

透析患者特異的な病態に関する尿毒素の同定

秋山泰利*1 阿部高明*2

*1 プリガム&ウイメンズ病院リウマチ科 *2 東北大学大学院医工学研究科分子病態医工学分野

key words : 尿毒素, キャピラリー電気泳動質量分析 (CE-MS)

要 旨

維持透析患者における尿毒素の血中濃度や透析による除去効率を明らかにし、透析患者特異的な病態に關与する尿毒素を同定するため、キャピラリー電気泳動質量分析 (CE-MS) にて、維持透析患者 11 名の血清中の代謝性物質濃度を網羅的に測定し、非透析慢性腎臓病 (Chronic Kidney Disease; CKD) 患者の血中濃度と比較した。検出された 122 物質のうち 38 物質で、透析前において CKD stage G5 より有意な蓄積が認められた。逆に 23 物質は透析前後とも CKD stage G5 より有意に低値であった。保存期 CKD 患者と比較し有意に蓄積または欠乏していたこれらの物質は、透析患者特異的な病態に關与している可能性があると考えられた。

1 目 的

維持透析患者は、貧血、骨ミネラル代謝異常、心血管系疾患などの合併症の発症が長期予後を悪化させる要因となっている。これらの病態に尿毒素の關与が想定されているが^{1,2)}、透析患者における各種尿毒素の血中濃度はほとんど知られておらず、また透析患者の代謝動態が保存期腎不全患者と比較しどのように変化しているのかもほとんど明らかになっていない。質量分析をはじめとした測定技術の進歩に伴い、透析患者を含む CKD 患者における様々な代謝性物質の血中濃

度に関する報告も増えてきてはいるものの^{3~7)}、定性的あるいは半定量的な測定系であるものも多く、正確な血中濃度に関する情報は未だ少ないのが現状である。

本研究は、維持透析患者の透析前後の代謝性物質の血中濃度を CE-MS にて網羅的に測定し、これを同一の測定系で算出した非透析 CKD 患者の血中濃度⁸⁾と比較することで、透析患者における代謝性物質のプロファイルを明らかにし、透析患者に特異的に蓄積する尿毒素および代謝性物質を同定することを目的とした。加えて、透析により除去され欠乏に陥りやすい物質を明らかにすることで、生体に有益な代謝性物質や栄養素の喪失が透析患者の病態に關与している可能性を検討した。また透析前後の血中濃度を比較し除去率を算出することで、透析により除去されやすい物質とされにくい物質を明らかにし、現行のダイアライザーの尿毒素除去の特性および課題を明らかにすることも目的とした。

2 方 法

標準的な血液透析 (IV 型 PS 膜ダイアライザーにて週 3 回、各 4 時間) を施行中の 11 名の患者 (女性 6 名、男性 5 名、平均年齢 61.8 ± 6.3 歳、平均透析期間 8.1 ± 8.2 年) の血液透析前後の血清を採取し、キャピラリー電気泳動質量分析 (CE-MS) にて 500 種以上の代謝性物質の血中濃度を網羅的に測定し^{8~10)}、結果を、以前われわれが報告した非透析 CKD 患者 (stage

G3 : 11 名, stage G4 : 17 名, stage G5 : 13 名) の血中濃度⁸⁾と比較した. 特に CKD stage G5 の平均血中濃度と透析前の平均血中濃度を比較することで, 透析患者に特異的に蓄積, または欠乏する物質を同定した.

さらに各物質の除去率を算出し, 透析による血中濃度の変動のプロファイルを網羅的に明らかにした. 加えて透析により各物質が有意に除去されたかを検討した. 除去率は $1 - (\text{平均透析前濃度} / \text{平均透析後濃度})$

で算出した. CKD stage G5 の血中濃度と, 透析前および透析後の血中濃度の比較には Dunnett 検定を用い, 透析前後の比較には paired t 検定を用いた. また, Benjamini-Hochberg 法にて多重比較の調整を行い, false discovery rate (FDR) < 0.05 を有意とした.

本研究はヘルシンキ宣言に基づき計画し, 東北大学倫理委員会の承認を受け行われた.

表 1 CKD stage G5 患者と比較し透析患者で有意な蓄積を示した 38 物質

	血清中濃度 (μM)			除去率	
	CKD stage G5	透析前	透析後		
A	<i>N</i> -acetylneuraminate	N.D.	13.37 \pm 4.12	6.01 \pm 1.66	55.1% ^{††}
	adipate	0.87 \pm 0.47	2.17 \pm 0.82	1.57 \pm 0.47	27.9% ^{††}
	benzoate	N.D.	49.03 \pm 21.93	41.70 \pm 24.01	15.0%
	fumarate	1.40 \pm 0.58	2.65 \pm 0.69	2.58 \pm 0.42	2.5%
	malonate	1.91 \pm 0.32	3.82 \pm 0.68	4.06 \pm 0.54	-6.1%
	decanoate	2.87 \pm 2.68	5.18 \pm 1.45	6.71 \pm 1.99	-29.6% ^{††}
	ADMA	0.65 \pm 0.10	2.84 \pm 0.83	1.52 \pm 0.38	46.7% ^{††}
	tyrosine	19.29 \pm 7.26	37.15 \pm 7.84	31.72 \pm 7.01	14.6%
	glutamate	32.52 \pm 13.86	56.49 \pm 18.25	72.59 \pm 29.74	-28.5%
	glycerophosphorylcholine	3.33 \pm 1.00	6.46 \pm 1.93	13.61 \pm 4.12	-110.8% ^{††}
B	phthalate	0.19 \pm 0.06	0.62 \pm 0.65	0.08 \pm 0.17	87.1%
	<i>N</i> -acetylglutamate	0.60 \pm 0.18	1.26 \pm 0.55	0.31 \pm 0.19	75.6% ^{††}
	gluconate	37.72 \pm 14.35	59.78 \pm 12.66	14.98 \pm 5.42	74.9% ^{††}
	<i>trans</i> -aconitate	3.40 \pm 1.27	9.08 \pm 4.62	2.51 \pm 0.81	72.4% ^{††}
	pimelate	1.54 \pm 0.61	8.31 \pm 8.07	2.58 \pm 2.72	68.9% ^{††}
	glycerophosphate	1.46 \pm 0.52	2.47 \pm 1.42	0.83 \pm 0.11	66.3% ^{††}
	saccharate	0.55 \pm 0.66	10.45 \pm 15.10	2.96 \pm 4.04	65.9%
	hippurate	31.67 \pm 19.89	179.45 \pm 152.46	63.47 \pm 51.48	64.6% ^{††}
	2-isopropylmalate	0.35 \pm 0.22	1.12 \pm 0.59	0.43 \pm 0.17	61.1% ^{††}
	<i>N</i> -acetylaspartate	1.26 \pm 0.47	3.07 \pm 1.04	1.29 \pm 0.35	57.9% ^{††}
	glutarate	3.52 \pm 1.55	9.50 \pm 1.62	4.26 \pm 1.04	55.2% ^{††}
	citramalate	2.60 \pm 0.91	5.28 \pm 4.18	2.66 \pm 1.31	49.6% [†]
	<i>cis</i> -aconitate	5.01 \pm 1.12	9.23 \pm 1.97	4.77 \pm 1.17	48.3% ^{††}
	3-indoxyl sulfate	65.57 \pm 33.84	134.30 \pm 49.18	95.88 \pm 35.95	28.6% ^{††}
	ophthalmate	0.51 \pm 0.24	1.04 \pm 0.38	0.27 \pm 0.12	74.1% ^{††}
	<i>S</i> -adenosylhomocysteine divalent	0.18 \pm 0.04	0.71 \pm 0.29	0.24 \pm 0.10	66.7% ^{††}
	trimethylamine <i>N</i> -oxide	59.13 \pm 28.10	159.91 \pm 69.00	58.48 \pm 38.66	63.4% ^{††}
	creatinine	365.49 \pm 84.78	724.76 \pm 149.62	329.32 \pm 86.25	54.6% ^{††}
	7-methylguanine	0.25 \pm 0.11	0.47 \pm 0.21	0.22 \pm 0.14	52.7% ^{††}
	<i>N</i> -acetylglucosamine	3.19 \pm 0.70	6.05 \pm 1.07	3.08 \pm 0.60	49.1% ^{††}
indole-3-acetate	3.55 \pm 0.59	11.33 \pm 4.79	6.70 \pm 2.66	40.9% ^{††}	
sarcosine	2.70 \pm 0.59	4.44 \pm 1.08	2.68 \pm 0.69	39.6% ^{††}	
cytosine	0.39 \pm 0.13	0.74 \pm 0.36	0.45 \pm 0.21	38.6% ^{††}	
5-oxoproline	35.72 \pm 7.10	50.12 \pm 11.55	32.33 \pm 5.52	35.5% ^{††}	
C	isethionate	9.53 \pm 2.26	17.45 \pm 4.14	5.23 \pm 2.15	70.0% ^{††}
	γ -butyrobetaine	2.70 \pm 0.42	4.87 \pm 0.88	1.87 \pm 0.48	61.6% ^{††}
	<i>N</i> - ϵ -acetyllysine	0.61 \pm 0.10	0.87 \pm 0.11	0.46 \pm 0.09	46.8% ^{††}
	1-methyladenosine	0.35 \pm 0.06	0.45 \pm 0.07	0.28 \pm 0.04	38.1% ^{††}

A : 透析前後とも有意に高値を示した 10 物質. B : 透析前は有意な蓄積を示したが, 透析後は同程度まで減少した 24 物質. C : 透析前は有意な蓄積を示したが, 透析後は有意な低値を示した 4 物質.
透析により有意な血中濃度変化が認められたかを paired t-test により検定し, 有意差を認めた物質は † ($p < 0.05$) および †† ($p < 0.01$) で示した. N.D. : 検出限界未満, ADMA : asymmetric dimethylarginine

3 結果

3-1 透析患者に有意に蓄積する物質

検出された122物質のうち、38物質が透析前においてCKD stage G5患者と比較し有意な血中濃度高値を示した(表1)。多くの物質は透析によりCKD stage G5と同程度、もしくはCKD stage G5より低値にまで血中濃度が低下していたが、10物質(*N*-acetylneuraminate, adipate, benzoate, fumarate, malonate, decanoate, asymmetric dimethylarginine (ADMA), tyrosine, glutamate, glycerophosphorylcholine)は、透析後においても、CKD stage G5と比較し有意な高値を示した(表1 A)。透析患者は非透析CKD患者と比較し、これらの物質に常に高濃度で暴露されている可能性が示唆された。

3-2 透析患者において有意に減少する物質

透析患者特異的な病態は尿毒素の蓄積だけではなく、生体に有益な物質の欠乏でも起こりうるとの仮説のもと、透析患者において有意に低値となる物質の同定も

行った(表2)。透析前後ともにCKD stage G5より低値を示す物質として23物質が同定された。このうち9項目(oxamate, 4-hydroxy-3-methoxybenzoate, heptanoate, 2-hydroxyoctanoate, pentanoate/3-methylbutanoate, allantoin, piperazine, 5-methyltetrahydrofolate, butanoate)は、透析患者では、透析前後とも検出限界未満であった。

3-3 透析患者に特異的な物質

非透析CKD患者と維持透析患者の代謝性物質のプロファイルの相違をより明確にするため、同定した物質を、①非透析CKD患者におけるeGFR低下との相関、および、②透析患者における蓄積および減少、の2項目で6グループに分類し表3に示した。eGFRとの相関は、われわれが以前41名のCKD患者を対象に行なった解析⁸⁾を用いた。

グループA~Cは透析患者で有意な高値を示した物質であり、グループAに分類された26項目は非透析患者と透析患者ともに蓄積傾向を示し、透析患者において有意に高濃度を示した物質である。グループBの

表2 CKD stage G5患者と比較し透析前後ともに有意な低値を示した23物質

	血清中濃度 (μ M)			除去率
	CKD stage G5	透析前	透析後	
<i>N</i> -acetyl- β -alanine	12.26 \pm 2.69	5.72 \pm 3.65	2.15 \pm 1.61	62.4% ^{††}
mucate	9.83 \pm 4.25	5.89 \pm 3.79	2.94 \pm 1.78	50.0% ^{††}
lactate	1157.84 \pm 606.72	443.01 \pm 177.55	415.96 \pm 151.39	6.1%
succinate	15.44 \pm 4.39	11.81 \pm 1.60	11.14 \pm 1.77	5.7%
citrate	122.37 \pm 37.39	86.84 \pm 30.98	82.99 \pm 20.73	4.4%
pelargonate	5.94 \pm 0.89	4.51 \pm 0.61	4.72 \pm 0.86	-4.5%
homoarginine/ <i>N</i> 6- <i>N</i> 6- <i>N</i> 6-trimethyllysine	4.52 \pm 1.65	2.93 \pm 0.67	0.87 \pm 0.28	70.3% ^{††}
<i>o</i> -acetylcarnitine	8.84 \pm 2.30	3.89 \pm 2.57	1.19 \pm 0.64	69.5% ^{††}
SDMA	2.70 \pm 0.96	0.77 \pm 0.10	0.47 \pm 0.06	38.7% ^{††}
lysine	182.11 \pm 39.37	127.47 \pm 28.22	89.61 \pm 13.98	29.7% ^{††}
methionine sulfoxide	2.55 \pm 0.43	1.94 \pm 0.44	1.37 \pm 0.17	29.6% ^{††}
histidine	82.03 \pm 18.25	65.60 \pm 13.62	49.04 \pm 8.50	25.2% ^{††}
glutamine	565.78 \pm 86.35	523.76 \pm 60.64	399.95 \pm 40.11	23.6% ^{††}
methionine	25.15 \pm 8.36	18.20 \pm 4.50	15.53 \pm 3.32	14.7%
oxamate	5.61 \pm 3.41	N.D.	N.D.	N.A.
4-hydroxy-3-methoxybenzoate	449.21 \pm 91.23	N.D.	N.D.	N.A.
heptanoate	1.46 \pm 0.14	N.D.	N.D.	N.A.
2-hydroxyoctanoate	0.54 \pm 0.35	N.D.	N.D.	N.A.
pentanoate/3-methylbutanoate	8.52 \pm 2.77	N.D.	N.D.	N.A.
allantoin	24.61 \pm 4.92	N.D.	N.D.	N.A.
piperazine	24.23 \pm 2.44	N.D.	N.D.	N.A.
5-methyltetrahydrofolate	1.11 \pm 0.36	N.D.	N.D.	N.A.
butanoate	7.43 \pm 2.06	N.D.	N.D.	N.A.

透析により有意な血中濃度変化が認められたかを paired t-test により検定し、有意差を認めた物質は†† ($p < 0.01$) で示した。N.D.: 検出限界未満, N.A.: 検出限界未満のため除去率算出不能, SDMA: symmetric dimethylarginine

表3 透析患者特異的に蓄積および減少する物質

	CKD stage G5 と比較した、透析患者における透析前血中濃度	
	高 値	低 値
eGFR の低下に伴う 変化	↗ グループ A: 透析患者において有意に蓄積した 26 物質 adipate*, malonate*, ADMA*, phthalate, N-acetylglutamate, gluconate, trans-aconitate, pimelate, hippurate, 2-isopropylmalate, N-acetylaspartate, glutarate, citramalate, cis-aconitate, 3-indoxyl sulfate, isethionate, ophthalmate, trimethylamine N-oxide, creatinine, 7-methylguanine, N-acetylglucosamine, indole-3-acetate, cytosine, γ -butyrobetaine, N- ϵ -acetyllysine, 1-methyladenosine	グループ D: 透析患者において有意に低濃度を示した 8 物質 N-acetyl- β -alanine, succinate, citrate, SDMA, methionine sulfoxide, oxamate [†] , 4-hydroxy-3-methoxybenzoate [†] , allantoin [†]
	→ グループ B: 透析患者特異的に蓄積した 10 物質 N-acetylneuraminatinate*, benzoate*, fumarate*, decanoate*, glycerophosphorylcholine*, glycerophosphate, saccharate, S-adenocylhomocysteine divalent, sarcosine, 5-oxoproline	グループ E: 透析患者に特異的に減少した 14 物質 mucate, pelargonate, homoarginine/N6-N6-N6-trimethyllysine, o-acetylcarnitine, lysine, histidine, glutamine, methionine, heptanoate [†] , 2-hydroxyoctanoate [†] , pentanoate/3-methylbutanoate [†] , piperazine [†] , 5-methyltetrahydrofolate [†] , butanoate [†]
	↘ グループ C: eGFR の低下に伴い減少するが、透析患者 では減少しない 2 物質 tyrosine*, glutamate*	グループ F: eGFR の低下に伴い減少し、透析患者でより低濃 度を示した 1 物質 lactate

非透析 CKD 患者との比較で有意差を認めた 61 物質を、透析患者における血中濃度と、非透析 CKD 患者における eGFR との相関 (文献 8) をもとに 6 グループに分類した。

↗: eGFR の減少とともに蓄積する物質, →: eGFR と相関を示さなかった物質, ↘: eGFR の減少とともに減少する物質。

*: 透析前後とも CKD stage G5 と比較し高濃度を示した物質, †: 透析前後ともに検出限界未満だった物質。

ADMA: asymmetric dimethylarginine, SDMA: symmetric dimethylarginine.

10 項目は非透析 CKD 患者では eGFR が低下しても有意な変化を認めなかった物質であり、透析患者特異的に蓄積する傾向があると言える。グループ C の 4 項目は eGFR の低下により減少するものの、透析患者においては非透析患者のような減少は認められなかった物質である。

次に、透析前後ともに低値だった項目をグループ D~F に分類した。グループ D は非透析 CKD 患者において eGFR の低下に伴い蓄積する項目である。これらの物質は CKD stage G5 と比較し蓄積が軽度であることが示唆された。グループ E は非透析患者では明らかな変動を示さず、透析患者で有意に低値を示した物質であり、これらの物質は透析患者で特異的に減少しやすい傾向があると考えられた。グループ F に分類された lactate は eGFR の低下とともに減少傾向を示し、透析患者では CKD stage G5 よりさらに低値を示した物質である。

3-4 除去率

除去率は物質ごとにさまざまな値 (87.1~260.1%) を示したが (表 1, 2 および data not shown), 122 項目中 70 項目は透析により有意な血中濃度の低下を認めた。しかしながら 47 項目は透析前後で有意な除去を認めず、さらに 5 物質 (decanoate, laurate, 4-methyl-2-oxopentanoate, glycerophosphorylcholine, tryptophan) は透析により血中濃度の有意な上昇を認めた。

4 考 察

本研究は透析患者特異的な病態に関わる尿毒素の同定を第一の目的とした。CE-MS による網羅的測定により、透析前において非透析 CKD 患者に対して有意に高濃度を示す 38 物質を同定した。これらの物質は非透析 CKD 患者より高濃度になりうることから、透析患者特異的な病態に関与する可能性があると考えられた。

尿毒素は一般的に、非透析 CKD 患者において腎機能の低下とともに蓄積する代謝性物質（腎不全物質）のうち生体に対し毒性を持つものと定義される。しかしながら本研究において、eGFR の低下と有意な相関を示さなかった物質の中でも、維持透析患者に有意に蓄積する物質があることが明らかとなった（表3グループB）。特に *N*-acetylneuraminic acid および benzoate は非透析 CKD 患者では CKD stage G5 においても測定検出限界未満であった。これらの物質は透析患者特異的な腎不全物質と言えると考えられた。一方、表3グループAに分類される物質は、非透析 CKD 患者において eGFR の低下とともに蓄積する物質であり、非透析 CKD 患者と透析患者に共通した腎不全物質であると言える。

本研究で同定した物質の大半は生理的な機能が明らかとなっておらず、透析患者において有意な蓄積を示した物質が、実際に尿毒素として病態に関与するかを明らかにするためにはさらなる検討が必要である。しかしながら、維持透析患者において高濃度を示した38物質のうち、hippurate, 3-indoxyl sulfate, ADMA, trimethylamine-*N*-oxide, indole-3-acetate などは毒性が報告されており、尿毒素として分類されている¹¹⁻¹⁴。またわれわれは、*trans*-aconitate が腎機能の低下とともに蓄積し *in vitro* および *in vivo* で毒性を示すことを報告している¹⁵。維持透析患者はこれらの尿毒素に CKD stage G5 患者より高濃度でさらされており、病態の形成にこれらの尿毒素が関与している可能性が考えられる。

本研究では、維持透析患者において有意に低濃度を示す23物質も同定した。表3のグループDに示した8物質は、腎機能の低下とともに蓄積する腎不全物質のうち、透析患者において有意に低濃度を示した物質である。これらの中で SDMA は、心血管障害との関連および単球における酸化ストレス産生などが報告されている¹⁶。維持透析患者は非透析 CKD 患者と比較し SDMA の毒性が低減している可能性がある。また、透析患者において低濃度を示した物質においては、欠乏による悪影響も考慮する必要がある。表3のグループEに示した14物質は、非透析 CKD 患者では腎機能の低下に伴う有意な変化はなく、透析患者特異的に減少を認めた物質である。これらの欠乏も透析患者における病態に関与している可能性があると考えられる。

例えば 5-methyltetrahydrofolate は血中を循環する葉酸の主要な誘導体であり、DNA 合成や細胞分裂に深く関わる補酵素であるが¹⁷、透析患者では透析前後ともに検出限界未満であった。血中葉酸濃度の低下がただちに葉酸欠乏を反映するわけではないものの¹⁸、本結果は維持透析患者が葉酸欠乏に陥りやすい可能性を示唆していると考えられた。

また butanoate（酪酸）は炭素数4の短鎖脂肪酸として知られている。短鎖脂肪酸群は腸内細菌叢によって産生され、特に butanoate は colonocyte の主要な栄養源であることが報告されている¹⁹。維持透析患者は butanoate 産生酵素を持つ腸内細菌叢が減少しているという報告があり²⁰、本結果は透析患者における腸内細菌叢の変化を反映している可能性が考えられる。その他の短鎖脂肪酸では、炭素数6の hexanoate の血中濃度は CKD stage G5 と同程度であり、透析による血中濃度の変動も認められなかったが（data not shown）、炭素数5の pentanoate/3-methylbutanoate（表2）および炭素数7の heptanoate（data not shown）は、butanoate と同様に、透析患者においては透析前後ともに検出限界未満であった。短鎖脂肪酸は colonocyte の維持だけでなく抗炎症作用、抗腫瘍作用、抗菌作用など生体に有益な多彩な機能が報告されており²¹、本結果は維持透析患者において短鎖脂肪酸の欠乏が病態に関与する可能性を示唆するものと考えられた。

本研究では各物質の除去率も算出した。今回行った CE-MS の対象となる物質の分子量は500未満であり、アルブミンなどに結合しないフリーの状態が存在すれば、理論上ダイアライザーを容易に通過し、透析により除去される。したがって、本研究で得られた除去率は各物質の蛋白結合能をある程度反映しているものと考えられる。例えば、3-indoxyl sulfate（インドキシル硫酸）は蛋白結合型の尿毒素として知られており、除去率は28.6%と比較的低値を示した。一方、可溶性（非蛋白結合型）の尿毒素として知られる guanidino-succinate の除去率は76.7%と高値であった（data not shown）。しかしながら、透析後の組織から血中への物質の再分布なども血中濃度の変化に影響を与えることが示唆されている^{22, 23}。本研究では透析液排液の解析は行っておらず、透析による正確な除去量を算出することは不可能である。透析による代謝性物質除去のプロファイルを明らかにするためにはさらなる検討が

必要である。

5 結論

維持透析患者の透析前後の血清を CE-MS を用いて網羅的に測定することにより、非透析 CKD 患者と比較し有意に蓄積する 38 物質、および有意な減少を認める 23 物質を同定した。透析患者において有意に蓄積した 38 物質のうち 10 物質 (*N*-acetylneuraminic acid, adipic acid, benzoic acid, fumaric acid, malonic acid, decanoic acid, ADMA, tyrosine, glutamic acid, glycerophosphorylcholine) は、透析後においても CKD stage G5 と比較し有意に高濃度であり、透析患者はこれらの物質に常に高濃度でさらされていることが示唆された。また透析患者において有意に蓄積した 38 物質中 10 物質 (表 3 グループ B)、および有意な減少を認めた 23 物質中 14 物質 (表 3 グループ E) は非透析 CKD 患者において有意な変動を示さなかったことから、これらは透析患者に特異的な変化であることが示唆された。これらの物質の蓄積および欠乏が透析患者特異的な病態に関与している可能性があると考えられた。

本研究は、維持透析患者における病態および尿毒素の動態の特異性を明らかにするだけでなく、より高効率に尿毒素を除去し、かつ有益な物質の漏出を防ぐ新規ダイアライザーの開発のためにも非常に有益な情報となりうると考えられた。

平成 25 年度日本透析医会公募研究助成により得られた結果は原著論文として投稿中であり、二重投稿となることを避けるため、本報告書ではその概要を総説的に記載した。

文 献

- 1) Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P : The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome — the heart of the matter. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 (Suppl 11) : 28-31.
- 2) Depner TA : Uremic toxicity : urea and beyond. *Semin Dial* 2001; 14 : 246-251.
- 3) Tanaka H, Sirich TL, Plummer NS, et al. : An Enlarged Profile of Uremic Solutes. *PLoS One* 2015; 10 : e0135657.
- 4) Sato E, Kohno M, Yamamoto M, et al. : Metabolomic analysis of human plasma from haemodialysis patients. *Eur J Clin Invest* 2011; 41 : 241-255.
- 5) Rhee EP, Souza A, Farrell L, et al. : Metabolite profiling identifies markers of uremia. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21 : 1041-1051.
- 6) Kikuchi K, Itoh Y, Tateoka R, et al. : Metabolomic analysis of uremic toxins by liquid chromatography/electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2010; 878 : 1662-1668.
- 7) Duranton F, Cohen G, De Smet R, et al. : Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23 : 1258-1270.
- 8) Toyohara T, Akiyama Y, Suzuki T, et al. : Metabolomic profiling of uremic solutes in CKD patients. *Hypertens Res* 2010; 33 : 944-952.
- 9) Soga T, Ohashi Y, Ueno Y, et al. : Quantitative metabolome analysis using capillary electrophoresis mass spectrometry. *J Proteome Res* 2003; 2 : 488-494.
- 10) Akiyama Y, Takeuchi Y, Kikuchi K, et al. : A metabolomic approach to clarifying the effect of AST-120 on 5/6 nephrectomized rats by capillary electrophoresis with mass spectrometry (CE-MS). *Toxins (Basel)* 2012; 4 : 1309-1322.
- 11) Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, et al. : Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011; 472 : 57-63.
- 12) Vanholder R, Schepers E, Pletinck A, et al. : An update on protein-bound uremic retention solutes. *J Ren Nutr* 2012; 22 : 90-94.
- 13) Niwa T : Indoxyl sulfate is a nephro-vascular toxin. *J Ren Nutr* 2010; 20 : S2-6.
- 14) Jourde-Chiche N, Dou L, Cerini C, et al. : Vascular incompetence in dialysis patients — protein-bound uremic toxins and endothelial dysfunction. *Semin Dial* 2011; 24 : 327-337.
- 15) Toyohara T, Suzuki T, Morimoto R, et al. : SLCO4C1 transporter eliminates uremic toxins and attenuates hypertension and renal inflammation. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20 : 2546-2555.
- 16) Schepers E, Glorieux G, Dhondt A, et al. : Role of symmetric dimethylarginine in vascular damage by increasing ROS via store-operated calcium influx in monocytes. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24 : 1429-1435.
- 17) Crider KS, Yang TP, Berry RJ, et al. : Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. *Adv Nutr* 2012; 3 : 21-38.
- 18) Lee EY, Kim JS, Lee HJ, et al. : Do dialysis patients need extra folate supplementation? *Adv Perit Dial* 1999; 15 : 247-250.
- 19) Donohoe DR, Garge N, Zhang X, et al. : The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon. *Cell Metab* 2011; 13 : 517-526.
- 20) Wong J, Piceno YM, Desantis TZ, et al. : Expansion of urease- and uricase-containing, indole- and p-cresol-forming and contraction of short-chain fatty acid-producing intestinal micro-

- biota in ESRD. *Am J Nephrol* 2014; 39 : 230-237.
- 21) Tan J, McKenzie C, Potamitis M, et al. : The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol* 2014; 121 : 91-119.
- 22) Rogachev B, Ohayon S, Saad A, et al. : The effects of hemodialysis on blood glutamate levels in chronic renal failure : implementation for neuroprotection. *J Crit Care* 2012; 27 : 743 e1-7.
- 23) Kielstein JT, Boger RH, Bode-Boger SM, et al. : Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease : relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 : 594-600.