

# 腎機能障害による血漿アルブミンの還元化率の低下とその機序—保存期腎不全例と維持血液透析例の比較

鈴木祥史\*<sup>1</sup> 青木優子 松山幸枝\*<sup>3</sup> 長谷川 弘\*<sup>2</sup>  
篠原佳彦 橋本隆男 恵良聖一\*<sup>3</sup> 副島昭典\*<sup>1</sup>

Clinical evaluation of serum albumin reductivity in patients with renal dysfunction : a comparison between conservative renal failure patients and hemodialysis patients

Yoshifumi SUZUKI\*<sup>1</sup>, Yuko AOKI, Yukie MATSUYAMA\*<sup>3</sup>, Hiroshi HASEGAWA\*<sup>2</sup>,  
Yoshihiko SHINOHARA, Takao HASHIMOTO, Seiichi ERA\*<sup>3</sup>, and Akinori SOEJIMA\*<sup>1</sup>

\*<sup>1</sup>Faculty of Health Sciences, Kyorin University, \*<sup>2</sup>Department of Pathophysiology, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, Tokyo, \*<sup>3</sup>Department of Physiology and Biophysics, Gifu University Graduate School of Medicine, Gifu, Japan

## 要 旨

腎機能の低下に伴って観察される血漿アルブミン分子の還元化率の変化と含硫アミノ酸の代謝異常との関係について検討した。透析導入前の保存期腎不全患者 37 例と維持血液透析中の患者 13 例を検討の対象とした。血漿アルブミンの分画測定には HPLC 法, また血漿のシステイン, ホモシステイン濃度は GC/MS (gas chromatography/mass spectrometry) 法により測定した。保存期腎不全例では糸球体濾過量 (GFR) の低下に伴って血漿アルブミンの還元化率は有意に減少した。健常者を対象とした検討の結果では血漿アルブミンの還元化率は加齢とともに減少することがすでに知られている。しかし, 維持透析例では年齢との相関性が失われ, 透析後には一過性に血漿アルブミンの還元化率は上昇した。一方, 保存期腎不全例では血漿中のシステイン, ホモシステイン濃度は腎機能の低下とともに著明に上昇し, GFR との間には負の相関が認められた。維持透析例では透析後に遊離型システイン, 遊離型ホモシステイン濃度はいずれも著明に減少した。血漿アルブミンの還元化率と血中システイン濃度との間には有意の負の相関が認められた。

今回の検討の結果から, アルブミンは血漿の酸化/還元緩衝作用に重要な役割を果たすこと, また腎機能の低下で観察された血漿アルブミンの酸化/還元状態の変化には血漿中の含硫アミノ酸, 特にシステイン濃度の異常が関与している可能性が示唆された。

We examined the relationship between change in the redox state of the plasma albumin molecule and the metabolic disorder of sulfur amino acid observed being accompanied by reduction of renal function. Thirty-seven cases of pre-dialysis renal failure with conservative treatment and thirteen cases of chronic hemodialysis were selected as the subjects of this examination. The fraction of plasma albumin and the concentration of plasma cysteine and homocysteine were respectively measured by the HPLC and GC/MS (gas chromatography/mass spectrometry) methods.

In the case of pre-dialysis renal failure with conservative treatment, the reduction rate of plasma albumin significantly decreased in correspondence with reduction of the glomerular filtration rate (GFR). It is well known that the reduction rate of plasma albumin also decreases with the aging process. However, in regard to chronic hemodialysis, a correlation with aging was not found, where the transient reduction rate of plasma albu-

min increased after the hemodialysis session. However, in correspondence with the decrease in renal function, the concentration of plasma cysteine and homocysteine increased. This shows that there was a negative correlation with GFR in cases of pre-dialysis renal failure with conservative treatment. In cases of chronic hemodialysis, the concentration of free cysteine and free homocysteine rapidly decreased after a hemodialysis session. Therefore, a negative correlation was recognized between the reduction rate of plasma albumin and the concentration of plasma cysteine and homocysteine.

The result of this examination shows the following mechanisms : plasma albumin plays an important role in the reaction of oxidation/reduction in blood plasma, and sulfur amino acid in blood plasma, especially the abnormality of cysteine concentration, plays an important role in changing the redox state of the blood plasma observed in the decrease in renal function.

Jpn J Nephrol 2008 ; 50 : 513-520.

**Key words** : human mercaptalbumin, human nonmercaptalbumin, serum albumin reduction, cysteine, homocysteine, chronic kidney disease

## 緒言

維持透析患者にみられる長期合併症の多くは、年齢に対する老化の程度が健常人よりも過度に進行した病態像と捉える見方もある。統計調査の結果では、透析患者の死亡原因の主なものは心不全、感染症、脳血管障害、悪性腫瘍、心筋梗塞などとなっており、死亡総数のほぼ40%が虚血性心疾患や脳血管障害などの動脈硬化性臓器障害を原因としている<sup>1)</sup>。動脈硬化の進行には酸化的ストレスが密接に関与しており、腎不全患者では健常人よりも脂質の過酸化物質が増加していることなどが知られている<sup>2)</sup>。しかし、その機序の詳細は明らかではない。

アルブミンには分子内のcys-34のSH基(-SH)がフリーの還元型アルブミン(human mercaptalbumin : HMA)とSH基にシステインあるいはグルタチオン(glutathione : GSH)が結合した酸化型アルブミン(human nonmercaptalbumin : HNA)がある<sup>3)</sup>。両者の反応は可逆的で、メルカプトノンメルカプト変換と呼ばれている。HNAの酸化がさらに進むとスルフィン酸(Cys-SO<sub>2</sub>H)、スルホン酸(Cys-SO<sub>3</sub>H)となり、この反応は非可逆的で元のチオール基へ戻ることはない。

今回われわれは、慢性腎不全患者で酸化的ストレスが増大する機序を明らかにする目的で、保存期腎不全例と維持透析例を対象に、血漿アルブミンの酸化/還元比(redox ratio)と血漿システイン、ホモシステイン濃度との関連を検討した。

## 対象と方法

外来で経過を観察中の原発性糸球体腎炎、慢性腎不全例と安定期にある維持血液透析例を検討の対象とした。いず

れの対象についても糖尿病などによる二次性糸球体腎炎例は除外した。保存期腎不全例は男性21例、女性16例、年齢は60.7±16.7歳(平均値±標準偏差)である。保存期腎不全例の腎機能(MDRD簡易式による糸球体濾過量 ; GFRに日本人係数0.881を乗じた値)は53.5±24.9(mL/min/1.73 m<sup>2</sup> : eGFR)である。また、維持血液透析例は男性8例、女性5例、年齢は58.2±15.4歳である。保存期腎不全例と維持血液透析例との群間における性別に対するχ<sup>2</sup>検定、年齢分布に対するt検定の結果、両群の間に統計学的な有意差はなかった。維持血液透析例はいずれも透析導入後6か月以上を経過した安定期の透析患者で、3~5時間の透析を週3回行っている。透析液は重曹透析液(キングリー® AF-2号 : 扶桑薬品株)、ダイアライザは polysulfone 膜または polymethylmethacrylate 膜を使用した。

保存期腎不全例は外来受診時に一般検査を行ったときの残血漿を測定に用いた。維持血液透析例では定期検査で透析前と透析終了時に血液回路から採取した血液の残血漿を試料とした。いずれの群も採取した血液は直ちに4°C、4,000 Gで15分間遠心して血漿を分離し、測定に供するまで-80°Cで凍結保存した。研究に先立って学内の倫理委員会での承認を得、各対象患者に対して個別にインフォームド・コンセントを行った。採取した試料は連結不可能匿名化してプライバシーの保護に留意した。血漿アルブミンの分画測定には高速液体クロマトグラフィ(HPLC)を用いた<sup>4)</sup>。分析カラムはShodex-Asahipak ES-502N 7Cを使用した。HNAはHNA-1とHNA-1より微量で酸化数の多いHNA-2から成る。HPLC分画ではHMA, HNA-1, HNA-2の順でピークが得られる。血漿アルブミンの還元率、酸化率は以下の算出式による。

$$\text{HMA}\% = \text{HMA} / (\text{HMA} + \text{HNA}) \times 100$$

$$\text{HNA}\% = \text{HNA} / (\text{HMA} + \text{HNA}) \times 100$$

ただし  $HNA = (HNA-1) + (HNA-2)$

血漿中のシステインとホモシステイン濃度の測定は既報の GC/MS (Shimadzu GC-MS QP2010) 法を用いた<sup>5)</sup>。内部標準物質には DL-[2,2',3,3,3',3'-<sup>2</sup>H<sub>6</sub>]システインおよび DL-[3,3,3',3',4,4,4',4'-<sup>2</sup>H<sub>8</sub>]ホモシステインを用いた<sup>5)</sup>。血漿試料を GC/MS にかける前の除蛋白処理, また還元処理をする手順によって蛋白結合型, 遊離型および両者を合わせた総システイン, 総ホモシステイン濃度をそれぞれ測定した<sup>5)</sup>。また, 一般生化学検査測定項目として血清クレアチニン (Cr), 血漿アルブミンを測定した。

測定結果の統計解析には *t* 検定を使用し, 危険率 (*p* 値) 0.05 未満を有意とした。

## 結 果

### 1. 保存期腎不全例

検討対象の HPLC による血漿アルブミンの分画測定の結果は HMA% が  $65.5 \pm 7.7$  (平均値  $\pm$  標準偏差), HNA-1% が  $32.4 \pm 7.1$ , HNA-2% が  $2.1 \pm 0.8$  であった。Fig. 1 には腎機能に対する血漿アルブミン分画の HMA%, HNA-1%, HNA-2% との各相関図を示した。eGFR と HMA% の間には  $r=0.59$  と強い正の相関が認められた。一方, eGFR と HNA-1% との間には  $r=-0.58$ , HNA-2% との間には  $r=-0.55$  と強い負の相関が認められた。これらの結果から, 保存期腎不全例では eGFR の低下とともに血漿アルブミンの還元化率が減少していることが明らかであった。また図示してはいないが, 年齢に対しても HMA% とは  $r=-0.71$ , HNA-1% とは  $r=0.69$ , HNA-2% とは  $r=0.76$  と各々で強い相関が認められ, 保存期腎不全例でも加齢とともに血漿アルブミンの還元化率が減少することが示された。

Fig. 2 に GC/MS による血漿中のシステイン (cys) とホモシステイン (hcys) 濃度の測定結果を示した。測定値は蛋白結合型 (protein bound; b-cys, b-hcys), 蛋白非結合の遊離型 (free; f-cys, f-hcys), および蛋白結合型と遊離型を合わせた総濃度 (total; t-cys, t-hcys) で示した。血中システイン, ホモシステインとも多くが蛋白結合型であった。

血中システインとホモシステイン濃度に対する eGFR, Cr, 年齢, HMA%, HNA-1%, HNA-2% との間における各相関係数 (*r*) および相関係数の有意性に対する危険率 (*p*) を Table に示した。血中システイン濃度は eGFR および HMA% に対して強い負の相関を示し, 血清 Cr 値と年齢に対しては強い正の相関を示した。また, システイン濃度は HNA-1%, HNA-2% に対していずれも強い正の相関を示

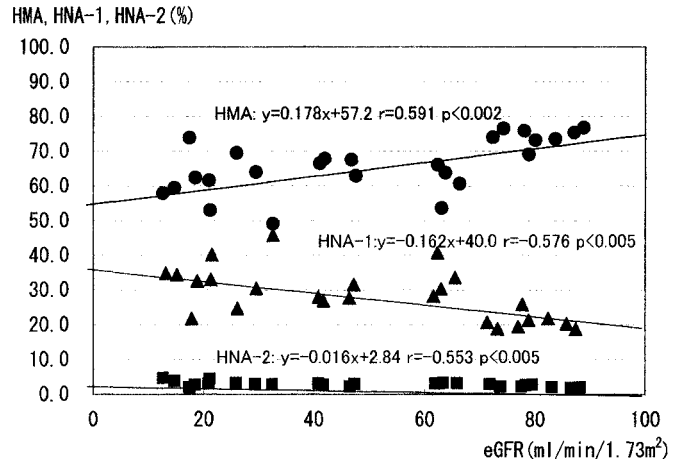


Fig. 1. Correlation between serum albumin fractions (HMA, HNA-1, HNA-2) and eGFR

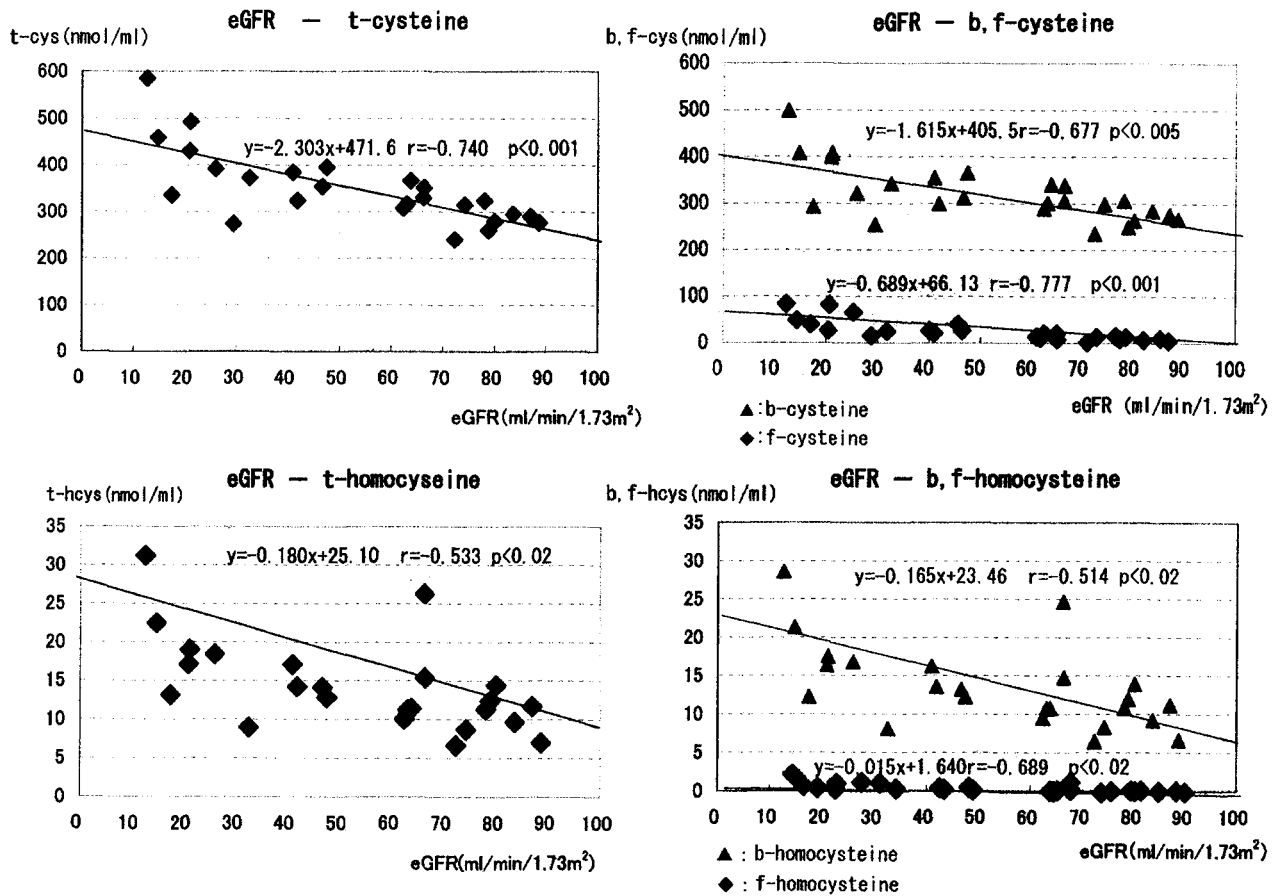
HMA% was correlated with renal function (eGFR), whereas HNA-1 and HNA-2 had significantly negative correlations with eGFR.

した。保存期腎不全例では eGFR の低下に伴って血中のシステイン濃度は著明に上昇した。一方, 血中ホモシステイン濃度の変化も腎機能と年齢に関してはシステインと同様の関係であったが, 血漿アルブミンの酸化/還元比 (HMA%, HNA%) に対する有意な相関は認められなかった。

腎機能 (eGFR) と血漿アルブミンの還元化率および血中システイン濃度の三測定項目間の関係を示す三次元グラフを Fig. 3 下部に, 三次元グラフの各面に対応する相関グラフを上部に示した。三次元グラフでは血漿アルブミンの HMA% を x 軸に, eGFR を y 軸に, また t-cysteine 濃度を z 軸にとった。x-y 面には eGFR と HMA% との相関散布図を, z-y 面には eGFR と t-cysteine 濃度との相関散布図を投影し, x-z 面の各棒グラフの位置により eGFR と t-cysteine 濃度との相関分布を示した。eGFR と血漿アルブミンの還元化率 (HMA%) また血中システイン濃度の三者の間に密接な関連があることが明らかであった。データは示していないが, 同様の検討を還元型アルブミン濃度でも行った。還元型アルブミン濃度は血漿アルブミン濃度と血漿アルブミン還元化率の積値として算出できる。還元型アルブミン濃度を用いた検討の結果でも同様な傾向は認められたが, 統計学的有意差はアルブミン還元化率によるものよりやや低かった。

### 2. 維持血液透析例

維持血液透析例を対象とした血漿アルブミンの分画測定の結果は, 透析前 HMA% が  $59.6 \pm 8.9$ , HNA-1% が  $38.2 \pm$

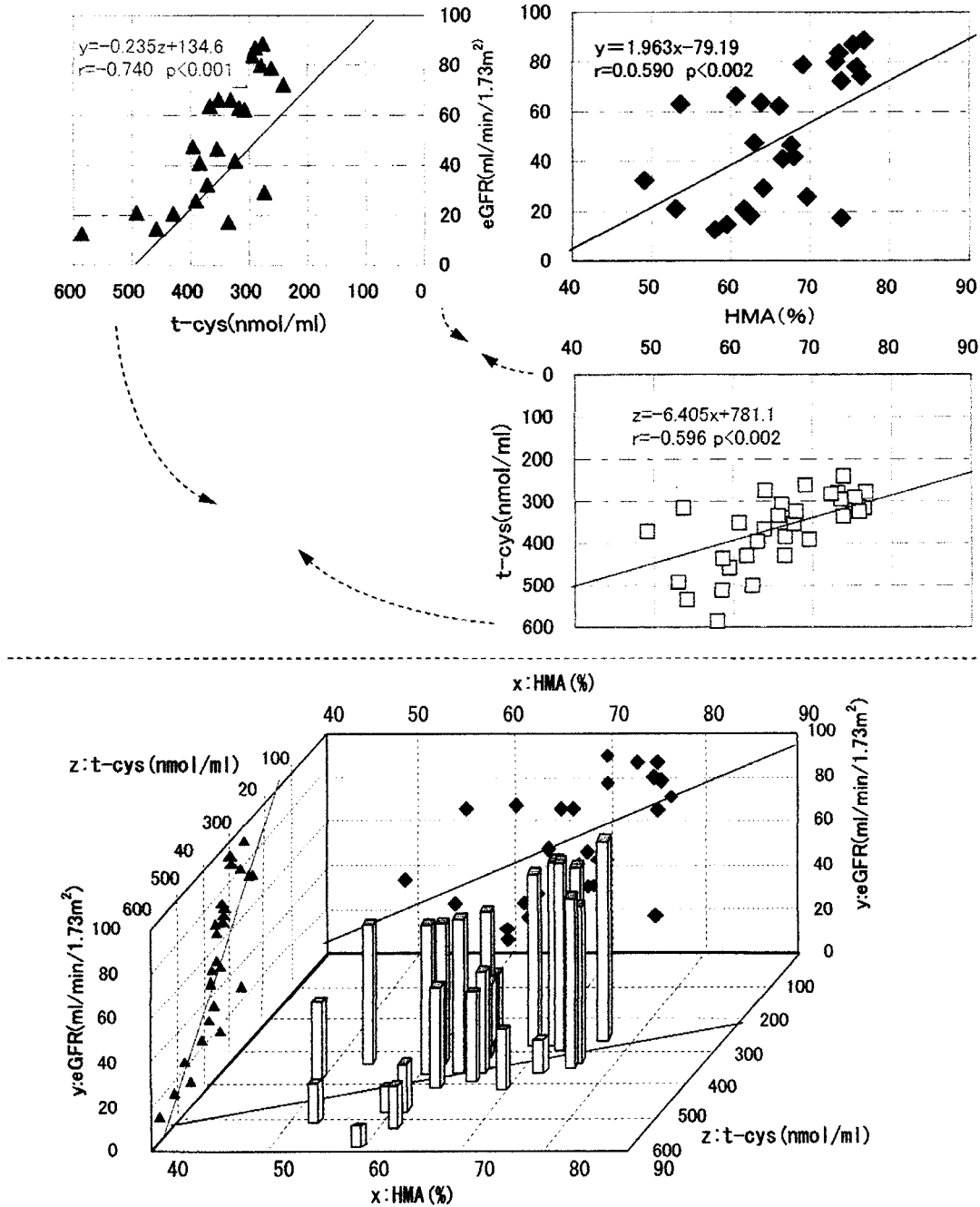


**Fig. 2. Correlation between the concentration of serum sulfur- amino acid (cysteine and homocysteine) fraction and eGFR**  
 b-cys, b-hcys : protein-binding cysteine, protein-binding homocysteine  
 f-cys, f-hcys : protein-nonbinding cysteine, protein-nonbinding homocysteine  
 t-cys, t-hcys : total cystein, total homocysteine (t-cys=b-cys+f-cys, t-hcys=b-hcys+f-hcys)  
 Protein-binding rate of b-cys=b-cys/t-cys=337.2/370.8=90.9 %  
 Protein-binding rate of b-hcys=b-hcys/t-hcys=16.3/17.2=94.8 %

**Table. Comparison of correlative coefficients and p-values between serum cysteine, homocysteine and various markers in 37 patients with CKD**

		cysteine			homocysteine		
		b-cys	f-cys	t-cys	b-hcys	f-hcys	t-hcys
eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	r	-0.677	-0.779	-0.740	-0.514	-0.689	-0.533
	p	p<0.005	p<0.001	p<0.001	p<0.02	p<0.002	p<0.02
Cr(mg/dL)	r	0.575	0.733	0.638	0.539	0.685	0.557
	p	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Age(y)	r	0.718	0.717	0.746	0.446	0.595	0.461
	p	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.01	p<0.001	p<0.005
HMA %	r	-0.677	-0.511	-0.661	-0.256	-0.332	-0.265
	p	p<0.001	p<0.005	p<0.001	n. s.	n. s.	n. s.
HNA-1 %	r	0.651	0.480	0.633	0.242	0.313	0.250
	p	p<0.001	p<0.001	p<0.005	n. s.	n. s.	n. s.
HNA-2 %	r	0.728	0.645	0.736	0.316	0.414	0.326
	p	p<0.001	p<0.001	p<0.001	n. s.	p<0.02	n. s.

Serum cysteine and homocysteine concentrations also had a negative correlation with renal function (eGFR). Serum cysteine concentration had a significant correlation with HNA %.



**Fig. 3. Correlation between the levels of t-cys, HMA % and eGFR recognized in patients with CKD**  
 A three-dimensional graph indicates a close relation between renal function (eGFR), reduction of serum albumin(HMA %) and total-cysteine concentration (t-cys).  
 The x-axis indicates HMA %, the y-axis indicates eGFR and the z-axis indicates t-cys.

8.7, また, HNA-2%が  $2.2 \pm 0.5$  であった。同様に透析後は HMA%  $76.0 \pm 8.4$ , HNA-1%は  $21.7 \pm 8.0$ , HNA-2%は  $2.3 \pm 0.6$  であった<sup>11)</sup>。また, 保存期腎不全例と維持血液透析例の透析施行前後における血漿アルブミンの分画測定の結果を比較したグラフを Fig. 4 に示した。HMA%は透析例透析後>保存期腎不全例>透析例透析前の順に高かった。

一方, HNA-1%は透析例透析前>保存期腎不全例>透析例透析後の順に高かった。HNA-2%は保存期腎不全例と維持血液透析例の透析後で有意差があったものの, 透析前では明らかな差は認められなかった。維持血液透析例のみではなく, 保存期腎不全例でも HMA%は減少していた<sup>11)</sup>。

Fig. 5 に血液透析前後での血中システインとホモシステ

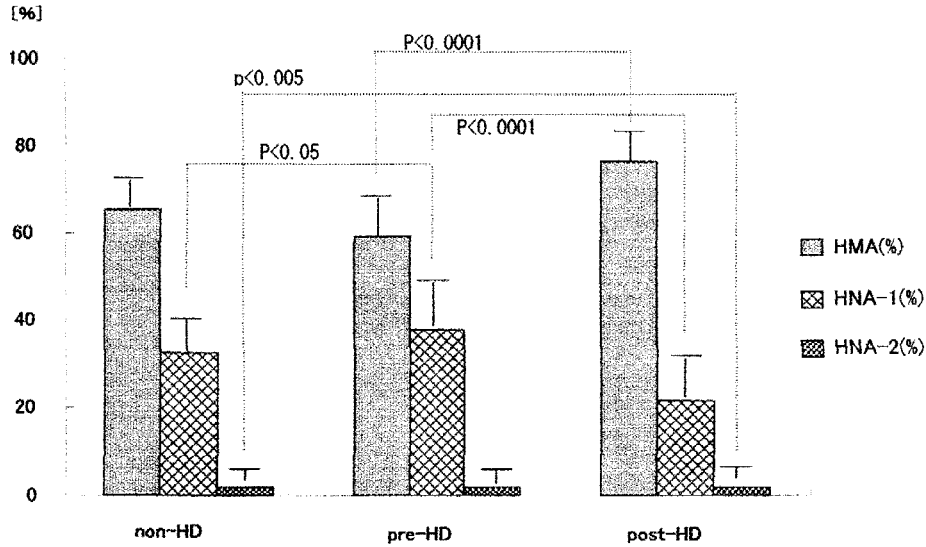


Fig. 4. HPLC fractions of serum albumin (HMA, HNA-1 and HNA-2) in comparison with HD patients and non-HD patients

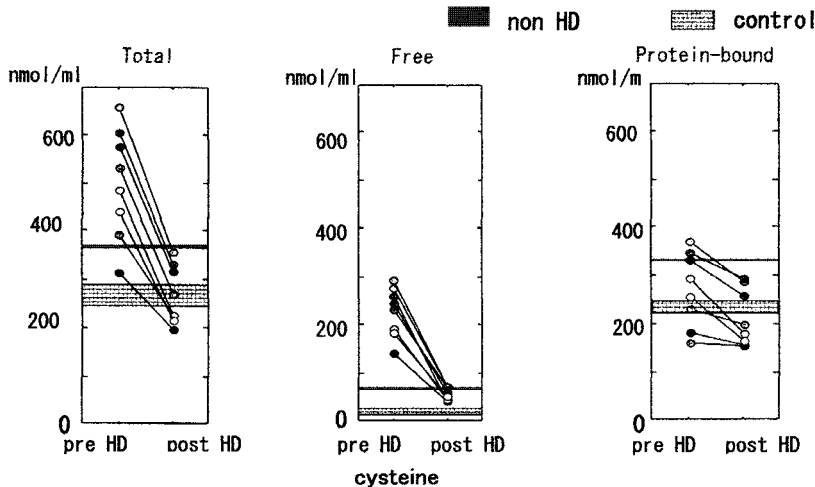
イン濃度の変化を分画別に示した。著しい高値を示したシステイン、ホモシステインはいずれも血液透析によって急激に減少した。特に遊離型システイン、遊離型ホモシステインの透析後の減少が明らかであった。

## 考 察

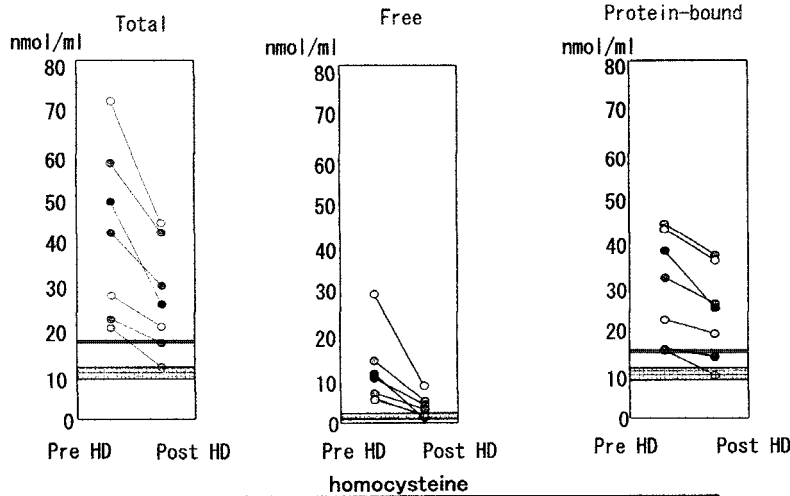
近年、慢性に経過する腎障害が心・血管系疾患のリスクとなることが明らかにされ、慢性腎臓病 (chronic kidney disease: CKD) として注目を集めている<sup>6)</sup>。また緒言にも述べたように、維持血液透析例では動脈硬化性臓器障害が長期予後を支配する最大の要因であることが知られている。1998年には米国から維持血液透析例は全年齢層で心・血管系疾患による死亡率が非透析患者の数百倍となることが報告された<sup>7)</sup>。われわれは持続する低アルブミン血症が予後不良の危険因子であるとする疫学調査の結果に着目し、血漿アルブミンと血漿の抗酸化能の関係について検討を行ってきた<sup>8~10)</sup>。その結果、維持血液透析例では血漿アルブミン分子の cys-34 の酸化が亢進しており、きわめて興味深いことに、血液透析後には一過性に還元型アルブミンが増加することをすでに報告している<sup>11)</sup>。今回の検討では、保存期腎不全例と維持血液透析例に共通した動脈硬化性病変の促進機序が存在することを想定して、透析導入前の腎機能障害例と維持血液透析例を検討の対象とした。いずれの対象群も原発性糸球体疾患の例で、糖尿病などによる二次性腎疾患による腎機能低下例は除外した。これは、病態

の理解と結果の解釈が複雑になることを避けたいと考えたためである。

Fig. 1 に示したように、保存期腎不全例では eGFR の低下に伴って還元型アルブミン (HMA) が減少し、酸化型アルブミン (HNA-1) が増加することが明らかであった。また、スルフィン酸 (Cys-SO<sub>2</sub>H)、スルホン酸 (Cys-SO<sub>3</sub>H) となった非可逆性の酸化型アルブミン (HNA-2) も腎機能の低下と有意の相関性をもって増加することが示された。若年健常者では血漿アルブミンに占める HMA 比率は 75% 程度で、加齢に伴う生理的な変化として HMA 比率は緩徐に減少することが知られている<sup>12)</sup>。今回の検討の結果、保存期腎不全例でも HMA% は年齢との相関性が保たれていることが明らかになった。また、血漿アルブミン分子の redox ratio と血中システイン、ホモシステイン濃度との関係では、血中システイン濃度と血漿アルブミン分子の酸化/還元状態にきわめて密接な関連があることが明らかになった。同様の相関性はホモシステインとの間ではきわめて弱かった (Table)。システイン、ホモシステインはいずれも含硫アミノ酸でフリーのシステイン残基 (-SH) を有しているが、システインはホモシステインと比較して血漿中の濃度が高いことがこの原因の一つと考えられた。すなわち、アルブミン分子の cys-34 とシステイン、ホモシステインの SH 基は酸化反応によって S-S 結合 (disulfide bound) を形成すること、また、健常成人の血中ホモシステイン濃度が 10 μmol/mL 程度であるのに比較して、システインは 260 μmol/mL と 20~30 倍の濃度を有しているからである<sup>13)</sup>。



	Total	Free	P-bound
pre-HD	514.4 ± 95.8	228.8 ± 51.6	271.3 ± 78.5
post-HD	266.3 ± 65.6	51.6 ± 10.8	206.9 ± 63.6
paired t-test	p<0.001	p<0.001	p<0.002



	Total	Free	P-bound
pre-HD	41.6 ± 19.0	14.4 ± 7.3	30.7 ± 12.8
post-HD	27.0 ± 11.7	4.6 ± 2.6	21.1 ± 6.8
paired t-test	p<0.005	p<0.005	p<0.01

Fig. 5. Changes in the serum levels of cysteine and homocysteine before and after hemodialysis

また、保存期腎不全例では血中システイン、ホモシステインはいずれも高値を示したが、これは GFR の低下による排泄障害の結果と考えられた (Fig. 2, Table)。

一方、維持血液透析例を対象とした検討の結果では、血漿アルブミン分子の redox ratio と年齢との相関性が著しく減少していること、また血液透析後には HMA% が有意に増加し、HNA-1% は減少していることが特徴的であった (Fig. 4)<sup>11)</sup>。Fig. 5 に示したように、著しく高値であった血中システイン、ホモシステインはいずれも血液透析後に明らかに減少した。特に蛋白と結合していないフリーのシステ

インの減少が顕著であった。これはフリーのシステイン、ホモシステインが蛋白結合型と比較して透析膜を通過しやすいこと、さらにシステインとホモシステインの蛋白に対する結合力の違いが血液透析による除去率の差として影響していることが考えられた。血漿システインとホモシステインの分画測定は除蛋白で行ったが、アルブミン以外の蛋白はメルカプト基を持たないのでその影響は少ないと考えられた。また治療に使用したダイアライザ膜は分子量 (MW) 11,800 dalton の  $\beta_2$ -m の除去量を多くする一方、アルブミン (MW 66,000 dalton) の損失を少なくするように cut-off point を設定した設計になっている。したがって、今回の測定結果に対する透析による蛋白の除去や除水による影響も少ないと考えられる。一般に維持血液透析例では酸化的ストレスが亢進した状態にあると考えられている<sup>14)</sup>。血漿中のシステインは非酵素的に酸化され、多くは酸化型システイン (シスチン)、あるいは他の低分子チオール化合物と S-S 結合をしているものと考えられる。血液透析を行うと濃度勾配に従ってシスチンは急速に除去され、肝細胞などからシステインが供給されることでアルブミン分子の SH 基は一過性に還元されるものと思われた。このシスチンの還元には細胞内の細胞質に豊富に存在するグルタチオン (GSH) が重要な役割を果たすものと推察された<sup>15)</sup>。なお、血漿アルブミン濃度と還元化率との積値として算出できる血漿還元化アルブミン濃度による検討ではアルブミン還元化率との検討と同一傾向であるものの、統計的有意差が低かった。その理由は、還元型アルブミン濃度は二変動要因の積値で得たためと考えられた。

今回の検討の結果、維持血液透析例のみではなく保存期腎不全例でも HMA% は減少しており、その変動が血中システインと関連することが示された。先に述べたように保存期腎不全例、維持血液透析例いずれも動脈硬化性臓器障害が進行性であることは明らかである。腎機能の低下は含硫アミノ酸の酸化の促進と同時に排泄を障害し、メルカプト-ノンメルカプト変換によるアルブミン分子の還元化率

今回の検討の結果、維持血液透析例のみではなく保存期腎不全例でも HMA% は減少しており、その変動が血中システインと関連することが示された。先に述べたように保存期腎不全例、維持血液透析例いずれも動脈硬化性臓器障害が進行性であることは明らかである。腎機能の低下は含硫アミノ酸の酸化の促進と同時に排泄を障害し、メルカプト-ノンメルカプト変換によるアルブミン分子の還元化率

を減少させることで血漿の還元能を低下させる。したがって、低アルブミン血症の持続は栄養状態の低下のみならず、アルブミン分子による血漿の還元キャパシティを減少させることで加齢現象を促進させるものと考えられた。

## 結 語

腎機能の低下によって進行性に血漿アルブミンの還元化率が減少することを明らかにした。腎不全例でみられる血漿アルブミンの還元能の低下は、アルブミン分子 34 位のシステイン残基がジスルフィド化することによるものである。また、GFR の低下に伴って血中のシステイン濃度が上昇することが GC/MS による測定の結果から明らかになった。血漿アルブミンの酸化/還元状態には血中システイン濃度の異常が重要な役割を果たす可能性が示唆された。

頸動脈エコーなどを用いた動脈硬化の客観的な評価と、これらの生化学的なパラメータとの関係の臨床例での検討、さらにより還元能を改善させる血液透析療法の検討などが今後の課題と思われた。

## 謝 辞

血漿システイン、ホモシステインの GC/MS による測定に際し、ご協力いただいた東京薬科大学薬学部病態生理学教室、里村美穂氏に深謝いたします。

## 文 献

1. 日本透析医学会統計調査委員会. わが国の慢性透析療法の現況 2005 年 12 月 31 日現在. 2006 ; 19.
2. Stenvinkel P, Roberto PF, Lindholm R. Coronary artery disease end-stage renal disease : no longer simple plumbing problem. *J Am Soc Nephrol* 2003 ; 14 : 1927-1939.
3. Sogami M, Nagaoka S, Era S, Honda M, Noguchi K. Resolution of human mercapt- and nonmercaptalbumin by high performance liquid chromatography. *Int J Peptide Protein Res* 1984 ; 24 : 96-103.
4. Sogami M, Era S, Nagaoka S, Kuwata K, Kida K, Miura K, Inoue H, Suzuki E, Hayano S, Sawada S. HPLC-studies on

- nonmercapt-mercapt conversion of human serum albumin. *Int J Peptide Protein Res* 1985 ; 25 : 398-402.
5. Shinohara Y, Hasegawa H, Tagoku K, Hashimoto T. Simultaneous determination of methionine and total homocysteine in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2001 ; 758 : 283-288.
6. 菱田 明. 日本腎臓学会としての慢性腎臓病(CKD)対策—慢性腎臓病対策小委員会設立の経緯と意義. *日腎会誌* 2006 ; 48 : 681-691.
7. Foley RN, Parfrey PS, Samak MJ. Cardiovascular disease in chronic renal disease—Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease—. *Am J Kidney Dis* 1998 ; 32 (Suppl 3) : 112-119.
8. Soejima A, Matsuzawa N, Miyake N, Karube M, Fukuoka K, Nakabayashi K, Kitamoto K, Nagasawa T. Hypoalbuminemia accelerates erythrocyte membrane lipid peroxidation in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1999 ; 51 : 92-97.
9. Soejima A, Kaneda F, Manno S, Matsuzawa N, Kouji H, Nagasawa T, Era S, Takakuwa Y. Useful markers for detecting decreased serum antioxidant activity in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002 ; 39 : 1040-1046.
10. 松澤直輝. 長期血液透析例の血漿アルブミン値と赤血球膜脂質の過酸化に関する研究. *日腎会誌* 2001 ; 43 : 55-62.
11. Soejima A, Matsuzawa N, Hayashi T, Kimura R, Ootsuka T, Fukuoka K, Yamada A, Nagasawa T. Alteration of redox state of human serum albumin before and after hemodialysis. *Blood Purif* 2004 ; 22 : 525-529.
12. Era S, Kuwata K, Imai H, Nakamura K, Hayashi T, Sogami M. Age-related change in redox state of human serum albumin. *Biochim Biophys Acta* 1995 ; 1247 : 12-16.
13. Sjöberg B, Anderson B, Suliman M, Alvestrand A. Plasma reduced homocysteine and other aminothiols concentration in patients with CKD. *Am J Kidney Dis* 2006 ; 47 : 60-71.
14. Bayes B, Paston MC, Bonal A, Foraster A, Romero R. Oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in hemodialysis role of seniority and intravenous ferrotherapy : analysis at 4 years of follow up. *Nephrol Dial Transplant* 2006 ; 21 : 984-990.
15. Wlodek PJ, Iciek MB, Milkowski A, Smolenski OB. Various forms of plasma cysteine and its metabolites in patients undergoing hemodialysis. *Clinica Chimica Acta* 2001 ; 304 : 9-18.