

〈特集：心腎連関を考慮した慢性腎臓病 (CKD)  
のトータルマネージメント〉

## ウレミックトキシンと血管内皮

建部 順子、盛田 俊介

### Uremic Toxin and Endothelium

Junko Tatebe and Toshiyuki Morita

**Summary** Recent studies have verified the positive correlation between chronic kidney disease (CKD) and cardiovascular disease (CVD), which is called cardio-renal syndrome. CKD patients display an impaired endothelium-dependent vasodilatation, which is one of the initial steps in the development of CVD. However little is known about the mechanisms involved. In a patient with CKD, circulating uremic toxins are elevated and are well-known to cause "uremia". Recently, these uremic toxins are reported to augment the production of inflammatory cytokines as well as reactive oxygen species in vasculatures, which in turn impair endothelial function. Those toxins, therefore, must become recognized as cardiovascular toxins. Here, we review the pathophysiological role of uremic toxins in cardio-renal syndrome.

**Key words:** Uremic toxin, Cardiovascular, Endothelial dysfunction, Cardio-Renal syndrome

#### I. はじめに

慢性腎臓病 (chronic kidney disease: CKD) はその進行に伴い、心血管疾患 (cardiovascular disease: CVD) の発症リスクが高くなる<sup>1)</sup>ことが大規模疫学調査によって明らかにされ<sup>2)</sup>、いわゆる心腎連関としてその病態が注目されている。また、重症心疾患患者では、入院時の腎機能によってその生命予後に明確な差があることも報告されており、腎機能と心血管疾患との関係の重要性は明らかである。したがって、心腎連関のメカニズムの解明は有効かつ効率的な治療を

確立する上で、極めて重要となる。これまで、炎症と酸化ストレス充進をもたらすレニンアンジオテンシナルドステロン系の活性化、電解質異常、貧血などが心腎連関形成に関与していることを示す知見が数多く存在しているものの、その全てが解明されているわけではない。一方、腎機能障害の進行に伴って体内に貯留する尿毒症物質 (uremic toxin: UTx) は、食欲低下、悪心、嘔吐などの「尿毒症」症状をもたらすことは古くから知られていたが、近年、このUTxが腎毒性を有すること、さらには心血管毒性をも有することが明らかにされつつある。本稿では、

東邦大学医療センター大森病院 臨床検査部  
〒143-8541 東京都大田区大森西6-11-1

Department of Laboratory Medicine, Toho University  
Omori Medical Center,  
6-11-1, Omori-nishi, Ota-ku, Tokyo 143-8541, Japan

「心血管毒」としてのUTxを最新の知見とともに概説する。

## II. 心腎連関における血管内皮障害の役割

血管内皮は、解剖学的には血管の最も内層に位置しており、一層の細胞層よりなっている。血管内皮からは一酸化窒素 (NO)、プロスタグランディン I<sub>2</sub>などの血管拡張因子、エンドセリン、アンジオテンシン IIなどの血管収縮因子をはじめとした多くの生理活性物質が産生・分泌されることが知られている。また、正常な血管内皮は血管の拡張と収縮、血管平滑筋細胞の増殖と抗増殖作用、凝固と抗凝固作用、炎症と抗炎症作用、酸化と抗酸化作用を有しており、これらのバランスにより血管トーンや血管構造の調節・維持に働いている。血管内皮が障害されると正常血管内皮が本来有している動脈硬化と抗動脈硬化のバランスが崩れ血管トーンや血管構造の破綻へと繋がる。動脈硬化は血管内皮障害を第一段階として発症し進展するが、さらに進行すれば動脈硬化性病変を基盤とするCVD発症へと繋がることとなる。

この血管内皮障害は、動脈硬化病変を基盤とするCVDの初期段階であるのみならず、腎臓においてはアルブミン尿の出現や腎障害の進展にも関与している。CKD患者では早期より全身の血管内皮障害が存在し、このことがこの患者群で多発するCVDの一因と考えられている<sup>2,3)</sup>。一

方で、実験動物モデルにおいて、薬理的にNOの産生を阻害すると、糸球体高血圧などの腎血行動態の異常のみならず、糸球体硬化、間質線維化、尿タンパクが惹起されることも知られており、腎局所での血管内皮障害が腎障害の進展にも深く関与すると推察されている。実際、ヒトにおいても、血管内皮障害の程度が強いほど腎予後が不良になることや<sup>4)</sup>、血管内皮機能とアルブミン尿の間には密接な関連があることが確認されており、血管内皮障害は心腎連関の仲介役である。

## III. 尿毒症物質 (uremic toxin) とは

腎機能が正常な場合、生体にとって有害なものは生体外へ排出されるが、何らかの原因で腎機能低下が起こると排泄されていた物質が体内に貯留する。この有害物質が、UTxである。UTxは、①化学構造が同定されており、特異的に正確な定量が可能であること、②組織および血漿中の濃度が健常人よりもCKD患者で高いこと、③高濃度の場合は生体への障害がみられ、血中濃度を低下させるとその障害が減少または消失すること、④CKD患者の血中濃度を用いた *in vivo*、*ex vivo*、*in vitro*での検討でその毒性が証明できること、の4条件を満たしたものと定義される。このUTxは水溶性低分子、水溶性中分子、蛋白結合型の3つに分類され、2003年までに90の物質が、さらに、現在までに約25の物質

表1 代表的な尿毒症物質

Small Water Soluble Solutes	Middle Molecule	Protein-bound Solutes
Asymmetric dimethylarginine	Adrenomedullin	Furan propionic acid
$\beta$ -Lipotropin	Atrial natriuretic peptide	Hippuric acid
Creatinine	$\beta$ 2-Microglobulin	Homocysteine
Guanidine	Complement factor D	Indole-3-acetic acid
Hypoxanthine	Degranulation inhibiting protein 1	Indoxyl sulfate
Malondialdehyde	Endothelin	N-carboxymethyllysine
Methylguanidine	Hyaluronic acid	P-cresol
Myoinositol	Interleukin-1 $\beta$	Pentosidine
Oxalate	Interleukin-6	Phenol
Symmetric dimethylarginine	Leptin	Quinolinic acid
Urea	Parathyroid hormone	Spermidine
Uric acid	Retinol binding protein	
Xanthine	Tumor necrosis factor $\alpha$	

が追加され報告されている<sup>6-8)</sup> (表1)。このUTxの貯留が引き起こす病態は、「末期腎不全でみられる全身の臓器障害であり多様な症状を呈し、放置すると数日で死に至る病態」すなわち「尿毒症」として古くから知られている。しかしながら最近の研究により、一部のUTxは単に「尿毒症」症状を引き起こすに留まらず、心血管組織に直接障害を与える「心血管毒」としての作用を有することが明らかにされつつある(図1)。

以下にCVDおよび血管内皮障害に関連するとされるUTxについて概説する。

### III-1. ADMA

ADMA (asymmetric dimethylarginine) は、アルギニン誘導体のひとつで内因性NO合成酵素阻害物質であり、腎不全患者で血中濃度が著明に上昇する。一方、腎排泄能が比較的保たれているCKDステージ1の患者においても血中濃度が上昇していることが知られ、これにはL-アルギニンに対するメチル化ストレス、異化亢進、または、DDAH (dimethylarginine dimethylaminohydrolase) による代謝の低下などが関わっているようである<sup>9,10)</sup>。

ADMAは血圧を上昇させるのみならず、蛋白尿を惹起し<sup>11)</sup>、腎障害を悪化させるリスクとな

る。また、ヒトへの少量ADMAの直接投与は、昇圧を伴うことなく腎有効血漿流量を低下させること、DDAHの過剰発現によりADMAを低下させた5/6腎摘ラットでは、糸球体毛細血管の減少や糸球体硬化を抑制したことが報告されており<sup>12,13)</sup>、ADMAによる直接的な腎障害機序も明らかになりつつある。臨床研究において、MMKD研究 (mild to moderate kidney disease study) では、ADMA高値群が低値群に比較し有意に腎障害の進行が早く、血清クレアチニン値などの関連因子で補正しても有意な独立予後予測因子であることが報告されている<sup>14)</sup>。さらに、腎不全患者における前向き検討では、ADMAがCVD合併症と生命予後の独立リスク因子であることが示されており、血管内皮障害の主要な原因物質かつCKDやCVDの有用なバイオマーカーとして注目されている。

### III-2. ホモシステイン

ホモシステインは、食事から摂取されたメチオニンの中間代謝産物であり、血中ホモシステイン濃度の上昇は、その代謝に関わる酵素群に必須の補酵素(ビタミンB<sub>6</sub>、B<sub>12</sub>、葉酸)の不足や、代謝にかかわる酵素の遺伝子多型、さらに腎機能の低下によってもたらされる。実際にホ

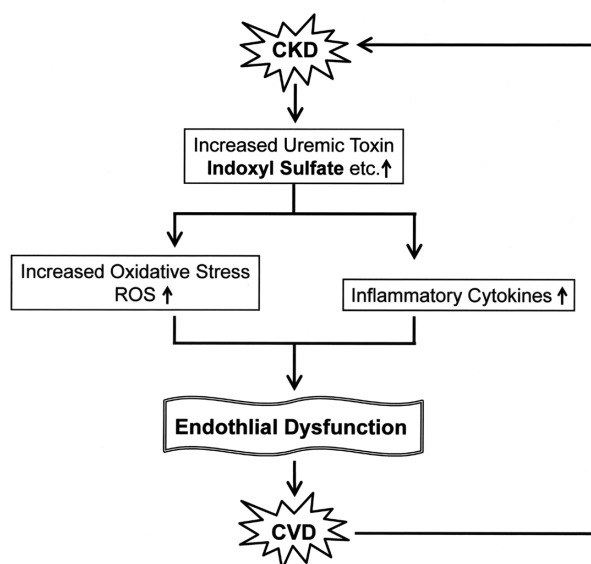


図1 慢性腎臓病(CKD)における心血管病(CVD)発症機序

モシステインの血中濃度は糸球体濾過量 (glomerular filtration rate: GFR) に逆相関することが報告され<sup>15)</sup>、腎不全患者では高ホモシステイン血症となることが知られている。

血管障害に関する *in vitro* の研究では、ホモシステインはヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) に対して NADPH オキシダーゼを活性化させ、活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) の産生を増強したり、内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) 活性を減弱して NO 産生を抑制するなどして血管内皮障害を起こすことが報告され<sup>16,17)</sup>、高ホモシステイン血症が CVD リスクに強く関わるものが想定される。また、臨床研究では、複数の前向き研究において、血中ホモシステイン高値が CKD 患者の CVD リスクに影響することが報告されている<sup>18,19)</sup>。しかしながら、CKD 患者や透析患者を対象とした大規模な 2 つのランダム化比較試験 (RCT) では、葉酸、ビタミン B<sub>6</sub>、ビタミン B<sub>12</sub> の投与によりホモシステインを低下させても、生命予後や CVD 発症には有意な効果がないという予想を裏切る結果が報告されている<sup>20,21)</sup>。

### III-3. 尿酸

尿酸は、プリン代謝の最終産物としてキサンチンオキシダーゼ (xanthine oxidase: XO) を介して生成されるが、ヒトでは腎機能の低下に伴い尿酸排泄は低下するため、CKD の進展とともに高尿酸血症が認められる頻度が高くなる。高尿酸血症は単なる腎機能低下の結果としてとらえられていた傾向があるが、最近では尿酸が腎障害や心血管イベントにたいして病因的役割を果たしているという報告が相次いでおり、高尿酸血症は CKD における古くて新しいリスク因子である可能性が示唆されている。実際に Ejaz らが発表した研究では、心血管手術後の AKI (acute kidney injury) 発症率を尿酸値により 2 群に分けて解析したところ、尿酸高値群は推算 GFR などで補正後も約 4 倍の発症リスクとなっていた<sup>22)</sup>。

尿酸は、血管平滑筋細胞や血管内皮細胞に発現している尿酸トランスポーターを介して取り込まれ、NADPH オキシダーゼを活性化することで ROS を産生し炎症や血管平滑筋の増殖を惹起することが報告されている<sup>23,24)</sup>。また、先に述べたように、XO は、尿酸合成経路の終盤を担う重

要な酵素であるが、組織が虚血などにより障害を受けた状態では、尿酸を生成する過程において XO が基質から奪った電子を酸素分子に渡すことにより ROS を発生させる<sup>25)</sup>。これらのことは尿酸に加えて、XO による ROS の産生が内皮細胞における NO の産生抑制や分解、炎症反応を惹起して、血管内皮障害を引き起こす可能性を示唆している。

### III-4. メチルグリオキサール (MG)

分子量 72 の小分子物質であるメチルグリオキサール (Methylglyoxal: MG) は、アルデヒド基の隣にカルボニル基を有するジカルボニル物質であり、糖や蛋白糖化反応過程におけるアマドリ生成物の分解や解糖系に由来する経路から生成される。MG は化学反応性に富み、蛋白を修飾して終末糖化産物 (advanced glycation endproducts: AGEs) を形成し、糖尿病に伴う血管障害や腎障害への関与、アポトーシス、遺伝子の転写異常に関わることが報告されている<sup>26)</sup>。

この MG は、末期腎不全患者はもとより CKD ステージの進行とともに患者血中濃度が上昇することが知られている<sup>27,29)</sup>。OF1 マウスや Wistar ラットを用いた実験では、MG の投与により腎糸球体係蹄壁の変化や血管変化、血圧の上昇が認められることが報告されている<sup>30,31)</sup>。さらに、食塩感受性ラットへの MG と高塩分食の同時投与は、それぞれの単独投与時に比較して有意な血圧上昇と尿アルブミンの増加、尿中酸化ストレスマーカーの上昇を引き起こすことも報告されている<sup>32)</sup>。ヒト大動脈血管内皮細胞を用いた検討により、MG は ROS の産生を増加させることが明らかにされており、MG の細胞傷害作用はこの ROS が主役となっている<sup>33)</sup>。これらのことから、腎機能低下による MG の血中濃度上昇は ADMA 同様に、血管内皮障害を惹起するとともに腎障害を増悪させる悪循環を形成する原因物質になることが想定される。

### III-5. 終末糖化産物 (AGEs)

終末糖化産物 (AGEs) は、蛋白質のアミノ基がグルコースなどのカルボニル基を持つ化合物によって非酵素的に修飾され、シッフ塩基・アマドリ転移化合物の形成をへて、不可逆的な脱水・縮合を繰り返し、最終的に生成される多様

な分子群である。腎不全の状態では、循環血液中や腎組織でAGEsが促進的に形成、蓄積され、臓器障害に関わることが想定される<sup>34)</sup>。心血管組織では、AGEsが血管内皮細胞上の受容体 (receptor for AGEs: RAGE) によって認識された後、NADPHオキシダーゼの活性化によりROSの産生を増強して、転写因子NF-κB、AP-1の活性化を介してさまざまなサイトカインや増殖因子の産生を促進し炎症反応を惹起する。さらに、AGEs-RAGEによってもたらされる酸化ストレスの増強は、NOを不活性化させ炎症反応をさらに増加させる悪循環を形成して血管内皮障害を引き起こし、動脈硬化性病変を基盤とするCVD発症に繋がると考えられている<sup>35)</sup>。

### III-6. p-クレシル硫酸 (PCS)

p-クレシル硫酸 (p-cresyl sulfate: PCS) はチロシンの代謝産物であるp-cresolの複合体であり、腸内細菌により産生され、CKD患者ではPCSはp-cresolの形で循環する蛋白結合型尿毒症物質である<sup>36)</sup>。139人の異なるステージのCKD患者を対象にした臨床研究ではトータルおよび遊離型PCSともに年齢や動脈の石灰化、貧血、そして炎症など一般的な予後予測因子と相関することが明らかとなっている<sup>37)</sup>。また、HUVECを用いた基礎研究でPCSは、その活性化がeNOS活性の抑制をもたらすとされるRhoキナーゼの経路を介して血管内皮障害のバイオマーカーである血

管内皮由来微小粒子 (endothelial microparticles: EMP) 放出を誘導していることが報告されている<sup>38)</sup>。これらのことから、PCSもまた血管内皮障害の原因物質であると考えられる。

### III-7. インドキシル硫酸 (IS)

インドキシル硫酸 (indoxyl sulfate: IS) は、食物蛋白質由来のトリプトファンから腸内細菌により生成されたインドールが、肝臓で硫酸抱合されたものである。血中ではそのほとんどがアルブミンと結合している蛋白結合型尿毒症物質であるため近位尿細管上皮細胞に存在する有機アニオントランスポーターを介して細胞内に取り込まれた後、尿細管から分泌排泄される (図2)。健常人ではISの血中濃度は低濃度で維持されているが、腎不全ではISのクリアランスが低下することにより血中IS濃度は著明に増加し、その腎毒性からCKDの進行を促進する因子として注目されている<sup>39)</sup>。これまでに、ISの腎に与える影響として、近位尿細管細胞において有機アニオントランスポーターを介して取り込まれたISが細胞内でフリーラジカルを産生し、NF-κBの活性化によるPAI-1の発現を誘導し尿細管細胞の機能障害を惹起することが報告されている<sup>40)</sup>。Kawakamiらは、ISが尿細管細胞では、蛋白質の高次構造形成を担うオルガネラである小胞体体内に未成熟な蛋白質が蓄積することにより生じる小胞体ストレスのマーカーCHOP

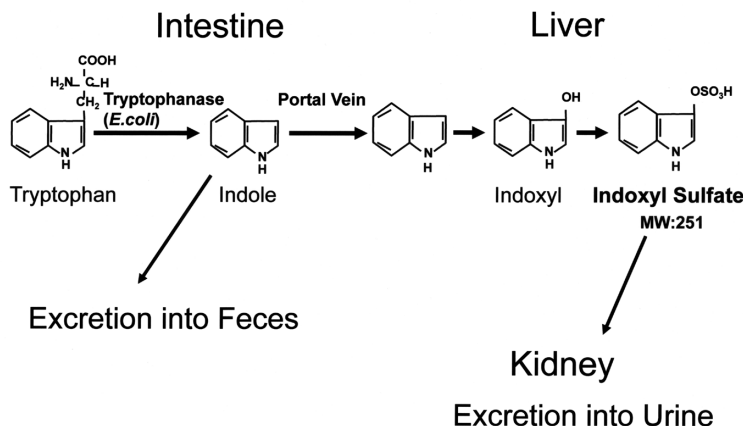


図2 インドキシル硫酸の代謝経路

(C/EBP homologous protein) を上昇させることを明らかにしている<sup>41)</sup>。この小胞体ストレスは、炎症性サイトカインの産生を増加し、血管内皮障害を惹起することが知られている。

を用いた基礎研究において、透析患者と同程度の濃度のISは、EMPの放出を増加させること<sup>45)</sup>、細胞増殖および創傷治癒を抑制することが<sup>46)</sup>報告されている。さらに、Yamamotoらは、ISがラ

#### IV. インドキシル硫酸と心腎連関

Barretoらは、ISの血中濃度によってさまざまなステージのCKD患者を3群に分けて生命予後を比較したところ、ISが高値の群ほど有意に生命予後が不良であったことを報告しているが<sup>42)</sup>、近年、ISが生命予後に関わりかねないCVDの発症に関与する可能性があるという報告が相継いでいる。Takiらは、血液透析患者における検討で、血中IS濃度は、動脈硬化のリスクファクターとされるペントシジンとは正の相関を、HDL-コレステロールとは負の相関を示すことを明らかにし、ISが、動脈硬化発症に関わっている可能性を報告している<sup>43)</sup>。Nakamuraらは、非糖尿病性慢性腎不全患者へのIS吸着剤AST-120投与による動脈硬化の指標である脈波伝播速度(PWV)と頸動脈内中膜複合体肥厚度(IMT)への影響を評価した<sup>44)</sup>。その結果、AST-120投与は、腎不全の進行を遅延させるのみならず、PWVとIMTを有意に改善させた。また、HUVEC

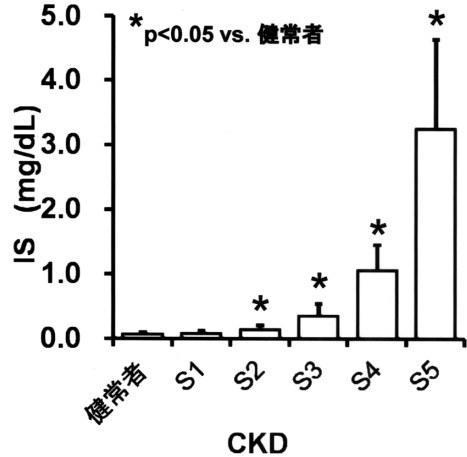


図3 健常者およびCKD病期ステージの血中インドキシル硫酸濃度  
健常者=548、S1=12、S2=20、S3=90、S4=49、S5=377 (文献48)より改変し引用)

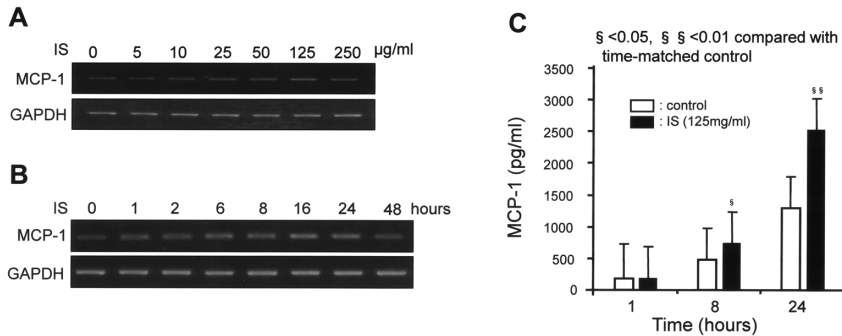


図4 インドキシル硫酸は、HUVECにおいて濃度、時間依存的にMCP-1の発現を亢進する(文献49)より改変し引用)  
(A)HUVECを各濃度のISで1時間刺激し、MCP-1 mRNAはRT-PCRで確認した。コントロールと比較してIS濃度25 mg/mlよりMCP-1 mRNAの発現は増加し、125 mg/mlで最も強い発現が認められた。  
(B)HUVECを125 mg/mlのISで1から48時間刺激した後、MCP-1 mRNAはRT-PCRで確認した。IS投与後1時間よりMCP-1 mRNAの発現は増強し24時間後に最も強い発現を認めた。  
(C)HUVECを125mg/mlのISで1から24時間刺激した後、培養上清中のMCP-1蛋白をELISA法を用いて測定した。MCP-1蛋白は、IS投与8時間後から各時間のコントロールと比較して有意に増加した。  
IS: インドキシル硫酸、HUVEC: ヒト臍帯静脈血管内皮細胞

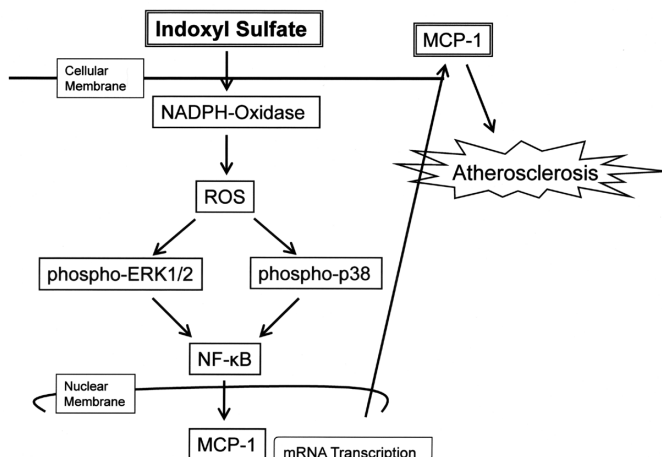


図5 インドキシル硫酸は、HUVECに対して酸化ストレスを誘導しERK、p38/NF-κB経路を介してMCP-1の発現を亢進する。(文献49)より改変し引用)

ット血管平滑筋細胞の増殖を促進することから、透析患者におけるCVD発症の原因となる可能性を報告している<sup>47)</sup>。

我々は、臨床研究において、①CKDステージの進行に伴い血中IS濃度が増加していること(図3)、②血中IS濃度が高い患者ほど5年後の腎機能障害の進行が速いこと、③冠動脈疾患を有する患者の血中IS濃度は健常者と比較して有意に上昇していることを明らかにしている<sup>48)</sup>。また、HUVECを用いた基礎研究により、ISは、①濃度、時間依存的に動脈硬化関連因子MCP-1(monocyte chemoattractant protein-1)の発現を増強すること(図4)、②MCP-1の発現に先行してISは細胞内ROSの産生を増強し、ERK1/2およびp38MAPKのリン酸化を引き起こしNF-κBを活性化することを報告した(図5)<sup>49)</sup>。さらに、最近、ISがTCDD(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin)に代表される多環性芳香族炭化水素化合物をリガンドとする受容体型転写因子であるAryl hydrocarbon receptor(AhR)の内因性アゴニストであることが報告された<sup>50)</sup>ことは、ISが内因性のダイオキシン様毒素として、AhRを介しての臓器毒性を発揮する可能性を示している。

## V. おわりに

UTxと血管内皮について概説した。これまでの研究で、ISをはじめとするUTxが単なる「尿毒症を引き起こす物質」に留まらず、「心血管毒；Cardio-Vascular Toxin」である可能性が明らかになりつつある。

現在、CKD患者はISなどのUTxを除去するために、AST-120を1日6gの細粒あるいは30カプセルを食間に3回分割して内服している。しかしながら、同剤の服薬アドヒアランスは必ずしも良好ではない。今後、心血管組織におけるISをはじめとするUTxの組織障害メカニズムの詳細な解明により、CKD患者におけるCVD発症予防に繋がる創薬が期待できる。

## 文献

- 1) Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY: Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*, 351: 1296-305, 2004.
- 2) Baylis C: Nitric oxide deficiency in chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol*, 294: F1-9, 2008.
- 3) Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Fukami K, Okuda S: Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is a novel emerging risk factor for cardiovascular disease and the development of renal injury in chronic kidney disease.

- Clin Exp Nephrol, 11: 115-21, 2007.
- 4) Persson F, Rossing P, Hovind P, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Tarnow L, Parving HH: Endothelial dysfunction and inflammation predict development of diabetic nephropathy in the Irbesartan in Patients with Type 2 Diabetes and Microalbuminuria (IRMA 2) study. *Scand J Clin Lab Invest*, 68: 731-8, 2008.
  - 5) Clausen P, Jensen JS, Jensen G, Borch-Johnsen K, Feldt-Rasmussen B: Elevated urinary albumin excretion is associated with impaired arterial dilatory capacity in clinically healthy subjects. *Circulation*, 103: 1869-74, 2001.
  - 6) Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argilés A, Baurmeister U, Brunet P, Clark W, Cohen G, De Deyn PP, Deppisch R, Descamps-Latscha B, Henle T, Jörres A, Lemke HD, Massy ZA, Passlick-Deetjen J, Rodriguez M, Stegmayr B, Stenvinkel P, Tetta C, Wanner C, Zidek W: European Uremic Toxin Work Group (EUTox). Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int*, 63: 1934-43, 2003.
  - 7) Vanholder R, Van Laecke S, Glorieux G: What is new in uremic toxicity? *Pediatr Nephrol*, 23: 1211-21, 2008.
  - 8) Jourde-Chiche N, Dou L, Cerini C, Dignat-George F, Vanholder R, Brunet P: Protein-bound toxins-update 2009. *Semin Dial*, 22: 334-9, 2009.
  - 9) Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Frölich JC, Haller H, Ritz E, Fliser D: Marked increase of asymmetric dimethylarginine in patients with incipient primary chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 13: 170-6, 2002.
  - 10) Matsuguma K, Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Kaneyuki U, Shibata R, Fujimura T, Matsuoka H, Kimoto M, Kato S, Imaizumi T, Okuda S: Molecular mechanism for elevation of asymmetric dimethylarginine and its role for hypertension in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 17: 2176-83, 2006.
  - 11) Caglar K, Yilmaz MI, Sonmez A, Cakir E, Kaya A, Acikel C, Eyileten T, Yenicesu M, Oguz Y, Bilgi C, Oktenli C, Vural A, Zoccali C: ADMA, proteinuria, and insulin resistance in non-diabetic stage I chronic kidney disease. *Kidney Int*, 70: 781-7, 2006.
  - 12) Kielstein JT, Simmel S, Bode-Böger SM, Roth HJ, Schmidt-Gayk H, Haller H, Fliser D: Subpressor dose asymmetric dimethylarginine modulates renal function in humans through nitric oxide synthase inhibition. *Kidney Blood Press Res*, 27: 143-7, 2004.
  - 13) Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Kaida Y, Fujimi-Hayashida A, Koike K, Tanaka H, Fukami K, Okuda S: Involvement of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in glomerular capillary loss and sclerosis in a rat model of chronic kidney disease (CKD). *Life Sci*, 84: 853-6, 2009.
  - 14) Fliser D, Kronenberg F, Kielstein JT, Morath C, Bode-Böger SM, Haller H, Ritz E: Asymmetric dimethylarginine and progression of chronic kidney disease: the mild to moderate kidney disease study. *J Am Soc Nephrol*, 16: 2456-61, 2005.
  - 15) Arnadottir M, Hultberg B, Nilsson-Ehle P, Thysel H: The effect of reduced glomerular filtration rate on plasma total homocysteine concentration. *Scand J Clin Lab Invest*, 56: 41-6, 1996.
  - 16) Ungvari Z, Csiszar A, Edwards JG, Kaminski PM, Wolin MS, Kaley G, Koller A: Increased superoxide production in coronary arteries in hyperhomocysteinemia: role of tumor necrosis factor-alpha, NAD(P)H oxidase, and inducible nitric oxide synthase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23: 418-24, 2003.
  - 17) Tyagi N, Sedoris KC, Steed M, Ovechkin AV, Moshal KS, Tyagi SC: Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 289: H2649-56, 2005.
  - 18) Bostom AG, Shemin D, Verhoef P, Nadeau MR, Jacques PF, Selhub J, Dworkin L, Rosenberg IH: Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients. A prospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17: 2554-8, 1997.
  - 19) Jungers P, Chauveau P, Bandin O, Chadefaux B, Aupetit J, Labrunie M, Descamps-Latscha B, Kamoun P: Hyperhomocysteinemia is associated with atherosclerotic occlusive arterial accidents in predialysis chronic renal failure patients. *Miner Electrolyte Metab*, 23: 170-3, 1997.
  - 20) Jamison RL, Hartigan P, Kaufman JS, Goldfarb DS, Warren SR, Guarino PD, Gaziano JM: Veterans Affairs Site Investigators. Effect of homocysteine lowering on mortality and vascular disease in advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease: a randomized controlled trial. *JAMA*, 298: 1163-70, 2007.
  - 21) Mann JF, Sheridan P, McQueen MJ, Held C, Arnold JM, Fodor G, Yusuf S, Lonn EM: HOPE-2 investigators. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in people with chronic kidney disease--results of the renal Hope-2 study. *Nephrol Dial Transplant*, 23: 645-53, 2008.
  - 22) Ejaz AA, Beaver TM, Shimada M, Sood P, Lingegowda V, Schold JD, Kim T, Johnson RJ: Uric acid: a novel risk factor for acute kidney injury in high-risk cardiac surgery patients? *Am J Nephrol*, 30: 425-9, 2009.



- 23) Corry DB, Eslami P, Yamamoto K, Nyby MD, Makino H, Tuck ML: Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and oxidative stress via the vascular renin-angiotensin system. *J Hypertens*, 26: 269-75, 2008.
- 24) Sautin YY, Nakagawa T, Zharikov S, Johnson RJ: Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. *Am J Physiol Cell Physiol*, 293: C584-96, 2007.
- 25) Landmesser U, Spiekermann S, Dikalov S, Tatge H, Wilke R, Kohler C, Harrison DG, Hornig B, Drexler H: Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. *Circulation*, 106: 3073-8, 2002.
- 26) Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM: Methylglyoxal comes of AGE. *Cell*, 124: 258-60, 2006.
- 27) Odani H, Shinzato T, Matsumoto Y, Usami J, Maeda K: Increase in three alpha,beta-dicarbonyl compound levels in human uremic plasma: specific in vivo determination of intermediates in advanced Maillard reaction. *Biochem Biophys Res Commun*, 256: 89-93, 1999.
- 28) O'Byrne D, Devaraj S, Islam KN, Collazo R, McDonald L, Grundy S, Jialal I: Low-density lipoprotein (LDL)-induced monocyte-endothelial cell adhesion, soluble cell adhesion molecules, and autoantibodies to oxidized-LDL in chronic renal failure patients on dialysis therapy. *Metabolism*, 50: 207-15, 2001.
- 29) Nakayama K, Nakayama M, Iwabuchi M, Terawaki H, Sato T, Kohno M, Ito S: Plasma alpha-oxoaldehyde levels in diabetic and nondiabetic chronic kidney disease patients. *Am J Nephrol*, 28: 871-8, 2008.
- 30) Golej J, Hoeger H, Radner W, Unfried G, Lubec G: Oral administration of methylglyoxal leads to kidney collagen accumulation in the mouse. *Life Sci*, 63: 801-7, 1998.
- 31) Berlanga J, Cibrian D, Guillén I, Freyre F, Alba JS, Lopez-Saura P, Merino N, Aldama A, Quintela AM, Triana ME, Montequin JF, Ajamieh H, Urquiza D, Ahmed N, Thornalley PJ: Methylglyoxal administration induces diabetes-like microvascular changes and perturbs the healing process of cutaneous wounds. *Clin Sci (Lond)*, 109: 83-95, 2005.
- 32) Guo Q, Mori T, Jiang Y, Hu C, Osaki Y, Yoneki Y, Sun Y, Hosoya T, Kawamata A, Ogawa S, Nakayama M, Miyata T, Ito S: Methylglyoxal contributes to the development of insulin resistance and salt sensitivity in Sprague-Dawley rats. *J Hypertens*, 27: 1664-71, 2009.
- 33) Miyazawa N, Abe M, Souma T, Tanemoto M, Abe T, Nakayama M, Ito S: Methylglyoxal augments intracellular oxidative stress in human aortic endothelial cells. *Free Radic Res*, 44: 101-7, 2010.
- 34) Yamagishi S, Imaizumi T: Diabetic vascular complications: pathophysiology, biochemical basis and potential therapeutic strategy. *Curr Pharm Des*, 11: 2279-99, 2005.
- 35) D'Agati V, Schmidt AM: RAGE and the pathogenesis of chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*, 6: 352-60, 2010.
- 36) Martinez AW, Recht NS, Hostetter TH, Meyer TW: Removal of P-cresol sulfate by hemodialysis. *J Am Soc Nephrol*, 16: 3430-6, 2005.
- 37) Liabeuf S, Barreto DV, Barreto FC, Meert N, Glorieux G, Schepers E, Temmar M, Choukroun G, Vanholder R, Massy ZA: European Uraemic Toxin Work Group (EUTox). Free p-cresylsulphate is a predictor of mortality in patients at different stages of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 25: 1183-91, 2010.
- 38) Meijers BK, Van Kerckhoven S, Verbeke K, Dehaen W, Vanrenterghem Y, Hoylaerts MF, Evenepoel P: The uremic retention solute p-cresyl sulfate and markers of endothelial damage. *Am J Kidney Dis*, 54: 891-901, 2009.
- 39) Niwa T, Ise M: Indoxyl sulfate, a circulating uremic toxin, stimulates the progression of glomerular sclerosis. *J Lab Clin Med*, 12: 96-104, 1994.
- 40) Motojima M, Hosokawa A, Yamato H, Muraki T, Yoshioka T: Uremic toxins of organic anions up-regulate PAI-1 expression by induction of NF-kappaB and free radical in proximal tubular cells. *Kidney Int*, 63: 1671-80, 2003.
- 41) Kawakami T, Inagi R, Wada T, Tanaka T, Fujita T, Nangaku M: Indoxyl sulfate inhibits proliferation of human proximal tubular cells via endoplasmic reticulum stress. *Am J Physiol Renal Physiol*, 299: F568-76, 2010.
- 42) Barreto FC, Barreto DV, Liabeuf S, Meert N, Glorieux G, Temmar M, Choukroun G, Vanholder R, Massy ZA: European Uremic Toxin Work Group (EUTox). Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney disease patients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 4: 1551-8, 2009.
- 43) Taki K, Tsuruta Y, Niwa T: Indoxyl sulfate and atherosclerotic risk factors in hemodialysis patients. *Am J Nephrol*, 27: 30-5, 2007.
- 44) Nakamura T, Kawagoe Y, Matsuda T, Ueda Y, Shimada N, Ebihara I, Koide H: Oral ADSORBENT AST-120 decreases carotid intima-media thickness and arterial stiffness in patients with chronic renal failure.

- Kidney Blood Press Res, 27: 121-6, 2004.
- 45) Faure V, Dou L, Sabatier F, Cerini C, Sampol J, Berland Y, Brunet P, Dignat-George F: Elevation of circulating endothelial microparticles in patients with chronic renal failure. *J Thromb Haemost.* 4: 566-73, 2006.
- 46) Dou L, Bertrand E, Cerini C, Faure V, Sampol J, Vanholder R, Berland Y, Brunet P: The uremic solutes p-cresol and indoxyl sulfate inhibit endothelial proliferation and wound repair. *Kidney Int.* 65: 442-51, 2004.
- 47) Yamamoto H, Tsuruoka S, Ioka T, Ando H, Ito C, Akimoto T, Fujimura A, Asano Y, Kusano E: Indoxyl sulfate stimulates proliferation of rat vascular smooth muscle cells. *Kidney Int.* 69: 1780-5, 2006.
- 48) Namba S, Okuda Y, Morimoto A, Kojima T, Morita T: Serum indoxyl sulfate is a useful predictor for progression of chronic kidney disease. *Rinsho Byori.* 58: 448-53, 2010.
- 49) Masai N, Tatebe J, Yoshino G, Morita T: Indoxyl sulfate stimulates monocyte chemoattractant protein-1 expression in human umbilical vein endothelial cells by inducing oxidative stress through activation of the NADPH oxidase-nuclear factor-B pathway. *Circ J.* 74: 2216-24, 2010.
- 50) Schroeder JC, Dinatale BC, Murray IA, Flaveny CA, Liu Q, Laurenzana EM, Lin JM, Strom SC, Omiecinski CJ, Amin S, Perdew GH: The uremic toxin 3-indoxyl sulfate is a potent endogenous agonist for the human aryl hydrocarbon receptor. *Biochemistry.* 49: 393-400, 2010.