維持透析患者における血中 asymmetric dimethylarginine の動態

岩澤 秀明 松本 博 岡田 知也 長岡 由女
韓 明基 竹口 文博 外丸 良 和田 憲和
権藤 麻子 朱 時世 中尾 俊之
東京医科大学腎臓科

key words : asymmetric dimethylarginine (ADMA), 腎不全, 血液透析, 腹膜透析

〈要旨〉

NO 合成を阻害する内因性の NO 合成酵素 (NOS) 阻害物質 asymmetric dimethylarginine (ADMA) の維持透析患者における血中動態について検討した。対象は 96 名で、血液透析 (HD) 患者 72 名、腹膜透析 (PD) 患者 24 名。44 例は HD 後にも ADMA を測定した。健常者 9 名を対照群とした。維持透析患者の血清 ADMA は 0.64 ± 0.13 nmol/mL で対照群 0.42 ± 0.06 nmol/mL にくらべて有意に高値であった ($p < 0.001$)。HD 患者の HD 前値は 0.67 ± 0.12 nmol/mL であり PD 患者 0.56 ± 0.11 nmol/mL にくらべて有意に高値であった ($p < 0.01$)。しかし ADMA の HD 前血清濃度は、同時に測定した BUN や Cr と相関を認めなかった。また、1 回の血液透析での ADMA 血清濃度低下率は $42.6 \pm 13.9\%$ で、BUN, Cr の低下率とくらべると有意に低く (vs. BUN, vs. Cr : $p < 0.0001$)。ADMA と BUN, Cr の濃度低下率の間にはそれぞれ有意の正相関を認めた (vs. BUN : $r = 0.732$, $p < 0.0001$, vs. Cr : $r = 0.755$, $p < 0.0001$)。

以上より、本邦人の透析患者でも欧米人と同様に透析前血清 ADMA 濃度は健常者より高値であり、一回の血液透析により BUN や Cr の除去率と高い相関性をもって除去される。しかし透析前血清 ADMA 濃度上昇機序は BUN や Cr とは異なり、体内での産生亢進または腎臓以外の組織・臓器での分解低下が関与していることが示唆された。

Serum asymmetric dimethylarginine in maintenance dialysis patients

Hideaki Iwasawa, Hiroshi Matsumoto, Tomonari Okada, Yume Nagaoka, MyeongGi Han, Humihiro Takeguchi, Ryo Tomaru, Toshikazu Wada, Asako Gondo, Tokiyo Ake, Toshiyuki Nakao
Department of Nephrology, Tokyo Medical University

Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase (NOS) and a high serum level of ADMA is thought to contribute to atherosclerotic cardiovascular disease. To evaluate ADMA in maintenance dialysis patients, we measured serum levels of ADMA in 96 patients, being composed of 72 hemodialysis (HD) and 24 peritoneal dialysis (PD) patients, and 9 healthy subjects. Serum level of ADMA was significantly higher in 96 maintenance dialysis patients than in the control healthy subjects (0.64 ± 0.13 vs. 0.42 ± 0.06 nmol/mL, $p < 0.001$). Serum ADMA level of HD patients was significantly higher than those of PD patients (0.67 ± 0.12 vs. 0.56 ± 0.11 nmol/mL, $p < 0.01$). Before HD, there was no significant correlation between ADMA and either blood urea nitrogen (BUN) or creatinine (Cr). In 44 patients in whom serum levels of ADMA were measured before and after HD, the level after HD was significantly lower than that before HD (0.652 ± 0.12 vs. 0.374 ± 0.12 nmol/mL, $p < 0.0001$). The rate of serum ADMA reduction by HD was $42.6 \pm 13.9\%$, and was significantly lower than those of both BUN and Cr ($p < 0.0001$). There were significant positive correlations in the reduction rates of serum concentration between ADMA and both BUN ($r = 0.732$, $p < 0.0001$) and Cr ($r = 0.755$, $p < 0.0001$). In conclusion, serum level of ADMA was high in the maintenance dialysis patients, but did

not correlate with BUN or Cr, suggesting that accumulation of ADMA in those patients largely depends on impaired degradation by organs other than the kidney, and that the serum level can be lowered by dialysis therapy in the same manner as BUN and Cr.

緒 言

一酸化窒素 (NO) は血管内皮細胞で産生される強力な血管拡張因子として知られているが、血小板凝集抑制作用、白血球の血管内皮への接着・浸潤抑制作用、血管平滑筋細胞の増殖抑制作用なども報告されており、動脈硬化の進行を抑制することが指摘されている¹⁾。この NO 合成を阻害するものとして、内因性の NO 合成酵素 (NOS) 阻害物質 asymmetric dimethylarginine (ADMA) の存在が知られている²⁾。NO は L-arginine から NOS により合成されるが、L-arginine analogs である ADMA は、NOS と競合的に抑制することで NO の合成を阻害する^{2,3)}。

近年、ADMA は血管内皮機能障害の原因^{4~9)}としてだけでなく、高血圧、高脂血症、糖尿病などのさまざまな合併症との関連が指摘されており^{4~6,10~18)}、新たな心血管系疾患の予測因子^{19~24)}としても注目され、腎不全患者においても高値を示すこと^{2,19,25)}が知られている。ADMA の分解・代謝は、腎臓排泄が 10%程度であり、その他血管系や肝臓、脾臓などさまざまな臓器でも行われているとする説^{26~28)}が有力である。

透析患者において、これまで、ADMA の血中動態に関する報告は極めて少なく、日本人の腎不全・透析患者での論文報告はこれが初めてである。また ADMA の分子量は 202.3 ダルトンであるが、透析患者での産生、除去の動態を、同じ小分子量物質である尿素やク

レアチニンと関連させて検討した報告も極めて少ない。そこで今回われわれは、維持透析患者における ADMA の血中濃度が本邦人の透析患者でも欧米人と同様に高値であるか、また透析療法による除去動態や血中濃度上昇について、同じ小分子量物質である尿素やクレアチニンと相関性を認めるか否かについて明らかにする目的で検討を行った。

I. 対象・方法

対象は東京医科大学病院および関連施設にて平成 15 年 11 月から同月末まで維持透析を施行した患者 96 名。男性 70 名、女性 26 名、年齢は 60.5 ± 11.8 歳である。透析方法別では血液透析 (HD) 72 名、腹膜透析 (PD) 24 名で、原疾患は糖尿病性腎症 41 名、非糖尿病疾患は 45 名であった。非糖尿病患者の原疾患は、慢性糸球体腎炎 24 名、腎硬化症 8 名、その他 13 名であった。全対象患者の平均透析歴は 43.3 ± 48.1 か月で、平均 HD 透析歴は 41.0 ± 52.3 か月、平均 PD 透析歴は 50.3 ± 31.9 か月であった。降圧薬の内服は 74 名で、抗高脂血症薬は 12 名で認められた。患者背景は表 1 に示す。対照は健康な男女 9 名。男性 2 名、女性 7 名、年齢は 30.7 ± 5.8 歳である。

測定は、HD 患者に関しては週初めの透析開始時に採血を行い、そのうちの 44 例に関しては透析終了時にも行った。この 44 名は除去率に関して検討し、この時の透析条件は、透析膜としてトリアセート膜または

表 1 患者背景

患者数	(名)	96
性別	(名, 男/女)	70/26
年齢	(歳)	60.5 ± 11.8
糖尿病患者数	[名, (%)]	41 (42.7%)
脳心血管系疾患既往患者数	[名, (%)]	37 (38.5%)
収縮期血圧	(mmHg)	151.2 ± 23.5
拡張期血圧	(mmHg)	81.1 ± 13.2
血清尿素窒素	(mg/dL)	75.2 ± 21.5
血清クレアチニン	(mg/dL)	11.3 ± 3.2
血清コレステロール	(mg/dL)	173.86 ± 38.3
血清中性脂肪	(mg/dL)	127.37 ± 68.3
降圧薬内服患者数	[名, (%)]	74 (77.1)
Ca拮抗薬	[名, (%)]	55 (57.3)
ACEi or ARB	[名, (%)]	35 (36.5)
α blocker	[名, (%)]	30 (31.3)
HMG-CoA 還元酵素阻害薬内服患者数	[名, (%)]	12 (12.5)

(平均値 $\pm$ SD)

ポリスルホン膜を用い、膜面積は 1.70 ± 0.20 ($1.5 \sim 1.9$) m^2 , QB 184.1 ± 23.6 ($150 \sim 200$) mL/min , QD 500 mL/min , 透析時間は 3.64 ± 0.47 ($3 \sim 4$) 時間であった。腹膜透析患者は, CAPD 22 名, APD 2 名であり, 採血は月初めの受診時に行った。測定項目は ADMA のほかに血清尿素窒素 (BUN), クレアチニン (Cr) を測定した。測定に関し対象患者から同意を得ている。血清 ADMA の測定は, 血清 $250 \mu L$ を除蛋白処理後蛍光基質と反応を行った後, 高速液体クロマトグラフィー法を用い逆相系カラムにて分離・測定した²⁾。

II. 結 果

今回測定した維持透析患者 96 名の血清 ADMA 値は 0.64 ± 0.13 $nmol/mL$ であり, 対照群における血清 ADMA 値は 0.42 ± 0.06 $nmol/mL$ であった。両者を比較すると, 維持透析群で有意に高値であった。透析方法別に検討すると, HD 患者では 0.67 ± 0.12 $nmol/mL$, PD 患者は 0.56 ± 0.11 $nmol/mL$ で, HD 群が PD 群にくらべ有意に高値であった (表 2)。

なお, PD 群において一日尿量 400 mL /日以上・未

満で残腎機能あり/なし群とし, 血清 ADMA 値を比較したところ, 残腎機能あり群 0.53 ± 0.07 $nmol/mL$ ($n=9$), 残腎機能なし群 0.58 ± 0.14 $nmol/mL$ ($n=15$) で, 両群間に有意差は認めなかった ($p=0.42$)。糖尿病 (DM) 群, 非糖尿病 (nonDM) 群とで血清 ADMA 値を比較すると, DM 群が 0.65 ± 0.13 $nmol/mL$, nonDM 群 0.63 ± 0.13 $nmol/mL$ であり, 両群間に有意差は認めなかった ($p=0.96$)。また, 血清 ADMA 値と年齢に相関関係は認めず, 血清 ADMA 値と透析歴, HD 透析歴, PD 透析歴それぞれとも相関は認められなかった。

血液透析患者 72 名において, 透析前血清 ADMA と, 同時に測定した BUN や Cr 間に相関関係は認められなかった (図 1)。また, 血液透析前後にて測定しえた 44 名において, 透析前値は 0.652 ± 0.12 $nmol/mL$ に対し, 透析後は 0.374 ± 0.12 $nmol/mL$ で, 透析後の血清 ADMA 値は有意に低かった ($p<0.0001$, 図 2)。1 回の HD における ADMA の血清濃度低下率は $42.6 \pm 13.9\%$ であり, 同時に測定した BUN, Cr の血清濃度低下率は, それぞれ $65.5 \pm 12.1\%$, $60.4 \pm 11.4\%$ で, ADMA の血清濃度低下率は, BUN, Cr の血清濃度低下率より有意に低かった (vs. BUN, vs. Cr: $p<0.0001$, 図 3)。ADMA と BUN の血清濃度低下率の間には高い正の相関関係を認め ($r=0.732$, $p<0.0001$), 同様に, ADMA と Cr の間にも高い正相関を認めた ($r=0.755$, $p<0.0001$, 図 4)。

なお, 血清 ADMA 濃度は今回の測定時の収縮期血圧, 拡張期血圧, 平均血圧, HbA_{1c}, 透析開始時血糖などとの相関関係は認められなかった。また血清 ADMA と血清総コレステロールや HDL コレステロールとは相関関係を認めず, 中性脂肪とは逆相関を

表 2 慢性腎不全の維持透析患者における血清 ADMA 濃度

	ADMA (nmol/mL)
維持透析患者群 (n=96)	0.64 ± 0.13^a
血液透析患者群 (n=72)	$0.67 \pm 0.12^{b,c}$
腹膜透析患者群 (n=24)	0.56 ± 0.11^d
対照群 (n=9)	0.42 ± 0.06

a ; vs. 対照群 $p<0.001$

b ; vs. 腹膜透析患者群 $p<0.01$

c ; vs. 対照群 $p<0.001$

d ; vs. 対照群 $p<0.005$

図 1 血清 ADMA と尿素窒素, クレアチニンとの関係
—血液透析前濃度—

図 2 血液透析前後での血清 ADMA の濃度変化

図 3 血液透析による血清濃度低下率の比較

図 4 血液透析での血清濃度低下率における ADMA と尿素窒素、クレアチニンとの関係

認めたが($r=-0.37$, $p=0.01$), 重回帰分析では有意な相関は認められなかった。

III. 考 察

今回われわれが測定した血清 ADMA 値は対照群に

くらべて有意に高値であり、透析による除去を認めたが、これまでの慢性腎不全患者における血清 ADMA 値や透析による除去に関するいくつかの報告^{2,19,25,29)}と同様であった。腎不全患者における血清 ADMA 高値の原因として、腎臓での排泄障害による貯留以外にも代謝経路が関係していると考えられている²⁾ (図 5)。

図 5 維持透析患者における血清 ADMA 濃度上昇の機序

ADMA は腎臓でも排泄は行われるが、主としてさまざまな臓器で代謝されると考えられている。Achan ら³⁰⁾の *in vivo* における報告によると、ADMA が 300 $\mu\text{mol/day}$ 生成されるうち腎臓からの排泄量は約 50 $\mu\text{mol/day}$ と見積られている。また、動物実験からの報告では、ADMA の血中からの消失には dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) による代謝が 90% 近くを占めるとの結果がある^{26,31,32)}。排出されない ADMA は、大動脈や腎臓、脾臓、肝臓、脳などの臓器で存在が確認^{26,28)}されている DDAH により、dimethylamine と citrulline に分解される経路で代謝されると考えられている^{8,33)}。また、腎機能低下が軽度であってもすでに ADMA の上昇が指摘されている報告³⁴⁾や腎移植後でも ADMA の高値が持続する例³⁵⁾など、血清 ADMA 上昇は腎排泄低下が主体ではないことを裏付ける報告が知られている。今回の検討でも、PD 患者での残腎機能の有無で比較した血中 ADMA 値で有意差を認めなかったこと、透析歴と ADMA 値の間に相関を認めなかったことから、末期腎不全ではすでに DDAH の機能低下が存在することが示唆される。以上のことから、腎不全患者の血中 ADMA 値の上昇は、腎排泄障害による貯留よりも DDAH の機能低下による ADMA の分解低下の関与が大きいことが推察された。透析患者で腎臓以外の臓器での ADMA の分解が低下する機序として、ADMA の分解に関与する DDAH は高血糖、高ホモシスチン、感染、酸化ストレスなど多種多様な要因の下で低下していることが明らかにされており^{7,8,14,36)}、種々のストレス要因が存在していることが多い腎不全では、大動脈や肝臓などでの DDAH 活性の低下が考えられた。

これまでの Kielstein らによる報告²⁵⁾では、PD 患者と対照群の ADMA 値に有意差は認められていない。しかし、われわれの測定では、PD 患者では HD 患者にくらべ ADMA 値が有意に低かったが、対照群にくらべ高値であった。同じ末期腎不全患者でも PD 患者が

HD 患者にくらべ低値となった原因として、ADMA の排泄と産生が関係している可能性が推測できる。つまり、今回われわれは PD 排液内の ADMA の測定は行わなかったが、PD により ADMA が常に血中から PD 液中に排出されるため PD 群で低値を示したと考えられた。また、HD が PD にくらべ酸化ストレスが多いとの報告³⁷⁾もあることから、何らかの酸化ストレスが DDAH を抑制することで ADMA の分解が低下し、HD が PD にくらべ ADMA 値が高値となったと推察できる。

透析前での血清 ADMA と BUN, Cr との相関はみられなかった理由として、それぞれの産生・代謝経路が異なるためと考えられる。BUN は食事特に蛋白質摂取の結果産生され、Cr の産生は主としては筋肉量に関係する。一方、ADMA の産生は、蛋白質のアルギニン残基が protein arginine N-methyltransferase type I (PRMT I) によりメチル化された後、蛋白加水分解され形成される^{38,39)}ことが知られている。この ADMA 産生を左右する因子に関しては、前述した、高血圧、高脂血症、糖尿病などのさまざまな疾病や病態^{4,5,10,12,13,15,16,17)}との相関が指摘されている。さらに、ADMA 濃度の透析後の推移としては、一過性に上昇した後再び低下し一定の濃度に落ち着くとの報告^{25,29)}がある。また、先にも述べたが、ADMA の代謝に関与する DDAH はさまざまな酸化的ストレスにより低下することが明らかにされている^{7,8,14,37)}。このように、血清 ADMA の濃度に影響を及ぼすと考えられる要因は、腎不全以外の患者を対象とした研究によりこれまでに数多く報告されている。以上のことから、ADMA の一回の血液透析での除去は BUN や Cr と同様に認められても、次回透析までの間の産生や排泄・代謝の経路が BUN や Cr とは大きく異なるため、透析前採血では BUN, Cr と ADMA の相関が認められなかったものと考えられた (図 5)。

今回、HD における ADMA の血清濃度低下率は、BUN や Cr と比較し有意に低かった。これには、ADMA の分子量が 202.3 ダルトンであり、BUN 60, Cr 113 にくらべ大きいことによると考えられた。しかし HD における ADMA の血清濃度低下率と BUN および Cr の血清濃度低下率とは正の相関関係を認めたことから、ADMA の除去を増加させるには BUN や Cr の除去を増加させるのと同様の透析条件設定を考慮すればよいと考えられた。

結 論

本邦人の維持透析患者でも欧米人と同様に透析前血清 ADMA 濃度は健常者より高値である。ADMA は一回の血液透析により血清尿素窒素やクレアチニンの除去率と高い相関性をもって除去される。しかし透析前血清 ADMA 濃度は血清尿素窒素やクレアチニンとは相関を認めず、透析患者での血清 ADMA 濃度上昇には産生の亢進あるいは腎臓以外の組織・臓器での分解低下が大きく関与していることが示唆された。

文献

- Cooke JP, Dzau VJ : Nitric oxide synthase : role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med* 48 : 489-509, 1997
- Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S : Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339 : 572-575, 1992
- Cooke JP : Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20 : 2032-2037, 2000
- Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tangphao O, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP : Asymmetric dimethylarginine (ADMA) : a novel risk factor for endothelial dysfunction : its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 98 : 1842-1847, 1998
- Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T : Endogenous nitric oxide synthase inhibitor : a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 99 : 1141-1146, 1999
- Engler MM, Engler MB, Malloy MJ, Chiu EY, Schloetter MC, Paul SM, Stuehlinger M, Lin KY, Cooke JP, Morrow JD, Ridker PM, Rifai N, Miller E, Witztum JL, Miettinen-Snyder M : Antioxidant vitamins C and E improve endothelial function in children and adolescents with hyperlipidemia : Endothelial Assessment of Risk From Lipids in Youth (EARLY) trial. *Circulation* 108 : 1059-1063, 2003
- Stühlinger MC, Tsao RS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP : Homocysteine impairs the NO synthase pathway—role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 104 : 2569-2575, 2001
- Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP : Novel mechanism for endothelial dysfunction : dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 99 : 3092-3095, 1999
- Masuda H, Goto M, Tamaoki S, Azuma H : Accelerated intimal hyperplasia and increased endogenous inhibitors for NO synthesis in rabbits with alloxan-induced hyperglycaemia. *Br J Pharmacol* 126 : 211-218, 1999
- Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Boeger RH, Bode-Boeger SM, Stephanie M, Kruszelnicka-Kwiatkowska O, Kokot F, Dubiel JS, Froelich JC : Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 33 : 652-658, 1999
- Matsuoka H, Itoh S, Kimoto M, Kohno K, Tamai O, Wada Y, Yasukawa H, Imai G, Imaizumi T : Asymmetrical dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, in experimental hypertension. *Hypertension* 29 : 242-247, 1997
- Fujiwara N, Osanai T, Kamada T, Katoh T, Takahashi K, Okumura K : Study on the relationship between plasma nitrite and nitrate level and salt sensitivity in human hypertension : modulation of nitric oxide synthesis by salt intake. *Circulation* 101 : 856-861, 2000
- Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM, Stuehlinger M, Tsao PS : Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 88 : 1201-1203, 2001
- Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Tsuji H, Reaven GM, Cooke JP : Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus : role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 106 : 987-992, 2002
- Stuehlinger MC, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP, Reaven GM, Tsao PS : Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA* 287 : 1420-1426, 2002
- Lundman P, Eriksson MJ, Stuehlinger M, Cooke JP, Hamsten A, Tornvall P : Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *J Am Coll Cardiol* 38 : 111-116, 2001
- Stuehlinger MC, Oka RK, Graf EE, Schmölzer I, Upson BM, Kapoor O, Szuba A, Malinow MR, Wascher TC, Pachinger O, Cooke JP : Endothelial dysfunction induced by hyperhomocysteinemia : role of ADMA. *Circulation* 108 : 933-938, 2003
- Kielstein JT, Bode-Böger SM, Frölich JC, Ritz E, Haller H, Fliser D : Asymmetric dimethylarginine, blood pressure, and renal perfusion in elderly sub-

- jects. *Circulation* 107 : 1891-1895, 2003
- 19) Zoccali C, Bode-Böger SM, Mallamaci F, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino LM, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frölich JC, Böger RH : Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease : a prospective study. *Lancet* 358 : 2113-2117, 2001
 - 20) Valkonen VP, Päivä H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J, Lehtimäki T, Laakso J, Laaksonen R : Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 358 : 2127-2128, 2001
 - 21) Zoccali C, Benedetto FA, Maas R, Mallamaci F, Tripepi G, Malatino LS, Boger R ; CREED Investigators : Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 13 : 490-496, 2002
 - 22) Usui M, Matsuoka H, Miyazaki H, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T : Increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with congestive heart failure. *Life Sci* 62 : 2425-2430, 1998
 - 23) Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JC : Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 95 : 2068-2074, 1997
 - 24) Yoo JH, Lee SC : Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis* 158 : 425-430, 2001
 - 25) Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Schäffer J, Barbey M, Koch KM, Frölich JC : Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease : Relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 10 : 594-600, 1999
 - 26) Kimoto M, Tsuji H, Ogawa T, Sasaoka K : Detection of N^G, N^G -dimethylarginine dimethylaminohydrolase in the nitric oxide-generating systems of rats using monoclonal antibody. *Arch Biochem Biophys* 300 : 657-662, 1993
 - 27) Tojo A, Welch JW, Bremer V, Kimoto M, Kimura K, Omata M, Ogawa T, Vallance P, Wilcox CS : Colocalization of demethylating enzymes and NOS and functional effects of methylarginines in rat kidney. *Kidney Int* 52 : 1593-1601, 1997
 - 28) Kimoto M, Whitley GS, Tsuji H, Ogawa T : Detection of N^G, N^G -dimethylarginine dimethylaminohydrolase in human tissues using a monoclonal antibody. *J Biochem* 117 : 237-238, 1995
 - 29) MacAllister RJ, Rambausek MH, Vallance P, Williams D, Hoffmann KH, Ritz E : Concentration of dimethyl-L-arginine in the plasma of patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 11 : 2449-2452, 1996
 - 30) Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R, Vallance P : Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23 : 1455-1459, 2003
 - 31) Ogawa T, Kimoto M, Watanabe H, Sasaoka K : Metabolism of N^G, N^G -dimethylarginine and N^G, N^G -dimethylarginine in rats. *Arch Biochem Biophys* 252 : 526-537, 1987
 - 32) Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K : Occurrence of a new enzyme catalyzing the direct conversion of N^G, N^G -dimethyl-L-arginine to L-citrulline in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 148 : 671-677, 1987
 - 33) Murray-Rust J, Leiper J, McAlister M, Phelan J, Tilley S, Maria S, Vallance P, McDonald N : Structural insights into the hydrolysis of cellular nitric oxide synthase inhibitors by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Nat Struct Biol* 8 : 679-683, 2001
 - 34) 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 : 170-176, 2002
 - 35) Fleck C, Schweitzer F, Karge E, Busch M, Stein G : Serum concentration of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney disease. *Clinica Chimica Acta* 336 : 1-12, 2003
 - 36) Weis M, Kledal TN, Lin KY, Panchal SN, Gao SZ, Valantine HA, Mocarski ES, Cooke JP : Cytomegalovirus infection impairs the NOS pathway : role of ADMA in transplant arteriosclerosis. *Circulation* 109 : 500-505, 2004
 - 37) Floccari F, Aloisi C, Crasci E, Sofi T, Compo S, Tripodo D, Criseo M, Frisina N, Buemi M : Oxidative stress and uremia. *Med Res Rev* 25 : 473-486, 2005
 - 38) Kakimoto Y, Akazawa S : Isolation and identification of N^G, N^G - and N^G, N'^G -dimethyl-arginine, N-epsilon-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine. *J Biol Chem* 245 : 5751-5758, 1970
 - 39) Tran CT, Leiper JM, Vallance P : The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atheroscler* 4(Suppl) : 33-44, 2003