

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

松澤直輝

Studies on the relationship between serum albumin concentration and lipid peroxidation in the erythrocyte membrane of maintenance hemodialysis patients

Naoki MATSUZAWA

First Department of Internal Medicine, Kyorin University School of Medicine, Tokyo, Japan

We conducted a study on the long-term prognosis of maintenance hemodialysis patients with and without diabetes mellitus (144 cases). As a result, significant differences were observed in the long-term prognosis over a 15-year period between those with a serum albumin concentration of more than 3.8 g/dl and those with a serum albumin concentration of less than 3.8 g/dl. The group with a serum albumin concentration of more than 3.8 g/dl showed a better prognosis than the group with a concentration of less than 3.8 g/dl.

We investigated the levels of thiobarbituric acid-reactive substances (TBA-RS) in the erythrocyte membrane of maintenance hemodialysis patients (23 cases), pre-dialysis uremic phase patients (12 cases) and healthy controls (7 cases). TBA-RS in the erythrocyte membrane of pre-dialysis uremic phase patients was higher than that observed in the other groups. The TBA-RS in the erythrocyte membrane in the maintenance hemodialysis without diabetes mellitus group was lower than that in the pre-dialysis uremic phase group. The TBA-RS in the erythrocyte membrane in the maintenance hemodialysis without diabetes mellitus group thus indicated an inverse relationship with the serum albumin concentration, Kt/V and erythrocyte tocopherol contents. These results suggested that serum albumin protects against erythrocyte membrane lipid peroxidation, and that this function is related to hemodialysis.

We thus conclude that hypoalbuminemia appears to increase the oxidative damage and acceleration of arteriosclerosis, while it also worsens the long-term prognosis of maintenance hemodialysis patients.

Jpn J Nephrol 2001 ; 43 : 55-62.

Key words : erythrocyte membrane, serum albumin, lipid peroxidation, glutathione peroxidase, hemodialysis

緒言

血液透析導入例の高齢化，長期維持透析例の増加に伴って動脈硬化性合併症が透析例の長期予後に与える影響が重要視されている。日本透析医学会統計調査委員会の報告¹⁾でも，脳血管障害，心筋梗塞，心不全などが維持透析例の主要な死亡原因とされており，高カリウム血症や尿毒症など腎不全そのものの病態に起因する死亡例は稀である。ま

た，維持透析例の1年生存率に与えるリスクとして，Kt/Vの低値，%クレアチニン産生率の低値などとともに低アルブミン血症の存在が指摘されている¹⁾。従来，低アルブミン血症は血漿 insulin-like growth factor-1 濃度と同様に慢性的な低栄養の指標と解釈されており，栄養状態の不良が長期予後悪化の原因と考えられてきた²⁾。しかし，その構造中にSH基をもつ血漿アルブミンは血漿中の他のthiol類と同様に血漿の還元能に重要な役割を果たし，血

漿アルブミン濃度が低下した状態では赤血球膜脂質の過酸化が亢進することをわれわれは報告してきた³⁾。一方、赤血球膜の tocopherol 量の増減は臓器の tocopherol 含量を良好に反映することが知られている⁴⁾。そこで維持血液透析例を対象に低アルブミン血症と長期予後の関係を検討し、さらに維持血液透析症例、保存期慢性腎不全症例を対象に赤血球膜脂質の過酸化の程度と赤血球膜の tocopherol 量、血漿アルブミン濃度、また赤血球内の抗酸化酵素活性の関連を検討した。

対象と方法

1. 対象症例

当院および関連施設で 1982 年から 1997 年の間に維持血液透析を施行した症例で、最終的に 1997 年の段階で予後が判明している 144 例を長期予後調査の対象とした。最長経過観察期間は 15 年間とした。長期予後の検討では血液透析への導入から半年以上経過した時点、もしくは転入症例では転入後半年以上経過した時点から毎月はじめに一度、1 年間分の臨床検査結果を平均した値を用いた。採血は週はじめの透析前に行った。また、臨床検査データの検討から半年以内に死亡した症例は、死亡直前のデータとみなし統計調査から除外した。さらにこれらの症例の観察期間中、血液生化学データの安定した外来通院中の週 3 回の維持透析例 23 例を対象に、週はじめの透析前において赤血球膜 thiobarbituric acid-reactive substances (TBA-RS)、赤血球膜 tocopherol 量、血漿アルブミン濃度、また赤血球内の glutathione peroxidase (GSH-Px) 活性を測定した。また、保存期慢性腎不全 12 例についても同様の項目につ

いて測定を行い、健常成人 7 名を正常コントロールとした。検討対象症例の臨床的背景を一括して Table 1 に示した。

2. 検査項目と測定方法

1) 赤血球膜の調整と TBA-RS の測定

対象とした患者には本研究の主旨を説明し、同意を得たうえで採血を行った。ヘパリンを添加したガラス試験管に全血 15 ml を採取し、直ちに 4°C、3,000 rpm で 20 分間遠心し血漿を分離した。採取した赤血球は pH 8.0、5.0 mM の phosphate buffer で 3 回洗浄し、Bruton ら⁵⁾の方法に従ってさらにモル濃度を 2.5、1.25 と段階的に希釈した phosphate buffer で洗浄を繰り返し、赤血球の white ghost membrane を得た。赤血球の white ghost membrane を氷水中で超音波ホモジェナイザーで破砕した溶液とし、TBA-RS 測定の試料とした。また、赤血球膜脂質酸化物 (lipid hydroperoxide, malonaldehyde) の測定は Yagi⁶⁾によって報告された total 2-thiobarbituric acid reactive substances を測定する fluorometric assay によった。赤血球膜 TBA-RS の測定結果は溶血前の赤血球数で補正し TBA-RS nmol/10¹⁰RBC で表示することとした。

2) 赤血球膜 tocopherol 含量の測定

Tocopherol は脂溶性ビタミンであり、その溶出にはケン化法による抽出が必要である⁷⁾。1 ml の 50% 赤血球浮遊液を調整し、0.5 ml phosphate buffer (pH 7.4, 0.15 M)、0.27 mM の EDTA、また抗酸化剤として 6% pyrogallol 1 ml を加えた ethanol 溶液を遠心管に作製した。1 ml の al-ractocol 溶液 (2 μg/ml ethanol) を内部標準として 70°C で 2 分間プレインキュベートした。その後 60% KOH 0.2 ml を添加し、再び 70°C で 30 分間インキュベートした。十

Table 1. Clinical background of the patients enrolled into the study

1) 109 cases with maintenance hemodialysis (non-DM) and 35 cases with maintenance hemodialysis secondary to diabetic nephropathy (DM)

	Total	Average age	Male/Female	Duration on HD
	144	56.8 ± 14.6	1.4 : 1	6.20 ± 4.73
Maintenance HD pt (non DM)	109	55.5 ± 15.6	1.1 : 1	7.14 ± 5.01
Maintenance HD pt (DM)	35	60.9 ± 10.3	2.9 : 1	3.27 ± 1.70

2) Clinical and laboratory characteristics of uremic patients subjected to our biochemical study

	Total	Average age	Male/Female	Serum Cr	Serum UN	KT/V
Pre-dialysis uremic pt	12	64.4 ± 12.8	1 : 1	6.4 ± 2.3	72.6 ± 29.4	—
Maintenance HD pt non DM	18	60.8 ± 12.8	1 : 1.1	11.8 ± 1.9	—	1.16 ± 0.27
DM	5	53.0 ± 16.2	1 : 1.5	10.1 ± 2.9	—	1.03 ± 0.33
Healthy control	7	30.4 ± 3.1	1 : 0.77	0.9 ± 0.18	10.6 ± 4.32	—

Table 2. Clinical and laboratory findings in patients with chronic hemodialysis in comparison with survivors(109 cases) and non survivors(35 cases) during 15 years

	Alive	Death	p-value
N	109	35	
Age	53.9±12.9	62.1±10.0	p=0.001
TP	6.7±0.56	6.4±0.74	p=0.022
ALB	4.0±0.27	3.5±0.51	p<0.0001
T-CHO	168.2±33.3	160.3±32.6	NS
TG	128.3±63.7	175.0±180.1	NS
pre-HD BUN	80.9±15.6	77.3±14.8	NS
pre-HD Cr	13.7±9.88	9.38±3.04	p=0.0007
Ht	26.1±6.14	26.6±4.02	NS
CHEase	3.84±0.76	3.38±12.6	NS
Fe	70.8±20.3	69.9±28.3	NS
TIBC	275.7±48.8	242.3±52.8	p=0.0036
Ferritin	97.5±117	110±131	NS
KT/V	1.09±0.23	0.92±0.26	p=0.0008
SBW	93.9±17.5	95.5±18.3	NS
BMI	20.3±3.06	20.3±3.37	NS

分冷却した後、2.5 ml の水と 5 ml の hexane を遠心管に加え 5 分間振騰し、3,000 rpm で 5 分間遠心し hexane 層を除去した。残りの溶液は窒素ガス環流下、37°C で乾固し、hexane 0.5 ml に溶解して HPLC カラムに灌流した。

3) 赤血球内 GSH-Px 活性の測定

赤血球内 GSH-Px の測定は Mimic-Oka らの方法⁹⁾によった。採取した全血は 4°C 下 2,700 rpm で 10 分間遠心し血漿を除去した。冷却した生理食塩水で赤血球を洗浄し、1:20 容の蒸留水に再浮遊させ溶血させた。溶液を再び 10,000 rpm で 20 分間遠心し上清を GSH-Px 活性測定の試料とした。GSH-Px 活性の測定は NADPH の減少速度を吸光度(340 nm)で測定する Gunzler らの方法に従った⁹⁾。測定結果はヘモグロビン濃度で補正し、 $\mu\text{mol NADPH}/\text{min}/\text{g Hb}$ で表示することとした。

4) 生化学検査と統計処理

BUN、血清クレアチニン、血漿アルブミンの測定には日立 7450 型自動分析機を用いた。採血は血液透析開始直前に行った。

いずれの測定結果も平均値±標準偏差(SD)で表示した。群間の有意差検定には Student's t-test を用い、 $p<0.05$ 以下を有意とした。相関係数の検定には Pearson's r を用いた。また、維持透析例の長期予後の比較には Kaplan-Meier 法を用いた。

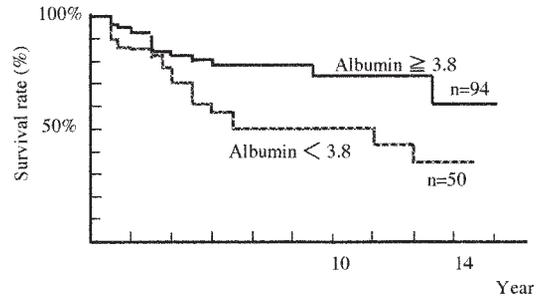


Fig. 1. Survival curves on maintenance hemodialysis patients

Persistent hypoalbuminemia (<3.8 g/dl) worsens their long term prognosis. The group of serum albumin concentration above 3.8 g/dl was 94 cases. The group of serum albumin concentration below 3.8 g/dl was 50 cases.

結 果

1. 維持血液透析例の長期予後

全経過観察症例を対象とした臨床データの比較を Table 2 に示した。年齢、血清総蛋白(TP)、血清クレアチニン、血清 TIBC、Kt/V の低値などとともに低アルブミン血症の持続は生命予後の独立した危険因子であった。死亡例の内訳は、脳血管障害、心筋梗塞など動脈硬化性病変による例が 18 例(51.5%)、感染症による死亡例が 6 例(17.1%)、心不全 5 例(14.3%)と血管障害による死亡例が半数以上を占めた。血漿アルブミン濃度の平均値 3.8 g/dl より高値を持続した群とそれ以下の値を持続した 2 群に分けて生存率を比較した結果を Fig. 1 に示した。血漿アルブミン濃度が維持されていた例の 15 年生存率が 75.0%であったのに比較して低アルブミン血症が持続した例では 45.1%と両群間で生命予後に有意差が認められた。

低アルブミン血症が抗酸化能の低下を介して動脈硬化を促進することで長期予後が不良となった可能性を検討するために、維持血液透析症例において赤血球膜脂質の過酸化と血漿アルブミン値との関連を以降に検討した。

2. 維持透析例、保存期慢性腎不全例、健常対象での赤血球膜 TBA-RS 値

Fig. 2 に維持透析例 23 症例を糖尿病性腎症による慢性腎不全透析例と非糖尿病(慢性糸球体腎炎、多発性嚢胞腎)による慢性腎不全透析例の 2 群に分けて赤血球膜 TBA-RS 値の測定結果を示した。また、比較の目的で透析導入直前の保存期慢性腎不全例と健常対照例の測定結果を合わせて示した。非糖尿病安定維持透析例では赤血球膜脂質の

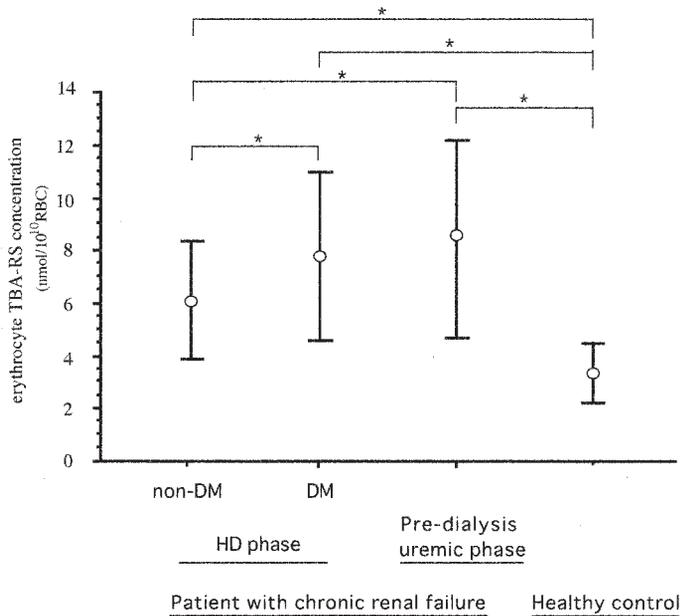


Fig. 2. Comparison of erythrocyte TBA-RS concentrations in maintenance hemodialysis patients (HD phase), pre-dialysis uremic phase patients and healthy controls

Erythrocytes TBA-RS concentration in maintenance hemodialysis patients (non-DM) are significantly lower than those in pre-dialysis uremic patients and maintenance hemodialysis patients (DM). (* $p < 0.05$)

過酸化は亢進していたものの、透析導入前の保存期慢性腎不全に比較して低下していた。一方、糖尿病透析例では赤血球膜脂質の高度な過酸化を示す例が認められた。糖尿病透析症例と保存期慢性腎不全症例の間に有意差は認めなかったが、健常対照例を含む他の群間ではそれぞれ統計学的な有意差が見られた。

3. 維持透析例、保存期慢性腎不全例、健常対照例での赤血球膜 tocopherol 量

赤血球膜 tocopherol 量の測定結果を Fig. 3 に示した。右端に示した健常対照例と比較して保存期慢性腎不全例、維持透析例いずれも有意な低下を示す群は見られなかった。むしろ非糖尿病維持透析症例のほうが対象例よりも高値を示した。

4. 維持透析例、保存期慢性腎不全例、健常対照例での赤血球 GSH-Px 活性

各群での赤血球 GSH-Px 活性の測定結果を Fig. 4 に示した。維持透析例、保存期腎不全例いずれの群でも赤血球 GSH-Px 活性は保たれていた。非糖尿病透析例、保存期慢性腎不全例ではむしろ赤血球 GSH-Px 活性の高値を示す例が多く認められた。

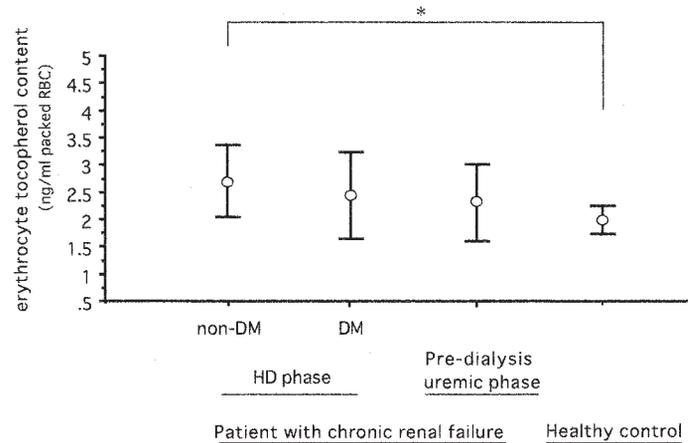


Fig. 3. Comparison of erythrocyte tocopherol contents in maintenance hemodialysis patients (HD), pre-dialysis uremic phase patients and healthy control

Erythrocyte tocopherol contents in HD patients are significantly higher than those in the healthy controls. (* $p < 0.05$)

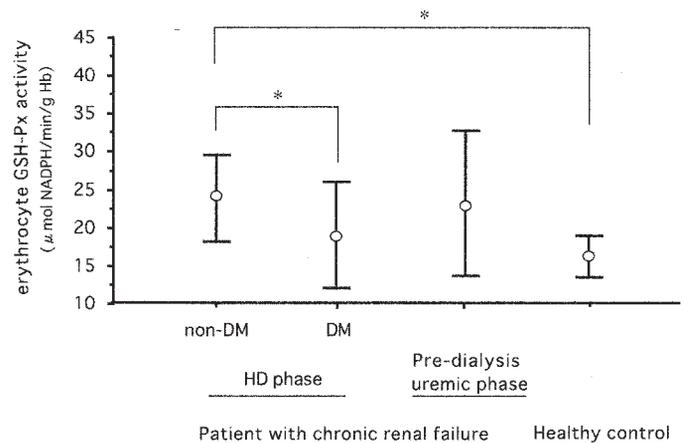


Fig. 4. Comparison of erythrocyte GSH-Px activity in maintenance hemodialysis patients (HD), pre-dialysis uremic phase patients and healthy control

Erythrocyte GSH-Px activity in HD patients (non-DM) are significantly higher than those in the healthy control. (* $p < 0.05$)

5. 赤血球膜 TBA-RS の測定結果に相関する種々の臨床的パラメータ

維持透析例のみを対象とした赤血球膜 TBA-RS の測定結果と血漿アルブミン濃度、赤血球膜 tocopherol 量および赤血球 GSH-Px 活性、Kt/V との直線相関と相関係数の検定の結果を一括して Table 3 に示した。赤血球膜 TBA-RS と血漿アルブミン濃度との間には有意な負の相関が認められた (Fig. 5)。また、赤血球膜 TBA-RS と赤血球 tocopherol 量との間にも有意な負の相関が見られた (Fig. 6)。非糖尿病維持透析症例において赤血球膜 TBA-RS についての重回帰分析を行ったところ、R²乗値は 0.878、

Table 3. The correlations between biochemical and clinical parameters in patients on maintenance hemodialysis secondary to chronic glomerulonephritis

Erythrocyte TBA-RS concentration	Serum albumin concentration	$r = -0.52$ $p < 0.05$
Erythrocyte TBA-RS concentration	Erythrocyte tocopherol content	$r = -0.53$ $p < 0.05$
Erythrocyte TBA-RS concentration	GSH-Px activity in RBCs	NS
Erythrocyte TBA-RS concentration	KT/V	NS
GSH-Px activity in RBCs	KT/V	NS

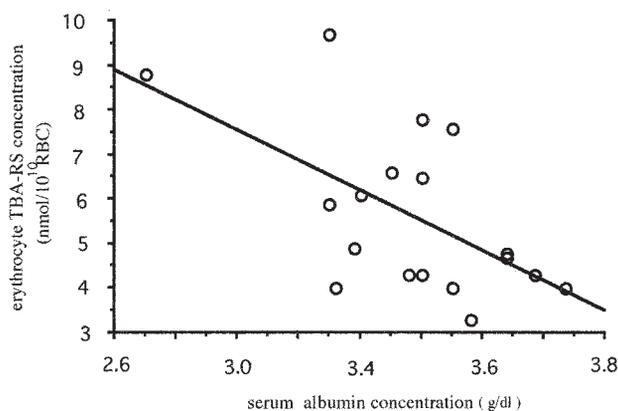


Fig. 5. Correlation between the serum albumin level and erythrocyte TBA-RS concentrations in patients on maintenance HD (non-DM)

The erythrocyte TBA-RS concentration shows a significant inverse relation with the serum albumin concentrations. ($r = -0.578$, $p < 0.05$)

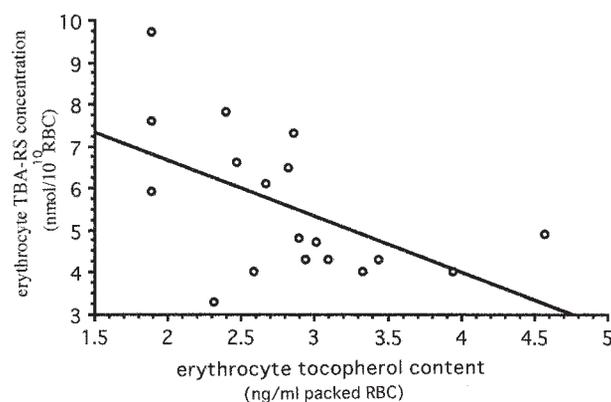


Fig. 6. Correlation between the erythrocyte TBA-RS concentrations and erythrocyte tocopherol contents in patients on maintenance HD (non-DM)

The erythrocyte TBA-RS concentration shows a significant inverse relation with the erythrocyte tocopherol contents. ($r = -0.540$, $p < 0.05$)

Table 4. Multiple regression analysis of the erythrocyte membrane TBA-RS concentration and the other parameters in non diabetic maintenance hemodialysis patients

	Coefficient	Standard error	Standard coefficient	t value	p value
Intercept	25.776	2.436	25.776	10.579	<0.0001
Serum albumin concentration	-3.349	0.567	-0.75	-5.908	<0.0001
Erythrocyte tocopherol content	-5.933	1.104	-0.580	-5.373	<0.0005
Patient's age	-0.083	0.015	-0.559	-5.455	<0.0005
Kt/V	-1.510	0.690	-0.225	-2.190	<0.05

回帰分析 p 値は 0.0001 未満で、Table 4 に示すように血漿アルブミン、赤血球膜 tocopherol 量、年齢、直線相関の認められなかった Kt/V のいずれも赤血球膜脂質過酸化を抑制する因子であると考えられた。

考 察

持続する低アルブミン血症が維持血液透析例の生命予後不良の予測因子となることが 1990 年に Lowrie ら¹⁰⁾に

よって報告され、本邦でも Iseki ら¹¹⁾による同様の疫学調査の結果が報告されている。従来、維持透析例にみられる低アルブミン血症は慢性的な低栄養状態を反映した結果と考えられてきた。また、1987 年、Aoyagi らは低栄養および glutathione レベルの低下が酸化ストレスを増強させると報告している¹²⁾。一方、血漿アルブミンは glutathione などの thiol と同様にその構造中の SH 基が酸化されることで還元能を発揮することが知られている。寺島ら¹³⁾は透析患者の血漿中の SH 化合物の測定結果からアルブミンや

低分子 thiol 化合物の SH 基は健常者に比較して明らかに酸化に傾いた状態であると報告している。また、高速液体クロマトグラフィを用いた検討の結果では、血液透析終了直後の血漿で還元型アルブミン(human mercapt-albumin)が有意に増加するとされている^{13,14)}。一方、アルブミンはセルロプラスミンと同様に銅イオンとの特異的結合サイトを有し、銅イオンによる赤血球膜脂質の過酸化による溶血を阻止する¹⁵⁾。さらに血漿アルブミンは hydroxyl radicals¹⁶⁾、HOCl¹⁵⁾、peroxy radicals¹⁷⁾とも反応してそれらを scavenge すると報告されている。また、アルブミンと結合したビリルビンは脂質の過酸化反応を抑制することが知られている¹⁸⁾。

アルブミンは小さな可溶性の蛋白として約 40 mg/ml と血漿中に高濃度に存在する。アルブミンは血漿浸透圧の維持や様々な物質の輸送にかかわっており、その半減期は約 20 日と考えられている。生理的条件下では血漿量が 3 l とすると毎日 3 g のアルブミンが肝で合成されていることになる。adenine 誘発慢性腎不全ラットを用いた Yokozawa らの報告¹⁹⁾では腎不全状態ではアルブミンの合成は肝でのアルブミン mRNA レベルで減少しているとされている。ラジオアイソトープを用いた代謝性アシドーシスによるアルブミン代謝への影響を検討した報告では、代謝性アシドーシスによって窒素バランスは負に傾きアルブミンの合成が減少することが観察されている²⁰⁾。

透析患者は健常者に比較してより強い酸化的ストレスに曝されているとする多くの報告がある。thiobarbituric acid 法による血漿中の脂質過酸化物の増加²¹⁾、化学発光 HPLC 法による phosphatidylcholine hydroperoxyde(PC-OOH)の高値²²⁾、モノクローナル抗体を用いた酸化 LDL の上昇²³⁾などである。Taccone-Gallucci ら²⁴⁾は血清クレアチニン値が 5 mg/dl 以上になると赤血球膜脂質の過酸化を生ずるとしている。今回の検討の結果でも保存期慢性腎不全、維持透析例いずれの群も健常対照例と比較して赤血球膜脂質の過酸化は明らかに亢進していた。特に糖尿病透析例で赤血球膜 TBA-RS 高値例が多くみられた。糖尿病症例では血中過酸化脂質の増加²⁵⁾、血中 PC-OOH の上昇²⁶⁾、superoxide dismutase(SOD)の糖化による抗酸化能の低下²⁷⁾などの報告があり、これらも赤血球膜 TBA-RS 値の上昇に関与していると考えられた。保存期慢性腎不全と糖尿病性腎症を除いた維持透析例との比較では赤血球膜 TBA-RS は保存期慢性腎不全でより高値であった。しかし、赤血球内 GSH-Px 活性の測定結果では赤血球膜 TBA-RS 高値例でも GSH-Px 活性の低下はみられなかつ

た。これは Muller ら²⁸⁾による透析症例の GSH-Px の検討の結果と同様であった。赤血球内の SOD 活性を検討した臨床例の報告でも同様の結果である²⁹⁾。これらのことは、慢性腎不全でみられた赤血球膜脂質の過酸化の原因がセレンの欠乏による GSH-Px 活性の低下や SOD の糖化による失活によるものではないことを示唆している。

一方、血中ビタミン E 濃度が血中脂質の影響を強く受けるのに対して、赤血球膜の tocopherol 量は実質臓器の tocopherol 含量を良好に反映することが知られている⁴⁾。Fig. 3 に示したように、赤血球膜の tocopherol 量は健常対照例と比較して有意な低下を示す群はなく、非糖尿病透析例ではむしろ正常対照よりも高値を示した。tocopherol は脂溶性ビタミンであり、食品では油脂類に多く含まれる。高カロリー、低蛋白食を指導されている非糖尿病維持血液透析症例のほうが油脂類の摂取が一般に多く、正常対照よりも高値を示したと考えられた。また、維持透析例のみを対象とした検討の結果では赤血球膜の tocopherol 量と赤血球膜 TBA-RS は負の相関を示した。

外部環境が血漿にほぼ限定される赤血球は、その酸化、還元の状態の影響を強く受けると考えられる。今回の検討の結果で注目すべきと思われたのは、赤血球膜脂質の過酸化の程度が血漿アルブミン濃度と負の相関を示したことである。先に述べたように血漿アルブミンは抗酸化能を有しており³⁰⁾、長期間にわたるアルブミンの減少は酸化的ストレスに対する防御能の低下をきたすことになる。また、保存期慢性腎不全例に比較して血液透析導入後の例で赤血球膜脂質の過酸化の程度が改善していたことは、血液透析によって human mercapt-albumin が増加することで血漿の還元能が改善することを支持する所見である。非糖尿病維持透析例での検討の結果において、Kt/V 低値例で赤血球膜脂質の過酸化がより亢進していたことも、同様の機序で説明することができると考えられた。Nagase らは慢性腎不全症例において、透析前および透析後の血清を用いてスピントラップ法により hydroxyl radicals を測定しており、透析後の血清では抗酸化能の改善を認めたと報告している³¹⁾。

「緒言」でも述べたように、透析患者の死亡原因は脳血管障害、虚血性心疾患など動脈硬化性病変を基礎とするものが多数を占めている。長期透析患者の病態の特徴は加齢現象の促進であると考えられることができる。持続的な低アルブミン血症は血漿の還元能を低下させ、また、同時に臓器の tocopherol 量の低下も酸化的障害を助長する重要な要因になるものと考えられた。

これらの検討の結果から、維持透析例の赤血球膜脂質の過酸化を促進する最も重要な因子として、1)低アルブミン血症があり、次いで、2)糖尿病、3)赤血球膜 tocopherol 量、4)透析量の不足、が関与すると考えられた。

結 語

維持透析例の長期予後の改善には、過度の蛋白制限による低蛋白血症の発現に留意し十分な透析量を確保することが重要と思われた。低アルブミン血症は栄養状態の低下を示すのみでなく、低アルブミン血症そのものが動脈硬化性合併症の促進因子になりうることを強調したい。

稿を終えるにあたり、ご指導をいただいた杏林大学第1内科教授長澤俊彦先生に深謝いたします。また、直接本研究にご協力をいただいた副島昭典助教授に感謝いたします。

また、本研究に助成を賜りました Tokyo Diabetic Nephropathy Seminar (TDNS) に感謝いたします。

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状(1994年12月31日現在). 透析会誌 1996; 29: 1-22.
2. Kaysen GA, Rathore V, Shearer GC, Depner TA. Mechanisms of hypoalbuminemia in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1995; 48: 510-6.
3. 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: 92-7.
4. Mino M, Kitagawa M, Nakagawa S. Red blood cell tocopherol concentrations in a normal population of Japanese children and premature infants in relation to the assessment of vitamin E status. *Am J Clin Nutr* 1985; 41: 631-8.
5. Burton GW, Ingold KU, Thompson KE. An improved procedure for the isolation of ghost membranes from human red blood cells. *Lipids* 1981; 16: 946.
6. Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med* 1976; 15: 212-6.
7. Kayden HJ, Chow CR, Bjorlbson LK. Spectrophotometric method for determination of tocopherol in red blood cell. *J Lipid Res* 1973; 14: 533-40.
8. Mimic-Oka J, Simic T, Ekmescic V, Dragicevic P. Erythrocyte glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in different stages of chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1995; 44: 44-8.
9. Gunzler WA, Kremers H, Flohe L. An improved coupled test procedure for glutathione peroxidase (EC 1.1.1.9) in blood. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1974; 12: 444-8.
10. Lowrie EG, Lew NL. Death risk in hemodialysis patients: The predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. *Am J Kidney Dis* 1990; 15: 458-82.
11. Iseki K, Kawazoe N, Fukiyama K. Serum albumin is a strong predictor of death in chronic dialysis patients. *Kidney Int* 1993; 44: 115-9.
12. Aoyagi K, Nagase S, Narita M, Tojo S. Role of active oxygen on methylguanidine synthesis in isolated rat hepatocytes. *Kidney Int* 1987; 22: S229-33.
13. 寺島益雄, 古川 猛, 徳永真一, 小口寿夫. 透析患者の血漿中におけるSH化合物の活性酸素の処理機能に関する考察. 透析会誌 1990; 23: 71-2.
14. Sogami M, Nagaoka S, Kurata K, Kida K, Shigemi J, Miura K, Suzuki E, Muto Y, Tomita E, Hayano S, Sawada S, Noguchi K, Miyata S. High-performance liquid chromatographic studies on non-mercapt in equilibrium with mercapt conversion of human serum albumin. *J Chromatogr* 1985; 332: 19-27.
15. Halliwell B. Albumin—an important extracellular antioxidant? *Biochem Pharmacol* 1988; 37: 569-71.
16. Gutteridge JMC. Antioxidant properties of the proteins caeruloplasmin, albumin and transferrin. A study of their activity in serum and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Acta* 1986; 869: 119-27.
17. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Locke S. Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. *Fedn Eur Biochem Soc Lett* 1985; 187: 33-7.
18. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 1987; 235: 1043-6.
19. Yokozawa T, Yasui T, Ishii S, Oura H. Decrease in the level of albumin mRNA with progression of renal failure in rats. *Jpn J Nephrol* 1994; 36: 317-21.
20. Ballmer PE, McNurlan MA, Hulter HN, Anderson SE, Garlick PJ, Krapf R. Chronic metabolic acidosis decreases albumin synthesis and induces negative nitrogen balance in humans. *J Clin Invest* 1995; 95: 39-45.
21. Dasgupta A, Hussain S, Ahmad S. Increased lipid peroxidation in patients on maintenance hemodialysis. *Nephron* 1992; 60: 56-9.
22. Sanaka T, Takahashi C, Sanaka M, Higuchi C, Shinobe M, Hayasaka Y, Miyazawa T, Ishikawa S, Nihei H, Omori Y. Accumulation of phosphatidylcholine-hydroperoxide in dialysis patients with diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 1995; 44: s33-7.
23. Itaba H, Yamamoto H, Imanaka T, Shimamura K, Uchiyama H, Kimura J, Sanaka T, Hata Y, Takano T. Sen-

- sitive detection of oxidatively modified low density lipoprotein using a monoclonal antibody. *J Lipid Res* 1996 ; 37 : 45-53.
24. Taccone-Gallucci M, Giardini O, Lubrano R, Bandino D, Mazarella V, Mannarino O, Meloni C, Morrosetti M, Elli M, Tozzo C, Strolighi L, Casciani CU. Red blood cell lipid peroxidation in predialysis chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1987 ; 27 : 238-41.
 25. 矢部 孝：軽症糖尿病の動脈硬化の発症における血清過酸化脂質の意義. *糖尿病* 1989 ; 32 : 269.
 26. Sanaka T, Takahashi C. Accumulation of phosphatidylcholine-hydroperoxide in dialysis patients with diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 1995 ; 44 : S33-7.
 27. Arai K, Iizuka S, Tada Y, Okamura K. Increase in the glucosylated form of erythrocyte Cu-Zn-superoxide dismutase in diabetes and close association of the nonenzymatic glucosylation with the enzyme activity. *Biochem Biophys Acta* 1987 ; 924 : 292-6.
 28. Muller E, Blumberg A, Marti HR. The activity of erythrocyte glutathione peroxidase in chronic renal failure. *Klin Wochenschr* 1975 ; 53 : 879-80.
 29. Mimic-Oka, J, Simic T, Ekmescic V, Dragicevic P. Erythrocyte glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in different stages of chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1995 ; 44 : 44-8.
 30. Era S, Kuwata K, Imai H, Nakamura K, Hayashi T, Sogami M. Age-related changes in redox state of human serum albumin. *Biochem Biophys Acta* 1995 ; 1247 : 12-6.
 31. Nagase S, Aoyagi K, Hirayama A, Goth M, Ueda A, Tomida C, Kamezaki T, Nagai Y, Kikuchi H, Koyama A. Favorable effect of hemodialysis on decreased serum antioxidant activity in hemodialysis patients demonstrated by electron spin resonance. *J Am Soc Nephrol* 1997 ; 8 : 1157-63.