. Agnoli C, Berrino F, Abagnato CA, Muti P, Panico S, Crosignani P, Krogh V. Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer in the ORDET cohort: a nested case-control study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010;20:41-48.
192. Vona-Davis L, Howard-McNatt M, Rose DP. Adiposity, type 2 diabetes and the metabolic syndrome in breast cancer. *Obes Rev* 2007;8:395-408.
193. Lauzon-Guillain B, Balkau B, Charles MA, Romieu I, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. Birth weight, body silhouette over the life course, and incident diabetes in 91,453 middle-aged women from the French Etude Epidemiologique de Femmes de la Mutuelle Generale de l'Education Nationale (E3N) Cohort. *Diabetes Care* 2010;33:298-303.
194. Larsson SC, Mantzoros CS, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of breast cancer: a meta-analysis. *Int J Cancer* 2007;121:856-862.
195. Kaaks R. Nutrition, hormones, and breast cancer: is insulin the missing link? *Cancer Causes Control* 1996;7:605-625.
196. Kazer RR. Insulin resistance, insulin-like growth factor I and breast cancer: a hypothesis. *Int J Cancer* 1995;62:403-406.
197. Luo Z, Saha AK, Xiang X, Ruderman NB. AMPK, the metabolic syndrome and cancer. *Trends Pharmacol Sci* 2005;26:69-76.
198. Weiderpass E, Gridley G, Persson I, Nyren O, Ekblom A, Adami HO. Risk of endometrial and breast cancer in patients with diabetes mellitus. *Int J Cancer* 1997;71:360-363.
199. Wu AH, Yu MC, Tseng CC, Stanczyk FZ, Pike MC. Diabetes and risk of breast cancer in Asian-American women. *Carcinogenesis* 2007;28:1561-1566.
200. Weiderpass E, Gridley G, Nyren O, Ekblom A, Persson I, Adami HO. Diabetes mellitus and risk of large bowel cancer. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:660-661.
201. Alokail MS, Al Daghri NM, Al Attas OS, Hussain T. Combined effects of obesity and type 2 diabetes contribute to increased breast cancer risk in premenopausal women. *Cardiovasc Diabetol* 2009;8:33.
202. Rollison DE, Giuliano AR, Sellers TA, Laronga C, Sweeney C, Risendal B, Baumgartner KB, Byers T, Slattery ML. Population-based case-control study of diabetes and breast cancer risk in Hispanic and non-Hispanic White women living in US southwestern states. *Am J Epidemiol* 2008;167:447-456.

203. Ogunleye AA, Ogston SA, Morris AD, Evans JM. A cohort study of the risk of cancer associated with type 2 diabetes. *Br J Cancer* 2009;101:1199-1201.
204. Coughlin SS, Calle EE, Teras LR, Petrelli J, Thun MJ. Diabetes mellitus as a predictor of cancer mortality in a large cohort of US adults. *Am J Epidemiol* 2004;159:1160-1167.
205. Wideroff L, Gridley G, Mellemkjaer L, Chow WH, Linet M, Keehn S, Borch-Johnsen K, Olsen JH. Cancer incidence in a population-based cohort of patients hospitalized with diabetes mellitus in Denmark. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1360-1365.
206. Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, Alessi DR, Morris AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ* 2005;330:1304-1305.
207. Libby G, Donnelly LA, Donnan PT, Alessi DR, Morris AD, Evans JM. New users of metformin are at low risk of incident cancer: a cohort study among people with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:1620-1625.
208. Martin-Castillo B, Dorca J, Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraros C, Lopez-Bonet E, Garcia M, Del Barco S, Menendez JA. Incorporating the antidiabetic drug metformin in HER2-positive breast cancer treated with neo-adjuvant chemotherapy and trastuzumab: an ongoing clinical-translational research experience at the Catalan Institute of Oncology. *Ann Oncol* 2009.
209. Jiralerspong S, Angulo AM, Hung MC. Expanding the arsenal: metformin for the treatment of triple-negative breast cancer? *Cell Cycle* 2009;8:2681.
210. Berstein LM, Boyarkina MP, Teslenko SY. Familial diabetes is associated with reduced risk of cancer in diabetic patients: a possible role for metformin. *Med Oncol* 2011.
211. Grenader T, Goldberg A, Shavit L. Metformin As an Addition to Conventional Chemotherapy in Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2009.
212. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsiichlis PN, Struhl K. Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Res* 2009;69:7507-7511.
213. Bentzon N, During M, Rasmussen BB, Mouridsen H, Kroman N. Prognostic effect of estrogen receptor status across age in primary breast cancer. *Int J Cancer* 2008;122:1089-1094.
214. Peairs KS, Barone BB, Snyder CF, Yeh HC, Stein KB, Derr RL, Brancati FL, Wolff AC. Diabetes mellitus and breast cancer outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol* 2011;29:40-46.
215. Clavel-Chapelon F, Jadand C, Goulard H, Guibout-Peigne C. [E3N, a cohort study on cancer risk factors in MGEN women. Description of protocol, main characteristics and population]. *Bull Cancer* 1996;83:1008-1013.

216. Clavel-Chapelon F, van Liere MJ, Giubout C, Niravong MY, Goulard H, Le Corre C, Hoang LA, Amoyel J, Auquier A, Duquesnel E. E3N, a French cohort study on cancer risk factors. E3N Group. *Etude Epidemiologique aupres de femmes de l'Education Nationale*. *Eur J Cancer Prev* 1997;6:473-478.
217. Riboli E, Kaaks R. The EPIC Project: rationale and study design. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*. *Int J Epidemiol* 1997;26 Suppl 1:S6-14.
218. van Liere MJ, Lucas F, Clavel F, Slimani N, Villeminot S. Relative validity and reproducibility of a French dietary history questionnaire. *Int J Epidemiol* 1997;26 Suppl 1:S128-S136.
219. Lucas F, Niravong M, Kaaks R, Villeminot S, Clavel-Chapelon F. Estimation of food portion size using photographs: Relative validity, strengths, weaknesses and recommendations. *J Hum Nutr Diet* 1995;8:65-74.
220. Verdebout J. A European satellite-derived UV climatology available for impact studies. *Radiat Prot Dosimetry* 2004;111:407-411.
221. Cubeddu LX, Seamon MJ. Statin withdrawal: clinical implications and molecular mechanisms. *Pharmacotherapy* 2006;26:1288-1296.
222. Clavel-Chapelon F, Dormoy-Mortier N. A validation study on status and age of natural menopause reported in the E3N cohort. *Maturitas* 1998;29:99-103.
223. Bouyer J, Hémon D, Cordier S, Derriennic F, Stucker I, Stengel B, Clavel J. *Epidémiologie. Principes et méthodes quantitatives*. 2000.
224. Cox DR. Regression Models and Life-Tables. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)* 1972;34:187-220.
225. Commenges D, Letenneur L, Joly P. Re: "Serum transferrin saturation, stroke incidence, and mortality in women and men. The NHANES I Epidemiologic Followup Study". *Am J Epidemiol* 1997;146:683-684.
226. Korn EL, Graubard BI, Midthune D. Time-to-event analysis of longitudinal follow-up of a survey: choice of the time-scale. *Am J Epidemiol* 1997;145:72-80.
227. Thiebaut AC, Benichou J. Choice of time-scale in Cox's model analysis of epidemiologic cohort data: a simulation study. *Stat Med* 2004;23:3803-3820.
228. Willett W, Stampfer MJ. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. *Am J Epidemiol* 1986;124:17-27.
229. Jevtic M, Velicki R, Popovic M, Cemerlic-Adjic N, Babovic SS, Velicki L. Dietary influence on breast cancer. *J BUON* 2010;15:455-461.
230. Bhoo PN, Peeters P, van Gils C, Beulens JW, van der GY, Bueno-de-Mesquita B, Bulgiba A, Uiterwaal CS. Coffee and tea intake and risk of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;121:461-467.

231. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A. Coffee and black tea consumption and risk of breast cancer by estrogen and progesterone receptor status in a Swedish cohort. *Cancer Causes Control* 2009.
232. Michaud DS, Gallo V, Schlehofer B, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Dahm CC, Teucher B, Lukanova A, Boeing H, Schutze M, Trichopoulou A, Lagiou P, Kyrozi A, Sacerdote C, Krogh V, Masala G, Tumino R, Mattiello A, Bueno-de-Mesquita HB, Ros MM, Peeters PH, van Gils CH, Skeie G, Engeset D, Parr CL, Ardanaz E, Chirlaque MD, Dorronsoro M, Sanchez MJ, Arguelles M, Jakszyn P, Nilsson LM, Melin BS, Manjer J, Wirfalt E, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Key TJ, Romieu I, Vineis P, Riboli E. Coffee and tea intake and risk of brain tumors in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort study. *Am J Clin Nutr* 2010;92:1145-1150.
233. Goldbohm RA, Hertog MG, Brants HA, van Poppel G, van den Brandt PA. Consumption of black tea and cancer risk: a prospective cohort study. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:93-100.
234. Michels KB, Holmberg L, Bergkvist L, Wolk A. Coffee, tea, and caffeine consumption and breast cancer incidence in a cohort of Swedish women. *Ann Epidemiol* 2002;12:21-26.
235. Sartippour MR, Pietras R, Marquez-Garban DC, Chen HW, Heber D, Henning SM, Sartippour G, Zhang L, Lu M, Weinberg O, Rao JY, Brooks MN. The combination of green tea and tamoxifen is effective against breast cancer. *Carcinogenesis* 2006;27:2424-2433.
236. Zhang M, Holman CD, Huang JP, Xie X. Green tea and the prevention of breast cancer: a case-control study in Southeast China. *Carcinogenesis* 2007;28:1074-1078.
237. Kotsopoulos J, Eliassen AH, Missmer SA, Hankinson SE, Tworoger SS. Relationship between caffeine intake and plasma sex hormone concentrations in premenopausal and postmenopausal women. *Cancer* 2009;115:2765-2774.
238. World Health Organization. Global Status Report on Alcohol. In: 2004.
239. Bell NH. Vitamin D metabolism, aging, and bone loss. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1051.
240. Chlebowski RT, Johnson KC, Kooperberg C, Pettinger M, Wactawski-Wende J, Rohan T, Rossouw J, Lane D, O'Sullivan MJ, Yasmeen S, Hiatt RA, Shikany JM, Vitolins M, Khandekar J, Hubbell FA. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1581-1591.
241. Boscoe FP, Schymura MJ. Solar ultraviolet-B exposure and cancer incidence and mortality in the United States, 1993-2002. *BMC Cancer* 2006;6:264.
242. Laden F, Spiegelman D, Neas LM, Colditz GA, Hankinson SE, Manson JE, Byrne C, Rosner BA, Speizer FE, Hunter DJ. Geographic variation in breast cancer incidence rates in a cohort of U.S. women. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1373-1378.

243. Edvardsen K, Veierod MB, Brustad M, Braaten T, Engelsen O, Lund E. Vitamin D-effective solar UV radiation, dietary vitamin D and breast cancer risk. *Int J Cancer* 2011;128:1425-1433.
244. Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, Grant WB, Giovannucci EL, Lipkin M, Newmark H, Holick MF, Garland FC. Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007;103:708-711.
245. Bertone-Johnson ER, Chen WY, Holick MF, Hollis BW, Colditz GA, Willett WC, Hankinson SE. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1991-1997.
246. Lowe LC, Guy M, Mansi JL, Peckitt C, Bliss J, Wilson RG, Colston KW. Plasma 25-hydroxy vitamin D concentrations, vitamin D receptor genotype and breast cancer risk in a UK Caucasian population. *Eur J Cancer* 2005;41:1164-1169.
247. Xie SP, Pirianov G, Colston KW. Vitamin D analogues suppress IGF-I signalling and promote apoptosis in breast cancer cells. *Eur J Cancer* 1999;35:1717-1723.
248. Diorio C, Berube S, Byrne C, Masse B, Hebert-Croteau N, Yaffe M, Cote G, Pollak M, Brisson J. Influence of insulin-like growth factors on the strength of the relation of vitamin D and calcium intakes to mammographic breast density. *Cancer Res* 2006;66:588-597.
249. Peterlik M, Cross HS. Vitamin D and calcium insufficiency-related chronic diseases: molecular and cellular pathophysiology. *Eur J Clin Nutr* 2009;63:1377-1386.
250. Tuomilehto J, Hu G, Bidel S, Lindstrom J, Jousilahti P. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus among middle-aged Finnish men and women. *JAMA* 2004;291:1213-1219.
251. van Dam RM, Feskens EJ. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 2002;360:1477-1478.
252. van Dam RM, Dekker JM, Nijpels G, Stehouwer CD, Bouter LM, Heine RJ. Coffee consumption and incidence of impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes: the Hoorn Study. *Diabetologia* 2004;47:2152-2159.
253. Carlsson S, Hammar N, Grill V, Kaprio J. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes in Finnish twins. *Int J Epidemiol* 2004;33:616-617.
254. de Valk HW. Magnesium in diabetes mellitus. *Neth J Med* 1999;54:139-146.
255. Svilaas A, Sakhi AK, Andersen LF, Svilaas T, Strom EC, Jacobs DR, Jr., Ose L, Blomhoff R. Intakes of antioxidants in coffee, wine, and vegetables are correlated with plasma carotenoids in humans. *J Nutr* 2004;134:562-567.
256. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol* 2005;4:5.

257. Prasad K, Mantha SV, Muir AD, Westcott ND. Protective effect of secoisolariciresinol diglucoside against streptozotocin-induced diabetes and its mechanism. *Mol Cell Biochem* 2000;206:141-149.
258. Hurrell RF, Reddy M, Cook JD. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *Br J Nutr* 1999;81:289-295.
259. Jiang R, Manson JE, Meigs JB, Ma J, Rifai N, Hu FB. Body iron stores in relation to risk of type 2 diabetes in apparently healthy women. *JAMA* 2004;291:711-717.
260. Fleming DJ, Jacques PF, Dallal GE, Tucker KL, Wilson PW, Wood RJ. Dietary determinants of iron stores in a free-living elderly population: The Framingham Heart Study. *Am J Clin Nutr* 1998;67:722-733.
261. Fumeron F, Pean F, Driss F, Balkau B, Tichet J, Marre M, Grandchamp B. Ferritin and transferrin are both predictive of the onset of hyperglycemia in men and women over 3 years: the data from an epidemiological study on the Insulin Resistance Syndrome (DESIR) study. *Diabetes Care* 2006;29:2090-2094.
262. Pietraszek A, Gregersen S, Hermansen K. Alcohol and type 2 diabetes. A review. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010;20:366-375.
263. Siler SQ, Neese RA, Christiansen MP, Hellerstein MK. The inhibition of gluconeogenesis following alcohol in humans. *Am J Physiol* 1998;275:E897-E907.
264. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, van Dam RM, Willett WC, Manson JE, Hu FB. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2006;29:650-656.
265. Djousse L, Gaziano JM, Buring JE, Lee IM. Dietary omega-3 fatty acids and fish consumption and risk of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 2011;93:143-150.
266. Glynn SA, O'Sullivan D, Eustace AJ, Clynes M, O'Donovan N. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors, simvastatin, lovastatin and mevastatin inhibit proliferation and invasion of melanoma cells. *BMC Cancer* 2008;8:9.
267. Brookhart MA, Patrick AR, Dormuth C, Avorn J, Shrank W, Cadarette SM, Solomon DH. Adherence to lipid-lowering therapy and the use of preventive health services: an investigation of the healthy user effect. *Am J Epidemiol* 2007;166:348-354.
268. De Marinis E, Martini C, Trentalance A, Pallottini V. Sex differences in hepatic regulation of cholesterol homeostasis. *J Endocrinol* 2008;198:635-643.
269. Ha M, Sung J, Song YM. Serum total cholesterol and the risk of breast cancer in postmenopausal Korean women. *Cancer Causes Control* 2009.
270. Kucharska-Newton AM, Rosamond WD, Mink PJ, Alberg AJ, Shahar E, Folsom AR. HDL-cholesterol and incidence of breast cancer in the ARIC cohort study. *Ann Epidemiol* 2008;18:671-677.

271. Caisse Nationale d'Assurance Maladie. BIOLAM/MEDICAM. www.ameli.fr 2008.
272. Iwasaki M, Otani T, Inoue M, Sasazuki S, Tsugane S. Body size and risk for breast cancer in relation to estrogen and progesterone receptor status in Japan. *Ann Epidemiol* 2007;17:304-312.
273. Batty GD, Barzi F, Woodward M, Jamrozik K, Woo J, Kim HC, Ueshima H, Huxley RR. Adult height and cancer mortality in Asia: the Asia Pacific Cohort Studies Collaboration. *Ann Oncol* 2010;21:646-654.
274. Kawai M, Minami Y, Kuriyama S, Kakizaki M, Kakugawa Y, Nishino Y, Ishida T, Fukao A, Tsuji I, Ohuchi N. Adiposity, adult weight change and breast cancer risk in postmenopausal Japanese women: the Miyagi Cohort Study. *Br J Cancer* 2010;103:1443-1447.
275. Parr CL, Batty GD, Lam TH, Barzi F, Fang X, Ho SC, Jee SH, Ansary-Moghaddam A, Jamrozik K, Ueshima H, Woodward M, Huxley RR. Body-mass index and cancer mortality in the Asia-Pacific Cohort Studies Collaboration: pooled analyses of 424,519 participants. *Lancet Oncol* 2010;11:741-752.
276. Singh AK, Pandey A, Tewari M, Pratyush DD, Singh HK, Pandey HP, Shukla HS. Obesity augmented breast cancer risk: A potential risk factor for Indian women. *J Surg Oncol* 2011.
277. Key TJ, Appleby PN, Reeves GK, Roddam A, Dorgan JF, Longcope C, Stanczyk FZ, Stephenson HE, Jr., Falk RT, Miller R, Schatzkin A, Allen DS, Fentiman IS, Key TJ, Wang DY, Dowsett M, Thomas HV, Hankinson SE, Toniolo P, Akhmedkhanov A, Koenig K, Shore RE, Zeleniuch-Jacquotte A, Berrino F, Muti P, Micheli A, Krogh V, Sieri S, Pala V, Venturelli E, Secreto G, Barrett-Connor E, Laughlin GA, Kabuto M, Akiba S, Stevens RG, Neriishi K, Land CE, Cauley JA, Kuller LH, Cummings SR, Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Bush TL, Comstock GW, Gordon GB, Miller SR, Longcope C. Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1218-1226.
278. Sonnenschein E, Toniolo P, Terry MB, Bruning PF, Kato I, Koenig KL, Shore RE. Body fat distribution and obesity in pre- and postmenopausal breast cancer. *Int J Epidemiol* 1999;28:1026-1031.
279. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, van Gils CH, Khaw KT, Tehard B, Berrino F, Tjønneland A, Bigaard J, Olsen A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Nagel G, Boeing H, Trichopoulos D, Economou G, Bellos G, Palli D, Tumino R, Panico S, Sacerdote C, Krogh V, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, Lund E, Ardanaz E, Amiano P, Pera G, Quiros JR, Martinez C, Tormo MJ, Wirfalt E, Berglund G, Hallmans G, Key TJ, Reeves G, Bingham S, Norat T, Biessy C, Kaaks R, Riboli E. Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2004;111:762-771.
280. Mellekjaer L, Bigaard J, Tjønneland A, Christensen J, Thomsen B, Johansen C, Overvad K, Olsen JH. Body composition and breast cancer in postmenopausal

- women: a Danish prospective cohort study. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14:1854-1862.
281. Pinheiro RL, Sarian LO, Pinto-Neto AM, Morais S, Costa-Paiva L. Relationship between body mass index, waist circumference and waist to hip ratio and the steroid hormone receptor status in breast carcinoma of pre- and postmenopausal women. *Breast* 2009;18:8-12.
 282. Harris HR, Willett WC, Terry KL, Michels KB. Body Fat Distribution and Risk of Premenopausal Breast Cancer in the Nurses' Health Study II. *J Natl Cancer Inst* 2010.
 283. Wu MH, Chou YC, Yu JC, Yu CP, Wu CC, Chu CM, Yang T, Lai CH, Hsieh CY, You SL, Chen CJ, Sun CA. Hormonal and body-size factors in relation to breast cancer risk: a prospective study of 11,889 women in a low-incidence area. *Ann Epidemiol* 2006;16:223-229.
 284. Heitmann BL, Frederiksen P, Lissner L. Hip circumference and cardiovascular morbidity and mortality in men and women. *Obes Res* 2004;12:482-487.
 285. Lissner L, Bjorkelund C, Heitmann BL, Seidell JC, Bengtsson C. Larger hip circumference independently predicts health and longevity in a Swedish female cohort. *Obes Res* 2001;9:644-646.
 286. Parker ED, Pereira MA, Stevens J, Folsom AR. Association of hip circumference with incident diabetes and coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Am J Epidemiol* 2009;169:837-847.
 287. Seidell JC, Perusse L, Despres JP, Bouchard C. Waist and hip circumferences have independent and opposite effects on cardiovascular disease risk factors: the Quebec Family Study. *Am J Clin Nutr* 2001;74:315-321.
 288. Rosenbaum M, Leibel RL. Clinical review 107: Role of gonadal steroids in the sexual dimorphisms in body composition and circulating concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1784-1789.
 289. Peltz G, Sanderson M, Perez A, Sexton K, Ochoa CD, Fadden MK. Serum leptin concentration, adiposity, and body fat distribution in Mexican-Americans. *Arch Med Res* 2007;38:563-570.
 290. Pichard C, Plu-Bureau, Neves-E Castro, Gompel A. Insulin resistance, obesity and breast cancer risk. *Maturitas* 2008;60:19-30.
 291. Rene GR, Watters A, Xu Y, Singh UP, Mann DR, Rueda BR, Penichet ML. Leptin-signaling inhibition results in efficient anti-tumor activity in estrogen receptor positive or negative breast cancer. *Breast Cancer Res* 2009;11:R36.
 292. Isidori AM, Strollo F, More M, Caprio M, Aversa A, Moretti C, Frajese G, Riondino G, Fabbri A. Leptin and aging: correlation with endocrine changes in male and female healthy adult populations of different body weights. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1954-1962.

293. Tehard B, van Liere MJ, Com NC, Clavel-Chapelon F. Anthropometric measurements and body silhouette of women: validity and perception. *J Am Diet Assoc* 2002;102:1779-1784.
294. Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, Bergenstal RM, Gapstur SM, Habel LA, Pollak M, Regensteiner JG, Yee D. Diabetes and cancer: a consensus report. *CA Cancer J Clin* 2010;60:207-221.
295. Zakikhani M, Dowling R, Fantus IG, Sonenberg N, Pollak M. Metformin is an AMP kinase-dependent growth inhibitor for breast cancer cells. *Cancer Res* 2006;66:10269-10273.