

食の多様性に注目した，非アルコール性脂肪肝疾患の 発症予防を目的とした栄養療法の探索

(研究助成金 60万円)

京都大学大学院 医学研究科 糖尿病内分泌栄養内科学 南野 寛人

[2013年 京都大学 医学部医学科卒]

共同研究者 京都大学大学院医学研究科 糖尿病内分泌栄養内科学 稲垣 暢也
京都大学大学院医学研究科 糖尿病内分泌栄養内科学 池田 香織

(研究応募書)

研究目的

<背景と問題点>非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) は，肝臓への脂肪沈着を認めた病態で，本邦ならびに世界的にも増加の一途をたどっている。NAFLDの有病は，肝関連死のリスク上昇だけでなく，心血管イベントや死亡率のリスク上昇に寄与することが近年報告され，NAFLD発症の予防方策の開発は急務の課題である。NAFLDの発症予防の施策として，食事療法が注目されている。現在確立しているエビデンスとして，カロリー制限が挙げられる。しかし，カロリー制限を長期に行うことは忍容性・QOLの観点から難しく，より簡便で効果的，かつ持続可能な手法の確立が求められる。申請者はその課題を克服するため，今回，食の多様性に注目した。食の多様性は，野菜・豆類・肉類などの食品摂取の種類をスコア化した指標で，これまでの研究では，多様性の増加が，カロリー摂取とは独立して肥満や認知症などの種々の疾患の発症抑制，ならびに死亡率の低下と関連する事が報告されている。しかし，NAFLDの発症と多様性との関連については知見に乏しい。

<研究目的/意図/創意>そこで申請者は，NAFLD発症抑止の方策として，より持続可能性の高い食事療法：食の多様性の増加が有用か，を調査する着想に至った。本研究は，京都大学が保有する1万人を対象とした地域住民大規模コホート研究：ながはまコホートをを用い課題を遂行する。これにより，NAFLD発症予防に対する，安全で効果的な食事療法のエビデンス創出を目指す。

研究実施計画の概要

<対象>京都大学と滋賀県長浜市が共同で実施している地域住民1万人を対象としたコホート研究，ながはま0次コホート用いる。2012-2016年に参加した，大酒家などを除外した8336名を対象とする。

<方法>NAFLDの診断・評価は，スクリーニングとして広く用いられる，BMI・中性脂肪などからなるFatty liver index (FLI) を用い，FLI高値群 (≥ 60) をNAFLD群と定義する。食習慣情報の収集は43品目を対象とした自己記入式質問票を用いる。また，食多様性指標として，諸外国や本邦で用いられる食品多様性スコア：DVSやFDSK-11を用いる。また，諸外国でNAFLDを含む疾患の発症との関連が示唆される地中海食スコア (MDS) も調査し，食習慣の異なる本邦でも適応可能か調査する。

<解析>はじめに横断データを用い，NAFLDの有病と食品多様性スコアとの関連を単変量解析で確認する。また，年齢/性別/併存症/社会的背景などの因子で補正した多変量ロジスティック回帰分析を行い，食品多様性スコアが独立してNAFLDの有病に関連するかを調査する。また，本コホートは縦断で対象情報を追跡予定であり，NAFLDの発症に対する多様性スコアの寄与を解析予定である。

<倫理面>本コホート研究は，京都大学大学院倫理委員会ならびに長浜市営審査委員会の承認を得ており，また，研究対象者の同意も得ている。ヘルシンキ宣言に準拠して課題を遂行する。

I 緒言

非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD : nonalcoholic fatty liver disease) は，明らかな飲酒歴がないにも関わらず，アルコール性肝疾患と病態生理学的に一致した肝障害を引き起こす疾患の総称である。NAFLDの有病率は世界中で最大24%にも及び，これは世界的な健康問題として認識されている¹⁾。また，NAFLDの進行に伴い生じる，非アルコール性脂肪肝炎 (NASH : nonalcoholic steatohepatitis) は，肝臓癌の原因として急速に増加していることが報告され，NAFLD患者は肝臓関連の罹病率と死亡率が高く，また，糖尿病・高血圧症などの代謝関連合併症を合併することが知られている²⁾。そのため，NAFLDの発症予防の施策の構築は喫緊の課題となっている。

現時点で，肥満と過剰なカロリー摂取が，NAFLDの重要なリスク要因として認識されている。実際，減量治療がNAFLDの治療に有効であることが複数の研究で明らかとなっている³⁻⁴⁾。例えば，食事と運動による5%の体重減少によりQOLの改善が得られ，また，7%以上の体重減少によって肝臓の組織学的所見の改善が得られたとの報告もある⁵⁾。体重減少を達成するための介入手法として，カロリー制限が頻用されるが，長期的なカロリー制限は忍容性が低く，持続が困難であることが指摘され，新たな持続可能な手法の確立が必要と考えられている。

近年、食事療法の分野において、食事の多様性や食事の質に着目した研究が増えている。具体的には、食事の多様性が増加することで、カロリー摂取量に関係なく、心血管疾患や老年症候群（フレイル）などの様々な疾患の発症率が低下し、また、死亡率が減少することが報告されている⁶⁻⁸⁾。しかし、食事療法が主たる治療であるNAFLDにおいて、食事の多様性に関する知見が乏しいのが現状である。そこで今回、日本の地域住民コホートをを用いて、食事多様性スコアとNAFLDの関連を調査した。また、食事の質の指標として欧米諸国で頻用され、また、欧米を中心にNAFLDの食事療法として有効とされている地中海食について⁹⁻¹⁰⁾、日本人で外挿可能かを検証するため地中海食スコアとNAFLDとの関連を合わせて調査した。

II 研究方法

1. 対象者

2012年から2016年にかけて、京都大学大学院医学研究科と滋賀県長浜市が共同で行っている地域住民コホート：ながはま0次予防コホートから参加者を対象とした。同コホートは、日本の中央部に位置する滋賀県長浜市の30歳から74歳の地域住民が対象で、ベースライン調査では、既往歴、使用薬剤、家族歴、喫煙、アルコール消費を含む食習慣などの情報を自己記入式質問票を用いて収集している。計9849人の参加者の内、アルコール摂取量（男性 $\geq 30\text{g}/\text{日}$ 、女性 $\geq 20\text{g}/\text{日}$ ）の多い1727人、肝炎/肝硬変を持つ237人の患者、脂肪肝指数（FLI）のデータ欠落により4人の患者をそれぞれ除外した（Figure 1）。

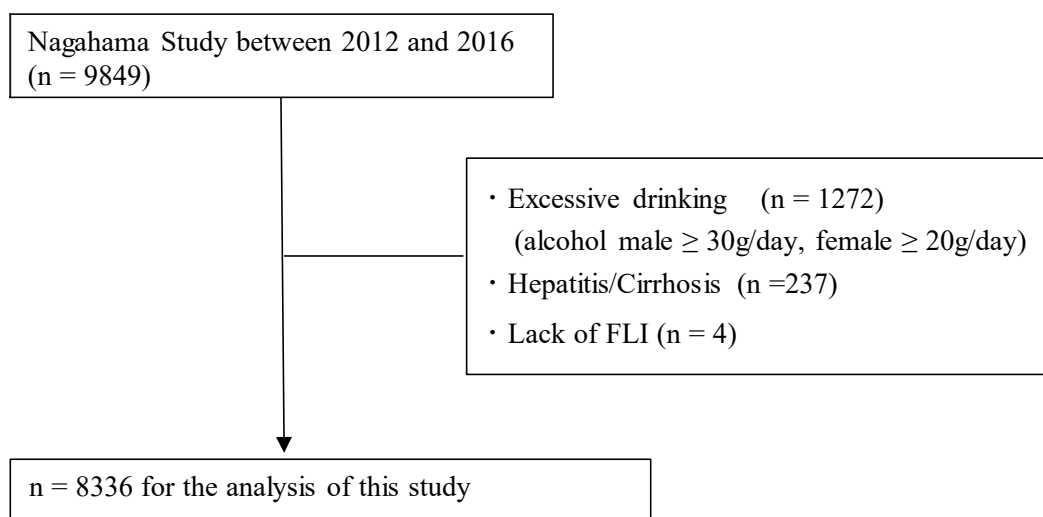


Figure 1. Flow diagram of study population

2. 各指数の評価方法

1) 脂肪肝指数 (FLI: Fatty liver index)

FLIは、中性脂肪、BMI (Body mass index)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (γ -GTP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、および腹囲を使用して計算されるNAFLDのスクリーニング指数である。以前の報告に従い、本研究では、FLIが60以上をNAFLD群に、FLIが60未満を非NAFLD群に分類し、以後の解析に用いた¹¹⁾。

2) 食習慣と多様性の評価

参加者の食習慣と多様性の評価には、自己記入式の食品摂取頻度調査票を用いて収集した、アルコールを含む48種類の異なる食品および飲料の食事摂取の頻度を使用した。主食の摂取頻度には6段階(ほとんど摂取しない、月に1-3回、週に1-2回、週に3-4回、週に5-6回、毎日)、他の食品には8段階(ほとんど摂取しない、月に1-3回、週に1-2回、週に3-4回、週に5-6回、1日1回、1日2回、1日3回以上)、アルコールには9段階(摂取しない、週に1回未満、週に1回程度、週に2回程度、週に3回程度、週に4回程度、週に5回程度、週に6回程度、毎日)の摂取頻度を収集した。

食事の多様性は、10食品群で構成される食事の多様性スコア (DVS: Diet variety score) を使用して評価した。DVSは、以下の食品(肉、海産物、卵、大豆製品、牛乳、緑黄色野菜、海藻、果物、芋、油)の合計スコアで、各項目の毎日の摂取ありを1点、なしを0点とする¹²⁾。感度解析の観点から、その他の食事多様性スコア:FDSK-11 (11-item Food Diversity Score Kyoto) も収集し解析をした。同スコアは11種類の食品(穀物、芋、野菜、乳製品、肉、海産物、卵、豆、海藻、果物、ナッツ)の合計スコアで、各食品群の週に1回以上摂取することを1点と定義した¹³⁾。上記の食事多様性スコアに加え、欧米を中心に食事の質を評価する際に頻用され、またNAFLDの食事療法としてそのスコアの向上が有用な可能性が示唆される、地中海スコア (MDS: Mediterranean diet score) も収集した¹⁴⁾。MDSは、9種類の食品の摂取頻度を8段階で評価し中央値を算出した上で、中央値以上の野菜、果物、ナッツ、穀物、豆類、魚には1点を、中央値以下の乳製品、赤身肉/家禽、飽和脂肪酸には1点を割り当て、合計スコアを計算した。

3) 倫理

研究手順は、京都大学大学院医学研究科および医学部倫理委員会、長浜研究倫理審査委員会、長浜市個人情報保護審査委員会によって承認されました。参加者から書面による同意を取得している。

4) 統計解析

連続変数は平均±標準偏差 (SD), もしくは中央値と四分位範囲 (IQR) で表し, カテゴリ変数は N (%) で表記した。FLIが60以上の参加者と60未満の参加者の特性を比較するために, 連続変数には2標本 t 検定を実施した。

食事の多様性とNAFLDの関連を比較するに, まずDVS, FDSK-11, またはMDSを目的変数としたロジスティック分析を行った。このロジスティック分析では, 性別, 年齢, 世帯収入, 運動習慣, アルコール摂取, 教育年数, 現在の喫煙習慣, 併存症 (2型糖尿病, 高血圧, 脂質異常症) の変数で調整を行った。各食品の摂取頻度とFLIとの関係をさらに検討するために, 上記の調整因子を使用して多変量調整オッズ比を算出した。統計解析はJMP 17.0.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) およびpython 3.10.3を使用して実施した。

Ⅲ 研究結果

参加者の特性

ベースラインの人口統計と特性はTable 1 に記載した。解析対象は計8,336人, 平均年齢は57.9歳 (±12.4) で, 男性は28%, 平均BMIは22.2kg/m² (±3.3) であった。これらの参加者のうち, 94.3% (7,864人) が非NAFLD群 (FLI < 60) に分類され, 6% (472人) がNAFLD群 (FLI ≥ 60) に分類された。各群の背景因子の違いとして, NAFLD群ではBMI, 腹囲, アルコール摂取, 現在の喫煙, 併存疾患率, トリグリセリドレベル, およびγ-GTPレベルが高く, 運動習慣の頻度が低い, という違いを認めた。さらに, 食事の多様性スコア (DVS, FDSK-11, MDS) は非NAFLD群に比べてNAFLD群で低値であった。

食事の多様性スコアの増加は脂肪肝指数の減少と有意に関連する

食事の多様性スコアとFLIの独立した関係を明らかにするために, ロジスティック回帰分析を使用した (Table 2)。未調整モデルに加え, model 1では, 性別, 年齢, 年間世帯収入, 運動習慣, アルコール摂取, 教育年数, 喫煙習慣の変数で調整し, model 2では, モデル1の変数に加え併存疾患を変数として追加し解析を行った。未調整モデルでは, すべての食事の多様性スコアの上昇が低FLIと関連を示し, (DVS: OR 0.85, P < 0.0001; FDSK-11: OR 0.82, P < 0.0001; MDS: OR 0.89, P < 0.001) model 1でも同様の結果が再現された (DVS: OR 0.91, P = 0.0013; FDSK-11: OR 0.91, P = 0.0004; MDS: OR 0.94, P = 0.0444)。しかし, より多因子で補正したmodel 2では, DVS (OR 0.92, P = 0.0063) とFDSK-11 (OR 0.91, P = 0.0004) が低FLIと関連を示したが, MDSとは有意な関連を認めなかった。FDSの標準偏差が1増加すると, FLIはDVSで0.08 (95% CI: -0.13から-0.02; P = 0.0063), FDSK-11で0.09 (95% CI: -0.14から-0.04; P = 0.0004) 減少する傾向が見られた。

Table 1. Baseline demographics and characteristics (n = 8336)

	Total	FLI < 60	FLI ≥ 60	P value
	8336	7864 (94.3%)	472 (5.7%)	
Age, year	57.9 ± 12.4	57.9 ± 12.4	57.0 ± 11.9	0.0799
Male sex, n (%)	2035 (27.7)	2038 (25.9)	267 (56.6)	<0.0001
Height, cm	159.5 ± 8.4	159.2 ± 8.2	163.6 ± 10.3	<0.0001
Body weight, kg	56.7 ± 11.0	55.4 ± 9.5	77.7 ± 12.7	<0.0001
Body mass index, kg/m ²	22.2 ± 3.3	21.8 ± 2.8	29.0 ± 3.7	<0.0001
Waist circumference, cm	81.6 ± 9.5	80.6 ± 8.6	99.0 ± 8.2	<0.0001
Alcohol consumption, g/day	3.6 ± 6.4	3.4 ± 6.2	6.3 ± 8.6	<0.0001
Education level, year	12.6 ± 2.3	12.6 ± 2.3	12.6 ± 2.5	0.6606
Exercise habits (+), n (%)	2502 (30.0)	2401 (30.5)	101 (21.4)	<0.0001
Current smoker, n (%)	738 (8.9)	646 (8.2)	92 (19.5)	<0.0001
Household income **				
Low, n (%)	4150 (49.8)	3923 (49.9)	227 (48.2)	
Middle, n (%)	3064 (36.8)	2883 (36.6)	181 (38.4)	
High, n (%)	1121 (13.4)	1058 (13.5)	63 (13.4)	
Comorbidities				
Type 2 Diabetes (+), n (%)	551 (6.6)	495 (6.3)	56 (11.9)	<0.0001
Hypertension (+), n (%)	2181 (26.1)	1972 (25.1)	209 (44.3)	<0.0001
Hyperlipidemia (+), n (%)	1918 (23.0)	1756 (22.3)	162 (34.3)	<0.0001
Food diversity score				
DVS, point, median(IQR)	2 (1 - 4)	2 (1 - 4)	2 (1 - 3)	
FDSK-11, point, median(IQR)	9 (8 - 10)	9 (8 - 10)	8 (7 - 9)	
MDS, point, median (IQR)	5 (3 - 6)	5 (3 - 6)	4 (3 - 5)	
Laboratory data				
Triglycerides, mg/dL	91.2 ± 57.2	85.6 ± 43.3	185.3 ± 130.8	<0.0001
γ-GTP IU/l	26.2 ± 27.7	23.6 ± 19.9	70.1 ± 70.4	<0.0001

Table 2. Logistic analysis for high fatty liver index regarding the dietary scores (all, n = 8336)

Dietary scores	DVS		FDSK-11		MDS	
	Odds ratio (95% CI)	P value	Odds ratio (95% CI)	P value	Odds ratio (95% CI)	P value
Crude model	0.85 (0.80 - 0.89)	<0.0001	0.82 (0.78 - 0.86)	<0.0001	0.89 (0.84 - 0.94)	<0.0001
Model 1	0.91 (0.86 - 0.96)	0.0013	0.91 (0.86 - 0.96)	0.0003	0.94 (0.88 - 1.00)	0.0444
Model 2	0.92 (0.87 - 0.98)	0.0063	0.91 (0.86 - 0.96)	0.0004	0.95 (0.89 - 1.01)	0.0733

野菜、豆類、果物、牛乳の摂取頻度の増加は低FLIと有意に関連する

FLIの減少に寄与する食品群を探るために、DVSとFDSK-11を含む各食品群の摂取頻度とFLIについてロジスティック回帰分析を使用した。モデルは、前述のmodel 2と同様に、性別、年齢、年間世帯収入、運動習慣、アルコール摂取、教育年数、喫煙習慣、併存疾患で調整した。その結果、野菜（P傾向 = 0.0037）、豆類（P傾向 = 0.0025）、果物（P傾向 = 0.0081）、牛乳（P傾向 = 0.016）の摂取頻度の増加が低FLIと有意に関連していることが示された（Figure 2）。一方で、海産物、肉、卵、脂肪および油、芋類はFLIの減少と有意な関連を認めなかった（Figure 3）。

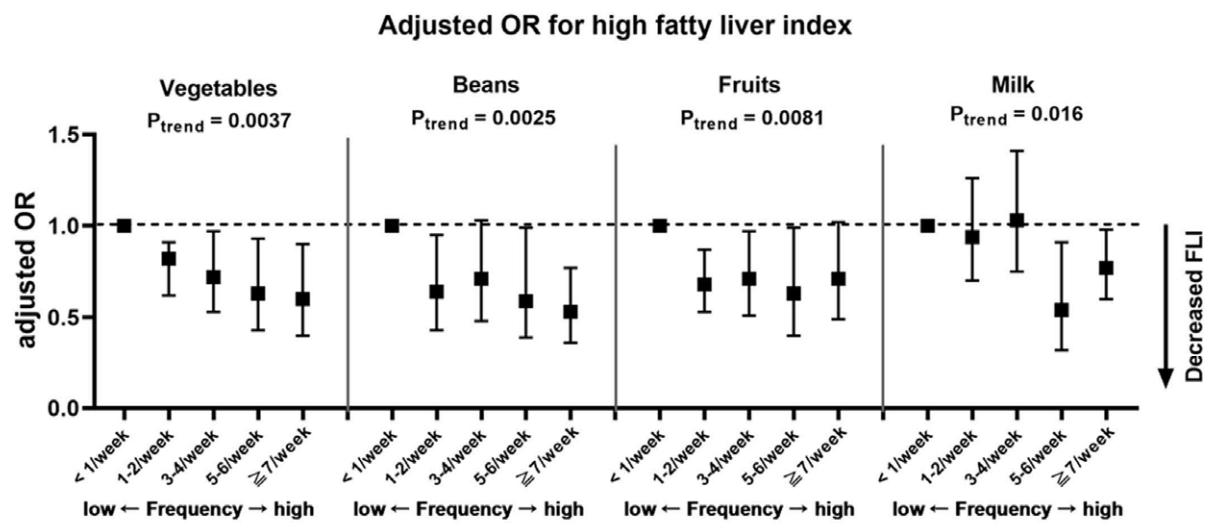


Figure 2. Multivariable-adjusted odds ratio for high fatty liver index regarding components of food variety

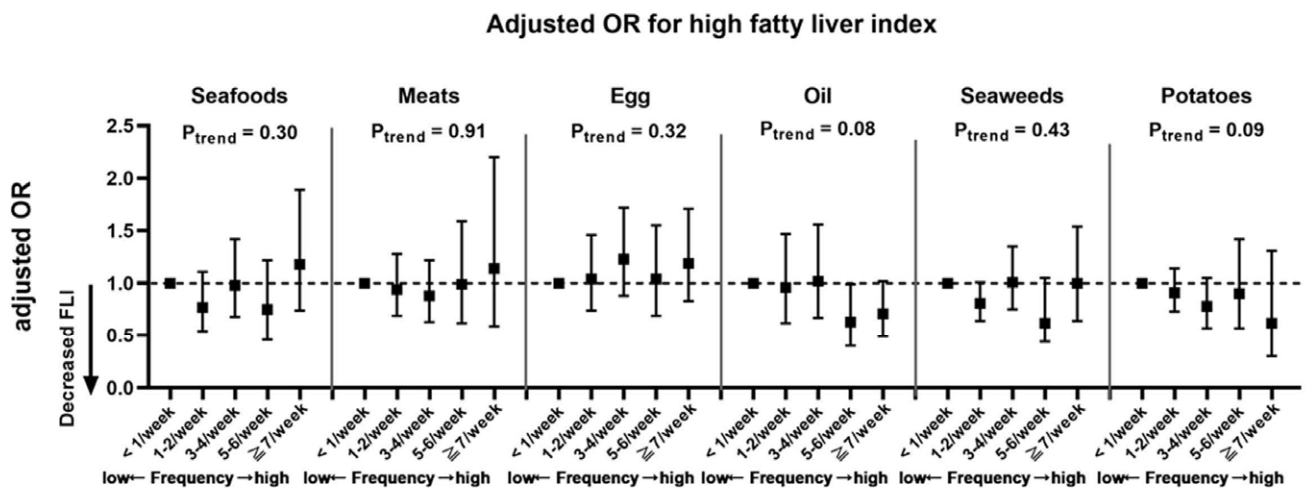


Figure 3. Multivariable-adjusted odds ratio for high fatty liver index regarding components of food variety (non-significant food groups)

IV 考 察

本研究は、食事の多様性・質と NAFLD の関係を、食事の多様性スコアと地中海スコアを同時に使用して評価した初めての研究である。大規模な日本人を対象とした研究で、DVS および FDSK-11 の増加は、種々の因子で補正後も独立して低 FLI と関連していることを明らかにした。この結果は、高い食事多様性スコアが NAFLD のリスクと逆相関しているというアジア人の小規模研究と一致している¹⁵⁾。一方、本研究では、種々の因子で調整された多変量ロジスティック回帰分析では、MDS は NAFLD と関連を認めなかった。MDS は、様々な慢性疾患と関連していることが明らかとなっており¹⁴⁾、主に欧米諸国で頻用される。しかし、欧米と日本の食習慣の違いにより、MDS を用いたエビデンスを日本人に外挿することが妥当かについては議論があり、実際、一部の疾患・症候において、欧米人と異なり日本人では MDS が発症リスクの改善と関連しないとの報告がある¹⁶⁾。本研究の結果は、欧米諸国では NAFLD と関連すると報告されている地中海食スコアが日本人においては関連がなく、食事の多様性スコアが日本人において NAFLD に関連する食事として有用であることを示唆している。

本研究では、野菜、豆類、果物、牛乳の摂取頻度の上昇が FLI の低下と有意に関連していた。195 개국および地域における代謝および食事リスク要因と NAFLD 肝死亡率との関連を調査した研究では、低野菜、豆類、および牛乳の摂取が食事リスクとして挙げられ、低牛乳摂取が NAFLD 肝死亡率と有意に関連していることが示されており、本研究と一致している。また、野菜摂取と NAFLD の関連に関する研究では、アジア地域において野菜摂取が NAFLD と逆相関が報告され、その機序として、カロテノイドや α -トコフェロールなどの抗酸化物質の存在、脂質過酸化の抑制、硝酸塩による AMP キナーゼシグナルの活性化による NOX 由来の酸化ストレスを減少などが想定されている。果物については、相反する報告が散見され、一部の報告では、果糖を豊富に含む食品や果物の摂取が NAFLD の発症と正の相関があることが示され、他の報告では、本研究と同様に FLI と果糖摂取が逆相関していることが示されている。果物の高摂取は NAFLD のコントロールを悪化させる一方で、果物のポリフェノールは NF κ B 活性の抑制を含む炎症の減少により肝線維化を減少させ、NAFLD を改善するのに効果的である可能性が示唆されている。豆類や乳製品の摂取についても NAFLD に対して有益な結果を示していることが報告されている。以上のように多様性スコアの内、野菜、豆類、果物、牛乳の摂取が重要な構成要素であり、多様性スコアの増加を行う際は、上記の摂取頻度を増加させていくことが重要と考えられる。

本研究の強みは、大規模なコホート研究で複数の食事評価スコアを使用して FLI と食事多様性スコアを評価したことである。地中海スコア、健康的食事指数、食事多様性スコアなど、食事の質の指標はさまざまである。この研究では、2 つの FDS と MDS を使用して評価し、FDS が NAFLD の FLI と関連し、強固な関係を示した。この研究の結果は、食事の多様性を増やすことが NAFLD に対する食事治療として有用である可能性を示唆している。

本研究には以下に示すいくつかの limitation がある。第一に、この研究ではエネルギー補正なしに食事多様性スコアを使用した点である。多様性はエネルギー摂取量の増加と関連しているが、食事の多様性がエネルギー摂取に関係なくさまざまな疾患の発症率の低下や死亡率の減少と関連していることも報

告されているため、今回はエネルギー補正なしで各指数を使用した。第二に、この研究ではNAFLDをFLIのみで評価し、腹部エコー検査は使用していない。FLIは生化学的検査項目を使用して非侵襲的に評価でき、NAFLDの診断に有用であると報告されているが、今後は、詳細で信頼性の高いNAFLDの評価のために腹部エコー評価と組み合わせる必要がある。最後に、本研究は横断研究であり、その性質上、FLIと食事の多様性の因果関係については言及できない。今後の研究で、介入研究を含めた検証を行う必要がある。

V 結 語

本研究で、欧米諸国で関連が示唆される地中海食スコアではなく、食事の多様性スコアが増加することがNAFLDの有病率の低下と有意に関連することが示された。また、食物ごとのサブ解析の結果からでは、野菜、豆類、果物、および牛乳の摂取量が増加することがNAFLDの有病率の低下と関連することが示された。NAFLDの食事療法の施策として、今後、食事の多様性の増加を促すことが有用である可能性を示唆された。

【参考文献】

- 1) Wong VW, Ekstedt M, Wong GL, Hagström H. Changing epidemiology, global trends and implications for outcomes of NAFLD. *J Hepatol.* 2023; 79(3): 842–852.
- 2) Thomas JA, Kendall BJ, El-Serag HB, Thrift AP, Macdonald GA. Hepatocellular and extrahepatic cancer risk in people with non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2024; 9(2): 159–169.
- 3) Musso G, Cassader M, Rosina F, et al. Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Diabetologia* 2012; 55: 885–904.
- 4) Tapper EB, Lai M. Weight loss results in significant improvements in quality of life for patients with nonalcoholic fatty liver disease: A prospective cohort study. *Hepatology* 2016; 63: 1184–1189.
- 5) Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, et al. Weight loss through lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2015; 149: 367–378.
- 6) Kant AK, Schatzkin A, Harris TB, Ziegler RG, Block G. Dietary diversity and subsequent mortality in the First National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Am J Clin Nutr.* 1993; 57(3): 434–440.
- 7) Kaluza J, Håkansson N, Brzozowska A, Wolk A. Diet quality and mortality: a population-based prospective study of men. *Eur J Clin Nutr.* 2009; 63(4): 451–457.
- 8) Bernstein MA, Tucker KL, Ryan ND, et al. Higher dietary variety is associated with better nutritional status in frail elderly people. *J Am Diet Assoc.* 2002; 102(8): 1096–1104.
- 9) Haigh L, Kirk C, El Gendy K, et al. The effectiveness and acceptability of Mediterranean diet and calorie restriction in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): A systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr* 2022; 41: 1913–1931.
- 10) Hassani Zadeh S, Mansoori A, Hosseinzadeh M. Relationship between dietary patterns and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2021; 36: 1470–1478.
- 11) Murayama K, Okada M, Tanaka K, et al. Prediction of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Using Noninvasive and Non-Imaging Procedures in Japanese Health Checkup Examinees. *Diagnostics (Basel).* 2021; 11(1): 132.
- 12) Yokoyama Y, Nishi M, Murayama H, et al. Association of Dietary Variety with Body Composition and Physical Function in Community-dwelling Elderly Japanese. *J Nutr Health Aging.* 2016; 20(7): 691–696.
- 13) Kimura Y, Wada T, Ishine M, et al. Food diversity is closely associated with activities of daily living, depression, and quality of life in community-dwelling elderly people. *J Am Geriatr Soc.* 2009; 57(5): 922–924.

- 14) Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med.* 2003; 348(26): 2599–2608.
- 15) Jahromi MK, Daftari G, Tehrani AN, et al. The association of the healthy food diversity index with the risk of non-alcoholic fatty liver disease among the adult population. *Clin Nutr ESPEN.* 2024; 59: 404–411.
- 16) Shimizu A, Okada K, Tomata Y, Uno C, Kawase F, Momosaki R. Association of Japanese and Mediterranean Dietary Patterns with Muscle Weakness in Japanese Community-Dwelling Middle-Aged and Older Adults: Post Hoc Cross-Sectional Analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2022; 19(19): 12636.