

た岩手県内に存在する二つの町の位置（灰色で示したY町とI町）を示している。

研究参加者

カレン研究参加者の選択手法と内訳を図2に示す。25施設1,499名の透析患者の内、全身状態不良などにより27名は面会できなかった。残りの1,447名に面会し、1,260名から書面による同意を得た（同意受容率87.0%）。同意が得られた1,260名中21名は病状の悪化や転院により登録調査ができなかった。25名の患者では血液検査がなされなかった。最終的に1,214名がコホート研究に参加した^{18,19)}。1,214名中173名では血清ヒ素濃度測定が行われなかった。本研究では1,041名を解析対象とした。更に、再発例を除いた新規罹患リスクの定量的評価を行うために、心筋梗塞の既往を有する45名を除外した970名で心筋梗塞新規罹患リスク評価を行った。同様に脳卒中既往を有する165名をのぞいた876名で虚血性脳卒中新規罹患リスク評価も行った。

健常対照は、岩手県Y町（平成15年当時の人口26,566人）と岩手県I町（人口17,500人）に居住する40-79歳の住民から年齢層化抽出法により対象者を選定し、インフォームドコンセントを必要人数が得られるまで繰り返して最終的に397人を集めた²⁰⁾。血清ヒ素濃度は397人中384人で測定した。尚、上記二つの研究は、岩手医科大学倫理審査委員会の承認を得て、ヘルシンキ宣言に従って実施された^{18~20)}。

研究参加者情報収集

研究参加者の情報収集には、調査員の面談による生活問診、血圧測定、身長測定、血液検査が含まれる。透析患者では、患者医療記録による患者医療情報収集が加わる。健常対照の採血検査は午前中の空腹時採血を行い、透析患者では透析施行直前の採血（非空腹時）を行った。参加者情報収集（透析患者ならびに一般健常対照）の詳細については、すでに公表している論文を参照されたい^{18~21)}。

血清ヒ素濃度測定

登録調査時に採取された透析患者血液と一般住民血液検体は、採血当日に測定検査機関（三菱化学メディエンス盛岡支社）に送付され同日中に血

球数測定と血液生化学検査を実施した。血液検査に関しての詳細な方法はすでに公表している論文を参照されたい^{18~21)}。残存した血清は我々の研究室に運ばれ、-80℃に凍結されて保管された。

血清中ヒ素濃度の測定は以下の手順で行った。まず凍結血清検体を解凍して直接テフロン試験管に血清1mlを分取して高純度硝酸3mlを加えて2時間室温で放置した。その後ブロックバスを用いて120℃で12時間加熱分解した。ブロックバスよりテフロン試験管を取り出して冷却し、これに高純度の過酸化水素水を1ml加える行程を随時2回行った。テフロンジャーに移し変えて、100℃のホットプレート上で蒸発乾固させ、10%の硝酸溶液5mlに溶解させて測定用試料溶液とした。試料溶液中ヒ素濃度をアルゴンプラズマ質量分析法（ICP-MS Perkin Elmer社製Elan 6000）を用いて測定した。

ヒ素濃度測定に当たって実施した精度管理は1999年に改定されたNCLLSの精度管理のガイドラインにそって行われた²²⁾。精度管理の目的で、毎回の測定においてプール血清中のヒ素濃度を測定した。一回当たり5例のプール血清を36回測定したヒ素濃度の平均値は11.1ng/mlであった。一回測定当たりの精度（標準偏差）は平均値11.1ng/mlに対して1.37ng/ml、全測定における精度（標準偏差）は平均値11.1ng/mlに対して1.22ng/ml、であった。

追跡調査

研究者と研究看護師は、直接透析施設を毎年訪問して、患者診療記録ならびに死亡診断書を閲覧して、死亡、循環器疾患発症（急性心筋梗塞、心不全、脳血管疾患）の有無、悪性新生物発症の有無について追跡調査を行った。カレン研究開始時に研究チームで協議して一定の基準を設けた¹⁹⁾。疾患定義は表1に示したとおりである。尚、脳卒中の診断基準において、脳出血、脳梗塞、くも膜下出血の診断は、画像診断で確認したものとした。転院した症例に関しては、転院先を訪問し、患者診療記録を閲覧して情報収集した。

統計ならびに解析手法

透析患者と健常対照の血清中ヒ素濃度のヒストグラムを示し、平均値、中央値（25-75パーセン

表1 KAREN 研究腎不全原因疾患診断基準ならびに合併疾患、新規発症疾患診断基準

表1. KAREN研究腎不全原因疾患診断基準ならびに合併疾患、新規発症疾患診断基準

<p>腎不全原因疾患診断基準</p> <p>慢性糸球体腎炎</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 血尿 2 蛋白尿(2+, 3+) 3 長期にわたる腎機能低下 上記臨床症状1~3を満たすもの、または腎生検診断されたものを慢性糸球体腎炎と定義する。 	<p>心筋梗塞症</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 心電図で最低二つの誘導で異常Q波の出現 2 心筋逸脱酵素の2倍以上の上昇 3 30分以上持続する胸痛 <p>上記の1~3のうちいずれか2項目を含むもので、循環器専門医師の診断をうけているものを心筋梗塞の既往ありとする。</p>
<p>糖尿病性腎症</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 糖尿病と診断されている 2 蛋白尿(300mg/日以上)・浮腫・高血圧・腎機能低下(一つ以上) 上記の1と2を満たすもの、あるいは腎生検診断されたものを糖尿病性腎症と定義する。 	<p>脳卒中</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 突然生じた神経症状(巣症状)が医師により確認され、24時間以上持続 2 神経症状が脳血管疾患以外の病気であることが否定されている 3 CTまたはMRIによる脳梗塞巣または脳出血巣の確認 <p>上記の1、2の両者を同時にみたまもの、または3があるものを脳卒中と診断する。</p>
<p>腎硬化症</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 蛋白尿(±, +) 2 高血圧 3 長期にわたる腎機能低下 上記1~3を満たすもの、または腎生検診断されたものを腎硬化症と定義する。 	<p>閉塞性動脈硬化症</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 血管バイパス手術、血管形成術の存在 2 Ankle-arm systolic ratio \leq 0.8 3 間歇性跛行・大腿部痛 <p>上記の1~3のうちいずれか1項目を含むものを閉塞性動脈硬化症と診断する。</p>
<p>多発性嚢胞腎</p> <p>腹部US・CTにて両側に多発性嚢胞を認めるものを多発性嚢胞腎と定義する。</p>	<p>糖尿病</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 糖尿病治療中である 2 随時血糖 \geq 200mg/dl 3 HbA1c \geq 6.5%以上 <p>上記の1~3のうちいずれか1項目を含むものを糖尿病と診断する。</p>
<p>膠原病に起因する腎炎</p> <p>膠原病と診断された上で腎機能低下を認め、かつ腎生検診断されたものと定義する。</p>	<p>高血圧</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 高血圧治療中である 2 収縮期血圧 \geq 140mmHg以上 3 拡張期血圧 \geq 90mmHg以上 <p>上記の1~3のうちいずれか1項目を含むものを高血圧と診断する。</p>
<p>その他</p> <p>上記以外の原疾患(薬剤性腎炎、先天性、感染性等)</p>	<p>脂質異常</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 高脂血症治療中である 2 高コレステロール血症 \geq 220mg/dl 3 高LDL-コレステロール血症 \geq 140mg/dl 4 低HDL-コレステロール血症 $<$ 40mg/dl <p>上記の1~4のうちいずれか1項目を含むものを脂質異常と診断する。</p>
<p>合併疾患、新規発症疾患診断基準</p> <p>心不全</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 肺水腫または胸水貯留(心機能障害の有無、uremic lungかどうかは問わず)を持って所見ありとする。 2 その他の心不全徴候に関しては、心不全に影響を及ぼす左室機能障害または弁膜症の存在の確認を必要とする。 <p>心エコー図による左駆出率50%未満、大動脈弁または僧帽弁の狭窄または逆流が中等度以上をもって心機能異常ありとする。</p>	

マイル値)を算出した。両群の性年齢調整平均値と95%信頼区間を共分散分析で求め、両側で5%の有意水準で差があるのかを検定した。尚、一般健常対照では診療記録閲覧による既往歴の調査は行っていないが、自記式問診の既往歴(心臓病や脳卒中と言われたことがある)の項目で、あると答えた者が34名存在した。この34名を除外して同様に2群間で調整平均値の比較も行った。

透析患者のコホート研究開始時の患者属性を見るに当たり、透析患者を血清ヒ素濃度で4分位に分け、4群で年齢、男性割合、body mass index (BMI)、血圧値、血清脂質値、血清総蛋白値、アルブミン値、クレアチニン値、ヘモグロビン値、血小板数、高感度C反応性蛋白値を比較した。また4群間で、腎不全原因割合、合併疾患ならびに既往症、喫煙割合、常用飲酒割合を比較した。年齢の比較には一元配置分散分析を用いて多重比較にはボンフェローニの修正式を用いた。年齢以外の連続変数は性・年齢で調整した推定平均値を共分散分析で求め、同じく一元配置の多重比較においてはボンフェローニ法による修正を行った。高感度CRPの比較においては、性年齢調整した幾何平均値を求めて同様の比較を行った。

縦断解析では、まずヒ素4分位グループ別に総死亡数、心筋梗塞罹患数、虚血性脳卒中罹患数を求め、1000人年あたりの粗死亡率と粗罹患率を算出した。累積死亡率と心筋梗塞ならびに脳卒中の累積罹患率曲線をカプランマイヤー法により求め、群間の累積死亡率と累積罹患率の差はログランク法により有意差検定を行った。

ヒ素4分位グループにおいて、最低4分位グループを基準として、上位3群の総死亡、心筋梗塞罹患、虚血性脳卒中罹患の相対危険度を算出した。相対危険度の算出に当たっては、コックス回帰分析を用いて多変量調整ハザード比と95%信頼区間を求めて相対危険度に代用した。調整ハザード比を求めるに当たり、性年齢調整ハザード比と多変量調整ハザード比を求めた。多変量調整では、説明変数として、古典的な危険因子(年齢、男性、body mass index (BMI) 高値(≥ 27.5 kg/m²)、血圧高値、糖尿病合併、脂質異常合併、既往症あり(心筋梗塞、脳卒中、悪性新生物)、現在喫煙、常用飲酒)

と透析患者特有の生命予後危険因子(BMI低値(< 18.5 kg/m²)、血圧低値、B型肝炎抗原陽性、C型肝炎抗体陽性、CRP高値、アルブミン低値)を説明変数に用いた。

説明変数に投入する変数は以下の手順で定義または編集した。BMIの算出にあたり、体重はdry weightを用いた。収縮期血圧の4分位で対象者を分け、最低位カテゴリを血圧低値者群、最高位カテゴリを血圧高値者群と定義して、血圧低値(< 140 mmHg)と血圧高値(≥ 169 mmHg)をそれぞれ説明変数とした。脂質異常は、血清総コレステロール値が220 mg/dL以上、またはHDLコレステロール値が40 mg/dL未満、または抗高脂血症薬服用者と定義した。空腹時採血ではなかったため、中性脂肪値は定義基準に取り上げなかった。現在喫煙者を喫煙ありとした。週5日以上飲酒している者を常用飲酒者と定義した。血清アルブミンの4分位最低位グループ(< 3.5 mg/dL)をアルブミン低値群と定義した。血清CRP値4分位の最高位グループ(≥ 3.6 mg/L)をCRP高値群と定義した。以上の説明変数を多変量調整分析の際に説明変数として用いた。

血清ヒ素濃度が高くなるほど死亡リスクや疾患罹患リスクが高くなるのかを検討する目的で線形トレンド検定を行った。解析では、強制投入法を用いて、有意性の有無に関わらず、全ての項目を説明変数として投入した。P値は両側で5%未満を有意とした。統計解析にはSPSS. Version 14を用いた。

III. 結 果

図3は透析患者と健常対照群の血清ヒ素濃度のヒストグラムを示している。上段が透析患者で下段が健常対照である。透析患者の血清ヒ素濃度の平均値・中央値・最小値-最大値は33.4・42.7・3.76-573.6 μ g/Lであり、健常対照はそれぞれ9.47・10.7・1.25-124.5 μ g/Lであった。分布を見ると健常対照では10 μ g/L付近に分布の鋭いピークを持ち、狭い範囲に多くの対象者が含まれるのに対し、透析患者では10 μ g/L付近に分布のピークを有し、右側になだらかに分布の幅が広がっていた。健常対照では、25 μ g/L未満に対象者の

95%が含まれていたが、透析患者では、 $25\mu\text{g/L}$ を超えていた患者が全体の75%以上であった。性・年齢調整をした平均値(95%信頼区間)を比較すると透析患者では $42.4(40.1-44.6)\mu\text{g/L}$ 、健常対照では $11.6(7.82-15.4)\mu\text{g/L}$ で明らかに透析患者の血清ヒ素濃度は高かった。対象者群で心臓病や脳卒中と言われたことがあると答えた34名を除いた解析では、性・年齢調整平均値(95%信頼区間)は透析患者で $42.4(40.1-44.6)\mu\text{g/L}$ 、健常対照で $11.8(7.79-15.7)\mu\text{g/L}$ であった。この結果は既往歴を有する者を除外する前と大きな違いはみられなかった。

表2は血清ヒ素濃度4分位別に示したコホート研究開始時の透析患者属性である。この表では各群の年齢、透析治療期間、BMI、血圧、血液検査項目の平均値(標準偏差)または性・年齢調整平均値(95%信頼区間)を示している。血清ヒ素濃度が高いほど年齢は高くなり(トレンド $p < 0.05$)、男性割合は高くなっていた。尿素窒素と血清クレ

アチニン値は、Q1群に比較してQ3群とQ4群の値が有意に高かった($p < 0.05$, ANCOVA 多重比較)。その他の検査項目では違いは見られなかった。表3は4群間で腎不全原因疾患、合併疾患、生活習慣を有する割合を比較したものである。Q4群では末梢動脈疾患の有病割合が有意に高かった($p < 0.05$, χ^2 乗検定)。またヒ素濃度が高くなるほど末梢動脈疾患有病割合が高くなる線形の関係性が認められた(トレンド $p < 0.05$)。4群間で腎不全原因疾患やその他の合併疾患の割合に違いはみられなかった。

5年間の追跡調査の総観察期間は4003人年、観察期間の平均は3.9年、観察期間中央値は4.9年であった。総死亡数は373人、心筋梗塞罹患患者数は48人、虚血性脳卒中罹患患者数は112人であった。

図4はカプランマイヤー法により求めた各群の累積死亡率曲線、心筋梗塞累積罹患率曲線、虚血性脳卒中累積罹患率曲線である。各群の死亡率

血清ヒ素濃度のヒストグラム(上段が透析患者、下段が対照)

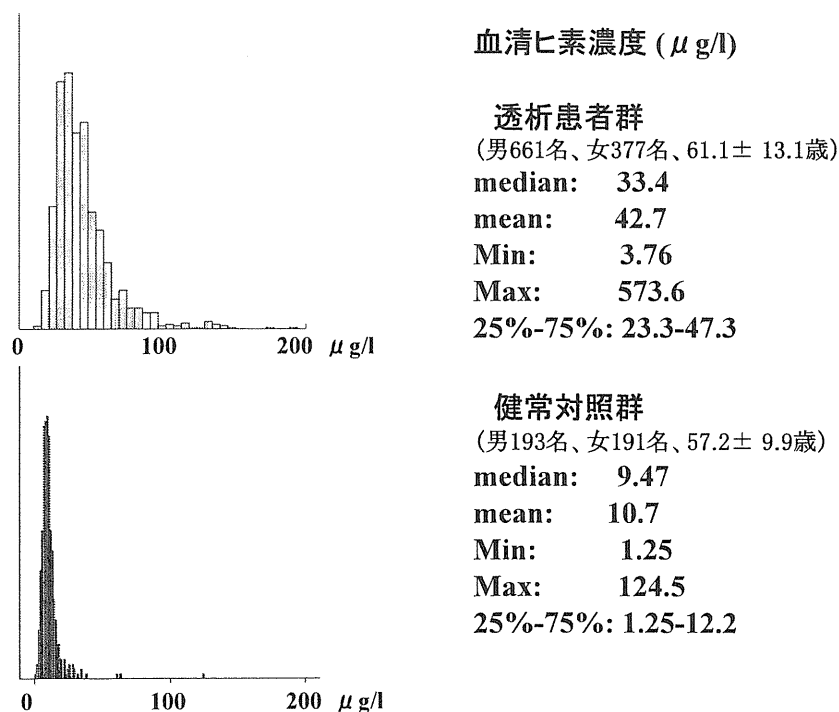


図3 血清ヒ素濃度ヒストグラム

上段が透析患者、下段が対照者のヒ素濃度ヒストグラムを示す。分布を見ると健常対照では $10\mu\text{g/L}$ 付近に分布の鋭いピークを持ち、狭い範囲に多くの対象者が含まれるのに対し、透析患者では $40\mu\text{g/L}$ 付近に分布のピークを有し、右側になだらかに分布の幅が広がっていた

表2 ヒ素4分位別に見た患者属性一性・年齢・身体計測値と血液検査結果

subjects n 血清ヒ素濃度範囲	Q1 (n=260) 3.76-23.2	Q2 (n=260) 23.3-33.3	Q3 (n=261) 33.4-47.1	Q4 (n=260) 47.2-573.6
平均年齢 (標準偏差) (歳)	58.8 (15.1)	60.4 (13.1)	62.6 (12.3)	62.6 (11.2)
性・年齢調整平均値(95%信頼区間)				
透析治療期間 (年)	5.8 (5.0-6.6)	6.9 (6.1-7.7)	7.1 (6.3-7.9)	6.4 (5.6-7.2)
body mass index (kg/m ²)	21.1 (20.7-21.5)	20.6 (20.2-20.9)	20.8 (20.5-21.2)	20.9 (20.6-21.3)
収縮期血圧 (mmHg)	158 (155-161)	156 (153-159)	153 (150-156)	154 (151-157)
総コレステロール (mg/dl)	158 (153-162)	154 (150-158)	154 (149-158)	158 (154-163)
HDLコレステロール (mg/dl)	47.4 (45.5-49.3)	47.3 (45.4-49.2)	47.9 (46.0-49.8)	46.7 (44.7-48.6)
LDLコレステロール (mg/dl)	87.6 (84.3-90.9)	85.4 (82.1-88.7)	83.2 (79.9-86.4)	85.6 (82.3-88.8)
総タンパク (g/dl)	6.5 (6.4-6.5)	6.5 (6.4-6.5)	6.5 (6.4-6.5)	6.5 (6.4-6.6)
アルブミン (g/dl)	3.8 (3.7-3.8)	3.8 (3.7-3.8)	3.8 (3.7-3.8)	3.8 (3.7-3.8)
尿素窒素 (mg/dl)	64.7 (62.9-66.6)	68.7 (66.9-70.5)	74.6 (72.7-76.4)*	79.2 (77.3-81.0)*
クレアチニン (mg/dl)	10.5 (10.2-10.8)	11.0 (10.7-11.3)	11.2 (10.9-11.5)*	11.7 (11.4-12.0)*
Hb (g/dl)	10.0 (9.9-10.2)	10.2 (10.0-10.3)	10.2 (10.0-10.3)	10.1 (9.9-10.3)
血小板数 (/μl)	18.5 (17.8-19.3)	18.2 (17.4-18.9)	18.3 (17.6-19.1)	18.1 (17.4-18.9)
高感度CRP (mg/l)	1.25 (1.04-1.50)	1.32 (1.10-1.58)	1.10 (0.92-1.32)	1.12 (0.93-1.34)

平均値(標準偏差)または性年齢調整平均値(95%信頼区間)で表示

*.p < 0.05 ANCOVA

表3 ヒ素4分位別に見た患者属性一腎不全原因疾患、合併疾患・生活習慣割合

4分位別対象者数 血清ヒ素濃度範囲	Q1 (n=260) 3.76-23.2	Q2 (n=260) 23.3-33.3	Q3 (n=261) 33.4-47.1	Q4 (n=260) 47.2-573.6
男性 n (%)	162 (62.5%)	155 (59.6%)	166 (64.1%)	178 (68.5%)
腎不全原因 n (%)				
慢性糸球体腎炎	70 (26.9%)	82 (31.5%)	74 (28.4%)	83 (31.9%)
糖尿病性腎症	77 (29.6%)	54 (20.8%)	56 (21.5%)	66 (25.4%)
高血圧	27 (10.4%)	27 (10.4%)	27 (10.3%)	21 (8.1%)
のう胞腎	7 (2.7%)	8 (3.1%)	12 (4.6%)	12 (4.6%)
SLE	0 (0.0%)	3 (1.2%)	1 (0.4%)	0 (0.0%)
その他	64 (24.6%)	60 (23.1%)	74 (28.4%)	64 (24.6%)
不明	15 (5.8%)	26 (10.0%)	17 (6.5%)	14 (5.4%)
合併疾患 n (%)				
心筋梗塞	11 (4.2%)	9 (3.5%)	14 (5.4%)	12 (4.6%)
脳卒中	40 (15.4%)	51 (19.6%)	37 (14.2%)	37 (14.2%)
末梢動脈疾患	30 (11.5%)	33 (12.7%)	45 (17.2%)	72 (27.7%)*
悪性新生物	15 (5.8%)	20 (7.7%)	19 (7.3%)	23 (8.8%)
糖尿病	86 (33.1%)	60 (23.1%)	67 (25.7%)	74 (28.5%)
脂質異常	22 (8.5%)	32 (12.3%)	27 (10.3%)	38 (14.6%)
生活習慣				
現在喫煙	78 (30.0%)	71 (27.3%)	65 (25.0%)	64 (24.6%)
過去喫煙	58 (22.3%)	63 (24.2%)	61 (23.5%)	81 (31.2%)
常用飲酒	16 (6.2%)	13 (5.0%)	15 (5.7%)	30 (11.5%)

人数(パーセント)で表記

*.p < 0.05 χ^2 テスト

を比較するとヒ素濃度が最も高いQ4群では生存率が一見低く見えるが、ログランクテストによる有意差検定では生存率に明らかな違いはみられなかった(p=0.18)。各群の心筋梗塞罹患率を比較すると、血清ヒ素濃度が最も低いQ1群の心筋梗塞罹患率は、Q3群(ログランクテストp=0.01)・Q4群(p=0.01)と比較して有意に低く、Q2群と比較しても低い傾向にあった(p=0.08)。虚血性脳

卒中罹患率では、各群の罹患率の有意差はみられなかった。

表4はヒ素4分位群別にみた総死亡数、心筋梗塞罹患数ならびに虚血性脳卒中罹患と粗死亡率と粗罹患率(/1000人年)を示したものである。ヒ素血中濃度が上がるほど心筋梗塞罹患数と罹患率は高くなっていくことが示されている。しかし、総死亡率、循環器疾患死亡率、虚血性脳卒中罹患

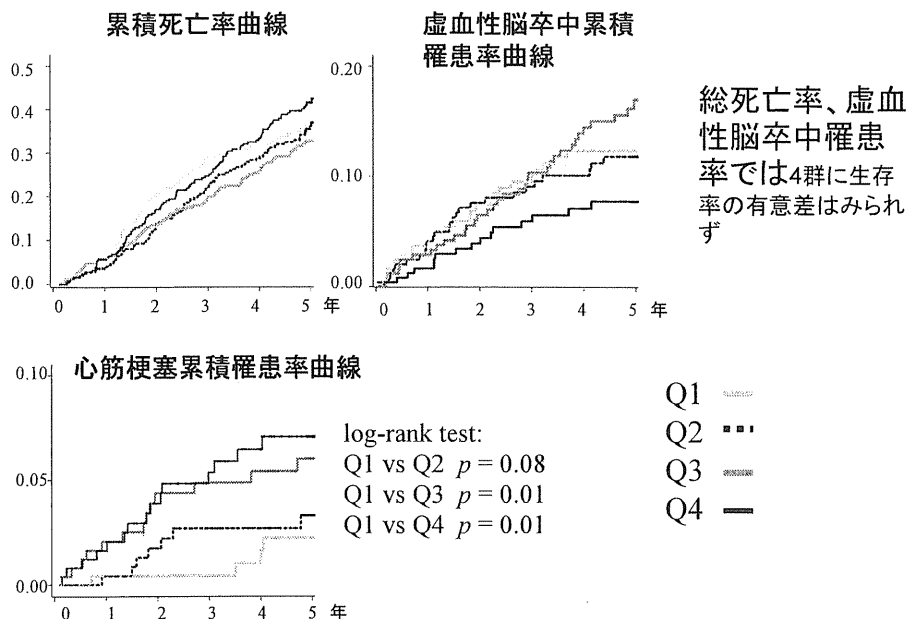


図4 カプランマイヤー累積死亡率・罹患率曲線

上段左側は累積死亡率曲線、右側は虚血性脳卒中の累積罹患率曲線である。ヒ素4分位間で総死亡率と虚血性脳卒中罹患率の差は認めなかった。
下段は心筋梗塞の累積罹患率曲線である。ヒ素濃度が最も低いQ1群はヒ素濃度が最も高いQ4群や2番目に高いQ3群と比較して死亡率は有意に低かった (p値はそれぞれ0.01)。

率と血清ヒ素濃度との間には有意な関係性は認められなかった。

図5はQ1群を基準とした上位3群の総死亡、心筋梗塞罹患ならびに虚血性脳卒中罹患の相対危険度 (95%信頼区間) を示している。左側には総観察人年中のイベント数 (死亡または疾患罹患) が示され、中央には多変量調整ハザード比と95%信頼区間のプロット図、右側には性・年齢調整ハザード比とその95%信頼区間の実測値が示されている。多変量解析の結果、総死亡リスク、虚血性脳卒中罹患リスクと血清ヒ素濃度との関連性は明らかではなかった。一方心筋梗塞罹患の相対危険度をみると、Q1群と比較した場合にQ3群 (ハザード比と95%信頼区間: 4.83 (1.55-15.0)) とQ4群 (3.93 (1.27-12.2)) の心筋梗塞罹患リスクは有意に高く、多変量調整トレンド検定の結果ヒ素濃度が高くなるほど心筋梗塞罹患リスクが上がる線形の関係性が確認された (トレンド $p = 0.014$)。

尚、心筋梗塞の既往を有する者を除外した新規心筋梗塞罹患リスクと脳卒中既往 (虚血性脳卒中または出血性脳卒中既往) を除外した解析を行うと、血清ヒ素濃度が高くなるほど心筋梗塞罹患リ

スクが上がる関係性はより明らかとなった (トレンド $p = 0.009$)。

IV. 考 察

多数の透析患者と代表性を有すると考えられる同一地域在住の健常対照との比較検討では、透析患者の血清ヒ素濃度は平均値で4倍、中央値で3倍高く、性年齢調整した比較においても有意に差が見られた。

透析患者の生体内ヒ素については、欧米で少数の透析患者と健常対照を解析対象とした比較研究が行われており、表5は一般健常人と腎不全・透析患者での血清ヒ素濃度を測定した二つの先行研究結果と我々の研究結果の概要を示している。先行研究は1990年代に行われ、解析装置にはHGAAS (hydride-generation atomic absorption spectrometry) が用いられている。この装置は現在の主流であるICP-MSと比較して測定感度、精度、ばらつきともに遜色はない。ヒ素化合物の定量評価に関しては、現在主流となっているICP-MSと高速液体クロマトグラフィーによる解析のほうがより精度が高い。ヒ素の総量の定量解析に関して

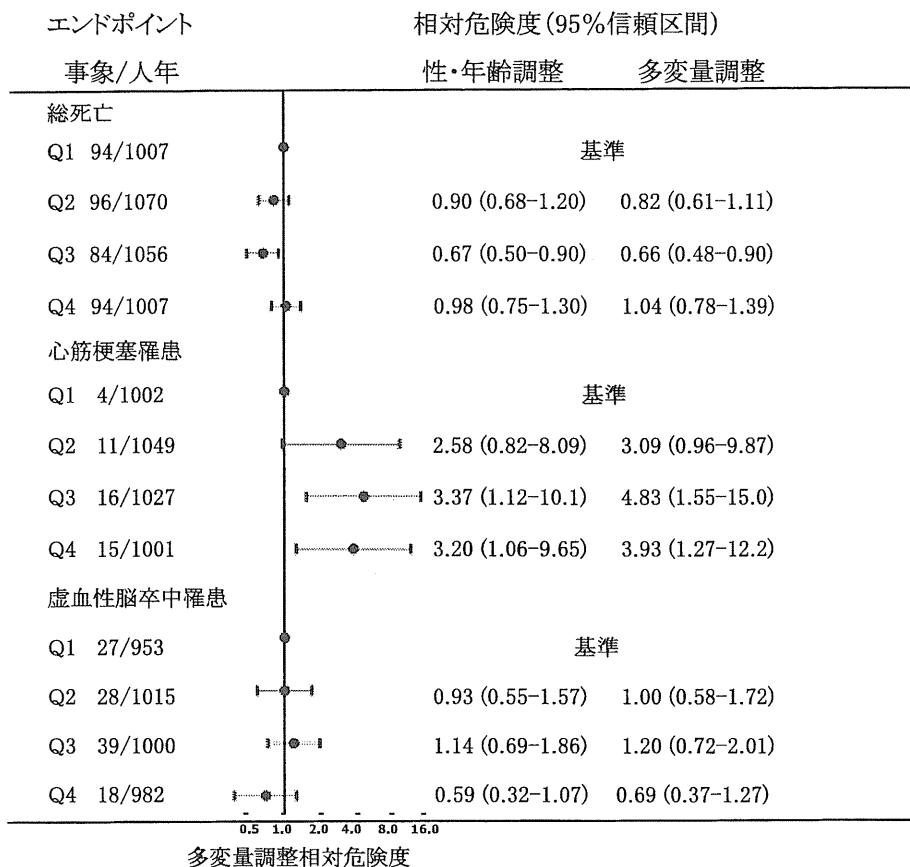


図5 血清ヒ素4分位別にみた総死亡、心筋梗塞罹患、虚血性脳卒中罹患の相対危険度
 図の左端はイベント数(死亡数または罹患数)/観察人年を示す。図の中央はQ1群を基準としたQ2-Q4群の相対危険度(多変量調整ハザード比を代用)をプロットしたものである。誤差線はハザード比の95%信頼区間を示している。図右端は性・年齢調整ハザード比と多変量調整ハザード比の実測値を示している。Q1群と比較してQ3群、Q4群の心筋梗塞罹患相対危険度はそれぞれ4.83、3.93と有意に高かった。一方総死亡リスクや虚血性脳卒中罹患リスクと血清ヒ素濃度との間に明らかな関係性は認められなかった。

表5 透析患者と対照で血清ヒ素濃度を比較検討した論文の概要

4分位グループ	Q1 (n=260)	Q2 (n=260)	Q3 (n=261)	Q4 (n=260)
As (μg/L, min-max)	3.76-23.2	23.3-33.3	33.4-47.1	47.2-573.6
公表	2010	1993		1996
研究施行地域	日本	オーストリア		ベルギー
男女比	1.79	1.5		0.8
透析患者年齢(歳)	61.2	64.2		62.3
試料	凍結血清(-80℃)	凍結血清		凍結血清(-20℃)
測定法	ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometer)	hydride-generation atomic absorption spectrometry		hydride-generation atomic absorption spectrometry
患者数(人)	1041	85		18
対照数(人)	384	25		19
透析患者	42.7	8.5	6.47(DMA1.93 AsB 3.42)	
健常対照	10.7	10.6	5.12(DMA0.82 AsB 3.55)	

は、解析手法は違うが我々の研究結果との比較をしても問題はないと考えられる。

先行研究結果と我々の研究結果を比較すると、解析対象となった患者の平均年齢と男女比に大きな違いはなかった。二つの先行研究報告によると、透析患者、健常対照ともに血清中ヒ素濃度は $10 \mu\text{g/L}$ 程度であり、透析患者の血清中ヒ素濃度は決して高いものではないことが示されている^{23,24)}。一方先行研究の10倍以上の透析患者数と健常対照者を集めた我々の研究では、日本人透析患者の血清ヒ素濃度が明らかに高かったことが示されている。

日本人を対象とした透析患者ならびに多数の一般住民で血清ヒ素濃度を測定した検討は見当たらない。我々の検討結果では、一般住民の血清中ヒ素濃度は $10 \mu\text{g/L}$ と欧米で行われた先行研究とほぼ同じ結果であったが、透析患者の平均血清ヒ素濃度は $40 \mu\text{g/L}$ と明らかに高く、最も高い血清ヒ素濃度の値は $573 \mu\text{g/L}$ であった。何故我々が解析対象とした日本人透析患者の血清中ヒ素濃度が高かったのかを明らかにする必要がある。

ヒ素による健康被害は、主に飲料水に含まれる無機ヒ素が大きく関わってきたとされる。無機ヒ素の摂取源とされる水道水のヒ素濃度はWHOでは $10 \mu\text{g/L}$ 以下に制限することが求められ²⁵⁾、日本においては厳格に基準が守られており、特殊な理由でヒ素の汚染が生じた場合を除いてヒ素による健康被害が生じる可能性はない。研究対象地域の水道水のヒ素濃度は(2町の提供する複数回の測定結果はいずれもヒ素及びその化合物濃度が 0.001mg/L 未満であった)決して高くはなく、透析患者で観察された血清ヒ素濃度の高さに飲料水中のヒ素が影響したとは考えにくい。

一方日本を含む東アジア人は食品として海産物を好んで摂取し、有機ヒ素の摂取が多いことが指摘されている¹⁶⁾。我々の検討では、健常対象者の平均の血清ヒ素濃度は $10 \mu\text{g/L}$ と決して高くはなかったが、 $50 \mu\text{g/L}$ を超えていた健常対照者が2例存在していた。高値を示した2例では、たまたま測定日の直前に食物摂取によって有機ヒ素が体内に取り込まれ、ヒ素が尿中排泄されるまでの期間に採血されたことで血清ヒ素濃度が高かったこ

とが推測された。

日本人は平均して1日あたりおよそ $180 \mu\text{g}$ のヒ素を摂取し、その多くがアルセノベタインを始めとする有機ヒ素と考えられる¹⁶⁾。例外的にヒジキには比較的少量の無機ヒ素が含まれ、含有ヒ素の60%が無機ヒ素であることが示されている。2001年にはカナダ、2004年には英国でヒジキ摂取によるヒ素の健康被害の可能性を考慮して摂取を控えるべきとの勧告をだした¹⁶⁾。しかし、日本人を対象とした研究では通常の食事でヒジキから摂取される無機ヒ素と有機ヒ素は健康に影響を与えないとしている²⁶⁾。

経口摂取された有機ヒ素の人体への直接の急性毒性は一般にはないと言われている²⁵⁾。Buchetらの検討では経口摂取された有機ヒ素(モノメチルヒ酸(monomethylarsonic acid: MMA)とジメチルヒ酸(dimethylarsinic acid: DMA)の75-85%が1日以内に尿中に排泄されている²⁷⁾。Francesconiらの検討ではアルセノシュガーを摂取した後4日以内に80%が尿中に排泄されたとしている²⁸⁾。また食品から最もよく検出される有機ヒ素の多くを占めるアルセノベタインは、1980年代に行われた動物実験によると摂取後速やかに吸収され全く代謝を受けずに速やかに尿中に排泄されたとされる²⁹⁾。

日本人透析患者は魚介類摂取により有機ヒ素を比較的少量に摂取している可能性があるが、従来の勧告は健常人を対象としたヒ素の体内動態に基づいたものであり、腎機能が廃絶している透析患者での検討は筆者が渉猟しえた限り報告はない。一般人を対象とした多くの疫学研究では、魚介摂取が多いほど動脈硬化性疾患発症リスクや死亡リスクが下がることが示されている。そしてその理由として、魚介に多く含まれる ω 3多価不飽和脂肪酸が動脈硬化進展を抑制することが指摘されている³⁰⁻³²⁾。しかし、本研究結果から類推すると、もしヒ素の体内過剰が魚介摂取によってもたらされているとしたら、透析患者においては魚介摂取によるメリットは発揮されずに、むしろ魚介に含まれるヒ素が体内に蓄積して結果として動脈硬化性疾患罹患リスクを高めてしまう可能性を示唆する。

表6 ヒ素が循環器疾患有病・発症・死亡と関係があったと報告した研究の概要

研究時期とデザイン	ヒ素曝露による循環器疾患への影響 研究結果
1900年初頭:症例報告。ヒ素曝露と心不全の関係	Raynolds E:Manchester近郊で起きたヒ素に汚染されたビールによる6000人以上の健康被害を報告。70人以上が死亡。典型的なヒ素中毒(皮膚病変・神経病変・消化器病変)とともに心不全で死亡する例が多いことを報告。
1980年代:症例報告。ヒ素曝露と心筋梗塞罹患	Zaldivar, R:Chileの飲料水の高濃度ヒ素地域のヒ素皮膚病変を有する40歳未満の急性心筋梗塞(AMI)死亡14例とヒ素皮膚病変のない若年AMI14例とを比較。ヒ素のAMI発症への関連性について報告。
1980年代:ケースコントロール研究。 ヒ素曝露と黒肢病との有病関係。	Chen CJ:台湾で241人の高濃度ヒ素曝露地域の黒肢病患者とヒ素曝露のない健常対照と比較検討。高濃度ヒ素曝露が黒肢病と有意に関係。また予後追跡では、黒肢病患者で循環器疾患死亡、がん死亡のリスクが高いことを示した。
1990年代:生態学的研究とケースコントロール研究	Chen CJ:台湾高濃度ヒ素曝露地域60村で生態学的研究とBFD患者263人と非患者2293人の5年間追跡調査。生態学研究ではヒ素曝露量と冠動脈疾患死亡との関係性あり。BFD者は2.5倍冠動脈疾患で死亡。
1990年代:横断解析	Chiou, HY.:12003人の台湾住民を対象として井戸水のヒ素濃度と脳卒中罹患リスクとの関係性をみた。井戸水のヒ素濃度が高くなるほど脳卒中有病リスクが高くなる線形の関係性が認められた。
1990年代:横断解析、SMR算出	Tsai, SM.:186-93.台湾の高濃度ヒ素曝露地域で死因別のSMRを算出。各種癌疾患死亡とともに、血管疾患死亡・冠動脈疾患死亡・脳血管疾患死亡率が高いことが示された。
2000年代:横断解析	Tseng CH.:高濃度ヒ素曝露地域の台湾住民462人で井戸水のヒ素曝露量(濃度×飲水期間)と冠動脈疾患の有病率との関連を検討した。曝露量が大きいほど冠動脈疾患有病率が高かった。
2000年代:生態学的研究	Yuan, Y.:チリの高濃度ヒ素曝露地域(477000人)と対照地域で死亡診断書閲覧による心筋梗塞死亡の相対危険度を算出。高濃度曝露地域では男性で1.45倍、女性で1.26倍心筋梗塞死亡リスクが高いことが示された。

魚介摂取が透析患者の動脈硬化性疾患罹患リスクに悪影響を与えるのかは栄養調査を実施して検証することが必要である。また、健常人では何ら健康被害を起こすことなく速やかに尿中排泄されると考えられてきたこれらのヒ素化合物は腎機能の廃絶した透析患者の体内でどのような動態を示すのかは全く検討されていない。もし摂取された有機ヒ素が血液中から除去されずに長く体内に残留し、週3回行われる血液透析治療でも十分に除去されず、一部は血中から組織へ移行し、長期的には動脈硬化症進展や発ガンに寄与する可能性があるのであれば、事実関係を明らかにして予防対策を実施する必要がある。その関連性について早急な解明が待たれる。

我々は本研究によって1,041名の透析患者の血清ヒ素濃度の測定を行って血清中ヒ素濃度が高くなるほど心筋梗塞罹患リスクが高いことを明らかにした。体内のヒ素濃度が長期的な予後に影響したと報告をした前向き研究は、現時点では一つも

存在しない。従来行われた研究は、ヒ素高濃度曝露者において高率に観察された疾患発症の症例報告や³⁰⁾、ヒ素の高濃度曝露地域においてヒ素の非曝露地域との比較を通して疾患有病率・死亡率が高くなることを報告した生態学的研究が主であった^{7~13)}。表6は高濃度のヒ素が有病リスクを上げているとする研究の概要を示したものである。今回の研究テーマに因んで、ヒ素が循環器疾患有病や死亡に影響している可能性を示した研究に着目して列挙した。

1900年代初頭からヒ素による循環器疾患発症との関連性については言及されてきたが³³⁾、ヒ素と循環器疾患とのかわりについて大きな知見をもたらしたのは環境中のヒ素が高濃度に存在したチリと台湾での観察研究である。1980年代チリでは飲料水のヒ素濃度が高い地域で若年の心筋梗塞患者が多いことが報告され⁷⁾、同じころ台湾の風土病とも言われた鶏肢病(黒肢病)には井戸水から摂取する高濃度の無機ヒ素が関連しているとす

る論文がいくつか出された¹²⁾。本研究では、血清ヒ素濃度が高いほど透析患者の末梢動脈疾患有病率が高くなる正の線形関係が認められ、台湾で観察された井戸水のヒ素濃度と鶏肢病有病率との関連性と類似した所見と考えられる。更に台湾では高濃度ヒ素曝露により鶏肢病のみならず冠動脈疾患死亡⁸⁾や脳卒中の有病リスクが¹³⁾高くなる可能性も指摘している。一方最近の死亡診断書による死因と飲料水のヒ素との関係を検討したチリの研究では、高濃度ヒ素曝露は心筋梗塞による死亡とは関係していたものの脳卒中死亡とは関係していなかったと報告しており¹¹⁾、今後の検討課題である。上記研究はいずれも生態学的研究・後ろ向きの研究または横断的解析の手法をとった研究であり、直接の因果関係を示したものではない。

ヒ素が動脈硬化症を進展させるメカニズムについて、ヒ素はIL8（好中球の主要なケモカイン）などの炎症性サイトカインの遺伝子発現に関することや³⁴⁾、ヒ素そのものがNF κ BやAP-1などの転写因子の強力な活性化作用を有することが動物実験で示され³⁵⁻³⁷⁾、ヒ素が動脈硬化症進展に関する炎症反応を更新させることが示唆されている。またヒ素が血小板凝集を増強させることや³⁸⁾、ヒ素が薬物による血管拡張反応を抑制することが動物実験で示されている³⁹⁾。以上よりヒ素は複数の要因に働きかけて動脈硬化症の進展に関わっていることが推測される。

心筋梗塞とアテローム性脳梗塞は、ともに粥状動脈硬化症の進展によって生じるが、ヒ素はこの粥状動脈硬化症を加速進展させることで、両者の罹患リスクを上げている可能性がある。しかし、我々の研究結果では血清ヒ素濃度が高いほど心筋梗塞罹患リスクが上がっていたが、虚血性脳卒中罹患リスクは上がってはいなかった。その理由として、虚血性脳卒中には、アテローム性脳梗塞のみならず、より高血圧の影響を強く受ける細動脈硬化症（穿通枝硬化症）由来の脳梗塞も多く含まれることから、患者全体の8割が高血圧症を有する透析患者集団では¹⁸⁾、虚血性脳卒中発症にはヒ素に比べて高血圧がより強く関与し、血清ヒ素濃度の虚血性脳卒中発症リスクへの関与が明らかにできなかった可能性がある。

我々は多数の日本人透析患者の血清ヒ素濃度を測定して、一般住民との比較を通じた横断研究により透析患者で血清ヒ素濃度が高いことを、前向き研究によって血清ヒ素濃度が透析患者の心筋梗塞罹患に影響していることを明らかにした。同様の研究結果を示した報告は全くなく、現時点では我々の検討が唯一のものである。

しかし、我々の検討結果には補足すべき事項が幾つか存在する。まず本研究では男女を一緒に合わせて解析を行ったが、性別に分けた解析を行うとイベント数が不足して統計的解析パワーが不足し、Cox回帰分析による検定ができなかった。血清ヒ素濃度と性との交互作用が存在した可能性を考慮し、交互作用モデルによる検討を行ったが、血清ヒ素と性別との間に明らかな交互作用は存在しなかった（交互作用モデル $p = 0.414$ ）。従って、ヒ素濃度が透析患者の予後に与える影響を男女一緒にあわせて検討したが、その解析結果は大きく歪められてはいないと考えられる。

次に、血清ヒ素濃度が透析患者で高かった理由として日本人特有の魚介類の多量摂取を推測したが、本研究では栄養調査を実施しておらず、透析患者や一部の一般健常人で観察された血清ヒ素濃度の高値が、本当に食品に含まれるヒ素によって影響を受けているのかを栄養調査を実施することで確認する必要がある。

透析患者や一般住民で測定された血清中のヒ素の成分分析が必要である。従来の研究は、尿中に排泄されるヒ素を化学形態別に測定した報告が多いが、本研究では末期透析患者が対象であるために尿中の測定は不可能であった。このため保存血清を用いてヒ素総量を測定したが、一般住民と透析患者で血清中のヒ素の化学形態について、魚介類に多いとされるアルセノベタインがそのほとんどを占めていたのか、それとも違う化合物の割合が高かったのか、等について明らかにする必要がある。化学形態別の測定を実施した上で、アルセノベタインに代表されるヒ素含有食品を摂取した場合に血清中ヒ素濃度の一般住民や透析患者における時間的推移を明らかにする必要がある。

更に透析患者では透析治療でヒ素が化学形態によってどのように除去されていくのかを明らかに

することによって、透析患者で高濃度の血清ヒ素濃度が持続する原因を明らかにできると考えられる。これらの結果を踏まえて、改めてヒ素が体内に残存して長期的には動脈硬化症を促進させるのか、発ガンに影響するのかについて検討する必要がある。これらの解決すべき課題に対しての答えを用意する必要があり、その上で日本人透析患者で認められた高い血清中ヒ素濃度と高い血清中ヒ素濃度が将来の心筋梗塞発症確率を上げていたことの意味を再考し、その機序を明らかにするとともに予防施策を構築する必要がある。

(本論文の要旨は第46回日本循環器管理研究協議会総会・日本循環器病予防学会(平成22年5月29日):一般口演において発表された)

研究助成

本研究の登録調査は、岩手県保健医療研究補助金助成を受けて実施した。透析患者コホート研究追跡調査は、科学研究費補助金事業「透析患者の循環器疾患発症・死亡のリスク要因に関する大規模コホート研究(課題番号18590568(H18年~H19年)、主任研究者 大澤正樹)」を受け実施した。また、透析患者のヒ素濃度測定に関しては、上原記念生命科学財団補助金事業平成19年度研究助成「成人血液透析患者の血清微量元素濃度と循環器疾患罹患率・死亡率との関連(研究代表者 大澤正樹、研究協力者 藤岡知昭、板井一好、丹野高三)」を受けて実施した。

謝 辞

今回の研究を実施するにあたり、研究に快く参加していただいた岩手県内在住の透析患者さんならびに各透析施設の関係各位に深く感謝申し上げます。また追跡調査で多くの患者診療記録を閲覧して直接の情報収集に当たった、研究看護師古沢智子さん、畠山雅子さん、星川綾子さん、データ整理を担当していただいた栗林純子さんとメリケ・アブリズさん、事務の吉田美貴子さん、佐々木弓枝さん、新里朋子さん、鈴木優子さん、山田静香さん、膨大な検体の微量元素測定を手伝っていただいた菊池鉄弥君の献身的なご助力に改めて感謝を申し上げます。

カレン研究グループ

研究代表者: 藤岡知昭(岩手医科大学泌尿器科学講座)

主任研究者: 加藤香廉(三愛病院泌尿器科); 大澤正樹、丹野高三、板井一好、小野田敏行、坂田清美(岩手医科大学医学部衛生学公衆衛生学講座); 藤島洋介(岩手医科大学泌尿器科学講座); 岡山明(結核予防会第一健康相談所); 中村元行(岩手医科大学内科学講座)

研究協力者: 藤島幹彦、中村祐子(矢巾クリニック); 山内文俊、清野耕治、那須雅孝、上林多代、前田信子(三愛病院); 佐藤倫郎(三島内科); 長澤 茂、鈴木 明(友愛病院); 山田行夫(山田クリニック); 岩動 孝(いするぎ医院); 沼里 進(盛岡赤十字病院); 大日向 充(大日向医院); 松坂純一(沼宮内クリニック); 青木 光(二戸クリニック); 高田 耕、戸田忠夫(岩手県立一戸病院); 阿部 正、杉村 淳(岩手県立久慈病院); 漆久保 潔、笠月瑞子(国保種市病院); 小原紀彰(小原クリニック); 石原敬夫(宝陽病院); 北村道彦、梶川恒雄、藤澤宏光(岩手県立中部病院); 斎藤和好、鈴木 薫(北上済生会病院); 金澤重俊(日高見中央クリニック); 小池博之(きたかみ腎クリニック); 菅野千治、尾張幸久(岩手県立宮古病院); 後藤康文、後藤康樹(後藤泌尿器科医院); 後藤 尚(後藤医院); 柴野良博(岩泉済生会病院)

文 献

- 1) Foley R, Parfrey P, Sarnak M. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1998;32 (supple 5) S112-S119.
- 2) Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH, et al. Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int* 2003;63(3):793-808.
- 3) Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulter F, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999;55(5):1899-911.
- 4) Silverberg DS, Wexler D, Blum M, et al. The cardiovascular anemia syndrome: correcting anemia in

- patients with resistant congestive heart failure can improve both cardiac and renal function and reduce hospitalizations. *Clin Nephrol* 2003;60 Suppl 1:S93-102.
- 5) Tonelli M, Wiebe N, Hemmelgarn B, et al. Trace elements in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med* 2009;7:25.
- 6) Nordberg G, Fowler B, Nordberg M, Friberg L, editors. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Third Edition ed. Burlington, MA: Academic Press, 2007.
- 7) Zaldivar R. A morbid condition involving cardiovascular, broncho-pulmonary, digestive and neural lesions in children and young adults after dietary arsenic exposure. *Zentralbl Bakteriol B* 1980;170(1-2):44-56.
- 8) Chen CJ, Chiou HY, Chiang MH, et al. Dose-response relationship between ischemic heart disease mortality and long-term arsenic exposure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16(4):504-10.
- 9) Tsai SM, Wang TN, Ko YC. Mortality for certain diseases in areas with high levels of arsenic in drinking water. *Arch Environ Health* 1999;54(3):186-93.
- 10) Tseng CH, Chong CK, Tseng CP, et al. Long-term arsenic exposure and ischemic heart disease in arseniasis-hyperendemic villages in Taiwan. *Toxicol Lett* 2003;137(1-2):15-21.
- 11) Yuan Y, Marshall G, Ferreccio C, et al. Acute myocardial infarction mortality in comparison with lung and bladder cancer mortality in arsenic-exposed region II of Chile from 1950 to 2000. *Am J Epidemiol* 2007;166(12):1381-91.
- 12) Chen CJ, Wu MM, Lee SS, et al. Atherogenicity and carcinogenicity of high-arsenic artesian well water. Multiple risk factors and related malignant neoplasms of blackfoot disease. *Arteriosclerosis* 1988;8(5):452-60.
- 13) Chiou HY, Huang WI, Su CL, et al. Dose-response relationship between prevalence of cerebrovascular disease and ingested inorganic arsenic. *Stroke* 1997;28(9):1717-23.
- 14) Tonelli M, Wiebe N, Hemmelgarn B, et al. Trace elements in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med* 2009;7:25.
- 15) 食品安全に関するリスクプロファイルシート (検討会用) 更新日平成 21 年 11 月 30 日 ハザードの名称 ヒ素. 東京: 農林水産省, 2009:1-7.
- 16) 平成 20 年度食品中に含まれるヒ素の食品影響評価に関する調査 報告書. 東京: 内閣府食品安全委員会食品安全情報システム, 2009.
- 17) Mohri T, Hisanaga A, Ishinishi N. Arsenic intake and excretion by Japanese adults: a 7-day duplicate diet study. *Food Chem Toxicol* 1990;28(7):521-9.
- 18) Ohsawa M, Kato K, Itai K, et al. Cardiovascular risk factors in hemodialysis patients: results from baseline data of kaleidoscopic approaches to patients with end-stage renal disease study. *J Epidemiol* 2005;15(3):96-105.
- 19) 大澤正樹、加藤香廉、藤島洋介、他 岩手県透析患者の悉皆的コホート研究: 2 年間の追跡調査結果報告. *日循予防誌* 2007;42:86-96.
- 20) Itai K, Onoda T, Nohara M, et al. Serum ionic fluoride concentrations are related to renal function and menopause status but not to age in a Japanese general population. *Clin Chim Acta* 2010;411(3-4):263-6.
- 21) Ohsawa M, Kato K, Itai K, et al. Standardized prevalence ratios for chronic hepatitis C virus infection among adult Japanese hemodialysis patients. *J Epidemiol* 2010;20(1):30-9.
- 22) Kennedy J, Carey R, Coolen R, et al. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. . Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards., 1999.
- 23) Mayer DR, Kosmus W, Poggitsch H, et al. Essential trace elements in humans. Serum arsenic concentrations in hemodialysis patients in comparison to healthy controls. *Biol Trace Elem Res* 1993;37(1):27-38.
- 24) Zhang X, Cornelis R, Mees L, et al. Chemical

- speciation of arsenic in serum of uraemic patients. *Analyst* 1998;123(1):13-7.
- 25) Environmental Health Criteria 224 Arsenic and arsenic compounds 2nd edition. Geneva: International Programme on Chemical Safety WHO, 2001.
- 26) Nakajima Y, Endo Y, Inoue Y, et al. Ingestion of Hijiki seaweed and risk of arsenic poisoning. *Appl Organomet Chem* 2006;20:557-64.
- 27) Buchet JP, Lauwerys R, Roels H. Comparison of the urinary excretion of arsenic metabolites after a single oral dose of sodium arsenite, monomethylarsonate, or dimethylarsinate in man. *Int Arch Occup Environ Health* 1981;48(1):71-9.
- 28) Francesconi KA, Tanggaar R, McKenzie CJ, et al. Arsenic metabolites in human urine after ingestion of an arsenosugar. *Clin Chem* 2002;48(1):92-101.
- 29) Vahter M, Marafante E, Dencker L. Metabolism of arsenobetaine in mice, rats and rabbits. *Sci Total Environ* 1983;30:197-211.
- 30) Marckmann P, Gronbaek M. Fish consumption and coronary heart disease mortality. A systematic review of prospective cohort studies. *Eur J Clin Nutr* 1999;53(8):585-90.
- 31) He K, Song Y, Daviglius M, et al. Accumulated evidence on fish consumption and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of cohort studies. *Circulation* 2004;109(22):2705-11.
- 32) He K, Song Y, Daviglius M, et al. Fish consumption and incidence of stroke: a meta-analysis of cohort studies. *Stroke* 2004;35(7):1538-42.
- 33) Anonymous. Royal Commision Appointed to Inquire into Arsenical Poisoning form the consumption of beer and other articles of food or drink. Final report. Part I. London, 1903.
- 34) Simeonova PP, Hulderman T, Harki D, et al. Arsenic exposure accelerates atherogenesis in apolipoprotein E(-/-) mice. *Environ Health Perspect* 2003;111(14):1744-8.
- 35) Barchowsky A, Dudek EJ, Treadwell MD, et al. Arsenic induces oxidant stress and NF-kappa B activation in cultured aortic endothelial cells. *Free Radic Biol Med* 1996;21(6):783-90.
- 36) Burleson FG, Simeonova PP, Germolec DR, et al. Dermatotoxic chemical stimulate of c-jun and c-fos transcription and AP-1 DNA binding in human keratinocytes. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1996;93(2):131-48.
- 37) Simeonova PP, Wang S, Toriuma W, et al. Arsenic mediates cell proliferation and gene expression in the bladder epithelium: association with activating protein-1 transactivation. *Cancer Res* 2000;60(13):3445-53.
- 38) Lee MY, Bae ON, Chung SM, et al. Enhancement of platelet aggregation and thrombus formation by arsenic in drinking water: a contributing factor to cardiovascular disease. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002;179(2):83-8.
- 39) Lee MY, Jung BI, Chung SM, et al. Arsenic-induced dysfunction in relaxation of blood vessels. *Environ Health Perspect* 2003;111(4):513-7.

ABSTRACT

**A study of serum arsenic concentrations among hemodialysis patients:
comparison with controls and its effect on risk for death and the development
of myocardial infarction and ischemic stroke**

**Masaki Ohsawa^{*1}, Kazuyoshi Itai^{*1}, Kozo Tanno^{*1},
Yosuke Fujishima^{*1,2}, Karen Kato^{*3}, Akira Okayama^{*4},
Shigeatsu Endo^{*5}, Toshiyuki Onoda^{*1}, Kiyomi Sakata^{*1},
Motoyuki Nakamura^{*6}, Toru Kuribayashi^{*7}, Tomoaki Fujioka^{*2},
and the KAREN Study Group**

*¹ Department of Hygiene and Preventive Medicine, School of Medicine, Iwate Medical University

*² Department of Urology, School of Medicine, Iwate Medical University

*³ Division of Urology, San-ai Hospital

*⁴ The First Institute of Health Service, Japan Anti-tuberculosis Association

*⁵ Department of Critical Care Medicine, School of Medicine, Iwate Medical University

*⁶ Division of Cardiovascular Medicine, Nephrology and Endocrinology,

Department of Internal Medicine, School of Medicine, Iwate Medical University

*⁷ Department of Health and Physical Education, Faculty of Education, Iwate University

A population-based cohort study of hemodialysis patients (The KAREN Study, n=1041) has been carried out in Iwate Prefecture, Japan since 2003. Serum arsenic concentrations ($\mu\text{g/L}$) were determined by ICP-MS and compared in hemodialysis patients and randomly recruited healthy controls (n=385) using analysis of covariance \square ANCOVA \square after adjustment for age and sex. Adjusted mean (95% confidence intervals) of serum arsenic levels in hemodialysis patients was higher than that in the controls (42.4 (40.1-44.6) vs 11.6 (7.82-15.4), $p<0.05$ by ANCOVA). Follow-up studies were completed in all 1,041 patients a 5-year after initial registration. The total observation period was 4152 patient-years. There were 382 deaths, 48 cases of acute myocardial infarction and 112 cases of ischemic stroke. Patients were divided into quartile groups according to their serum arsenic levels and the crude mortality rates and crude incident rates of acute myocardial infarction and ischemic stroke in these groups were estimated. A linear trend test between the serum arsenic level and the risk of death, the incidence of myocardial infarction and ischemic stroke was performed after adjustment for following risk factors: age, sex, blood pressure, body mass index, high CRP level, low albumin level and co-morbid conditions (diabetes mellitus, dyslipidemia, a history of myocardial infarction, a history of stroke and a history of malignant diseases). A positive association between the serum arsenic level and a risk for the incidence of myocardial infarction was observed even after multivariate adjustment (trend $p=0.014$). The association become clearer after excluding patients with an old myocardial infarction (trend $p=0.009$). Associations between the serum arsenic level and death risk and between the arsenic level and risk for ischemic stroke were not observed. Japanese hemodialysis patients have high serum arsenic levels and the higher serum arsenic level contributes to a higher risk for a myocardial infarction to occur.

Key Words : *Hemodialysis, arsenic, population-based cohort study, myocardial infarction, ischemic stroke,*

The KAREN Study

Received ● . ● , 2011 . Accepted ● . ● , 2011 .

(JJCDP 46: ● - ● , 2011)

Original Article

Serum selenium levels are inversely associated with death risk among hemodialysis patients

Yosuke Fujishima^{1,2}, Masaki Ohsawa¹, Kazuyoshi Itai¹, Karen Kato³, Kozo Tanno¹, Tanvir Chowdhury Turin⁴, Toshiyuki Onoda¹, Shigeatsu Endo⁵, Akira Okayama⁶ and Tomoaki Fujioka²

¹Department of Hygiene and Preventive Medicine, Iwate Medical University, Morioka, Japan, ²Department of Urology, Iwate Medical University, Morioka, Japan, ³Division of Urology, San-ai Hospital, Morioka, Japan, ⁴Department of Medicine, University of Calgary, Calgary, Canada, ⁵Department of Critical Care, Iwate Medical University, Morioka, Japan and ⁶The First Institute of Health Service, Japan Anti-Tuberculosis Association, Tokyo, Japan

Correspondence and offprint requests to: Yosuke Fujishima; E-mail: fyoosuke@iwate-med.ac.jp

Abstract

Background. Previous studies have indicated that serum selenium levels are decreased in hemodialysis patients. Selenium deficiency may contribute to an increased risk for death among hemodialysis patients.

Methods. A population-based prospective cohort study in adult hemodialysis patients was conducted. A total of 1041 patients were enrolled. Patients were divided into quartile groups according to serum selenium levels. Mortality rates between the groups were compared by the log-rank test. Associations between serum selenium levels and cause-specific mortality risks in hemodialysis patients were examined by Cox's regression model.

Results. A total of 382 patients died during the 5-year follow-up period (median follow-up period, 4.9 years). Crude mortality rates in quartile groups according to serum selenium levels were 134.5, 99.9, 85.9 and 55.2 (per 1000 patient-years), respectively. The lowest quartile group had significantly higher mortality rates from all-cause and infectious disease-related death than the rates in the other three groups ($P < 0.001$, by log-rank test). Mortality rates from cardiovascular and malignant disease-related death were similar between the groups. A strong inverse relationship between selenium levels and infectious disease-related death was observed even after multivariate adjustment (trend $P = 0.024$).

Conclusions. Serum selenium levels were inversely associated with death risk, especially death risk due to infectious disease, among hemodialysis patients. Decreased serum selenium level may contribute to immunity dysfunction and may increase the risk of death from infectious disease in hemodialysis patients.

Keywords: hemodialysis; mortality; prospective study; risk factors; selenium

Introduction

Selenium is an essential component of the antioxidant enzyme and is needed for proper functioning of the immune system [1]. In the general population, selenium deficiency has been observed in patients with cardiovascular disease (CVD) [2], patients with cancer [3] and patients with viral infection [4], and the effects of selenium supplementation on prevention of several diseases such as cancer [5, 6] and CVD [2] have been reported on the basis of results of clinical trials and epidemiological studies.

Several studies have shown that serum levels of selenium in hemodialysis patients were lower than those in normal controls [7–12]. Insufficient dietary intake of selenium and/or loss of selenium through hemodialysis membranes may contribute to the low serum levels of selenium in hemodialysis patients [7]. These findings suggest that hemodialysis patients have low levels of serum selenium and that a considerable number of hemodialysis patients suffer from significant selenium deficiency.

Hemodialysis is associated with considerable morbidity and mortality due to accelerated CVD and general infectious disease [13, 14]. Hemodialysis-related risk factors for CVD mortality, including low body mass index (BMI), low serum cholesterol and low blood pressure, have been reported [15]. Moreover, the presence of 'malnutrition-inflammation complex syndrome' (MICS) [16] and 'malnutrition-inflammation-atherosclerosis syndrome' (MIAS) [17] in hemodialysis patients strongly contribute to poor prognosis.

However, much remains to be learned about other factors that contribute to the risk for death in hemodialysis patients. Selenium deficiency in hemodialysis patients may contribute to an increased risk for death from various diseases, and selenium deficiency may be one of the unknown strong risk factors for death in hemodialysis patients.

The aim of this study was to determine whether low serum selenium levels contribute to increased mortality in hemodialysis patients.

Materials and methods

Subjects

We have been conducting the 'Kaleidoscopic Approaches to patients with end-stage RENal disease Study' (the KAREN Study) since 2003 in the northern part of Japan. The KAREN Study is a population-based prospective study designed to determine the effects of risk factors on cardiovascular morbidity and mortality in hemodialysis patients. The study subjects were prevalent cases of adult hemodialysis patients.

Initial registration was completed in 1214 patients. Serum selenium tests were not done in 173 patients. Therefore, data for 1041 participants (663 men aged 22–91 years with a mean age of 61.2 ± 13.4 years and 378 women aged 25–88 years with a mean age of 61.1 ± 12.7 years) were analyzed in this study (see Figure 1) [18, 19].

Written informed consent for participation in the study was obtained from all subjects. The study was approved by the Medical Ethics Committee of Iwate Medical University and was conducted in accordance with the guidelines of the Declaration of Helsinki.

Measurements

Initial investigations in the KAREN Study were conducted from June 2003 to March 2004 and the examinations consisted of a questionnaire, review of medical records, measurements of blood pressure and anthropometric data and blood tests. The data gathering methodology was previously described [18]. The blood samples were transported to a laboratory (Mitsubishi Kagaku Bio-Clinical Laboratories, Inc., Morioka branch office) and analyzed the same day. Residual sera were stored at -80°C in our laboratory until determination of selenium.

Measurements of serum selenium concentrations

Frozen serum samples were unfrozen and each serum specimen (1 mL) was pipetted into a Teflon tube and then 3.0 mL of high-purity nitric acid was added. The solution was allowed to sit for 2 h at room temperature. Then, the tube was heated to 120°C for 12 h to completely degrade the organic matter in the serum sample. The resultant solution was cooled to room temperature and then transferred into a Teflon beaker. The beaker was heated to 100°C until desiccated. Dried samples were dissolved with 5 mL of 10% nitric acid and used for measurements. Selenium levels in sample solutions were determined using inductively coupled plasma-mass spectrometry (Elan 6000; PerkinElmer Co Ltd.). The within-run and total imprecision were determined according to the National Committee for Clinical Laboratory Standards Approved Guideline [20]. Two replicates of selenium measurements in mixed sera per day were carried out. The method produced a within-run standard deviation of $3.9 \mu\text{g/L}$ to $139.8 \mu\text{g/L}$. Total precision gave a standard deviation of $6.2 \mu\text{g/L}$ to $139.8 \mu\text{g/L}$.

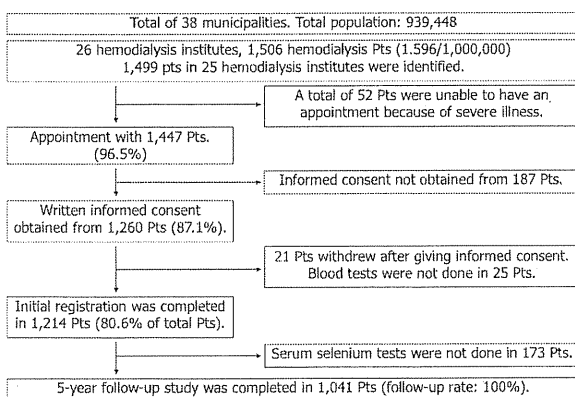


Fig. 1. Flow chart of the procedure used to select patients for participation in the KAREN Study. There were 1506 adults undergoing hemodialysis in the 26 centers in the study area. We were able to make contact with 1447 patients (96.5%). Fifty-two patients were then excluded because of their serious clinical condition. A total of 1260 patients (87.1%) provided written informed consent for participation in the study. A total of 1214 patients (80.6%) completed baseline examinations. Serum selenium tests were not done in 173 patients. We ascertained the vital status of all participants after completion of a 5-year follow-up survey for 1041 patients.

Definitions of comorbid conditions and risk factors

We determined the causes of renal failure and comorbid conditions based on medical records according to the KAREN study criteria [18]. Hypertension was defined as systolic blood pressure of 140 mmHg or higher and diastolic blood pressure of 90 mmHg or higher or use of antihypertension medication. Diabetes mellitus was defined as casual plasma glucose of 200 mg/dL or higher and Hb A_{1c} of 6.5% or higher or past or current use of hyperglycemic agents. Dyslipidemia was defined as serum total cholesterol (TC) of 220 mg/dL or higher or high-density lipoprotein (HDL-C) of <40 mg/dL or use of anti-dyslipidemia agents. Smoking status was classified into non-smoker, current smoker and past smoker. Regular alcohol drinking was defined as drinking ≥ 5 days/week.

Follow-up surveys and determination of causes of deaths

Follow-up studies were performed annually at each center. Members of the KAREN Study team reviewed all the medical records of study participants. The medical records of deceased patients were summarized. The cause of death was independently determined, based on the summaries, by KAREN Outcome Review Committee physicians who were blinded to the patient's characteristics including serum selenium levels. Discordant cases were discussed and final determination was reached by consensus.

In this study, we determined three major causes of death (CVD death), infectious disease-related death and malignant disease-related death) after coding according to the ICD10th revision (see Table 1). CVD includes cardiac death (I20–I25), death from pulmonary embolism (I26), stroke death (I60–I69), vascular death (I70–I77) and sudden cardiac death (I46, I49 and R96). Infectious disease-related death includes death from certain infectious and parasitic diseases (A00–B99), death from infectious diseases in the nervous system (G00 and G04.2), death from infectious diseases in the respiratory tract (J10–J18, J20, J69 and J86), death from infectious diseases in the gastrointestinal tract and digestive organs (K65, K80.3, K81) and death from infectious diseases in skin and subcutaneous tissue (L03 and L89). Malignant disease-related death is death from neoplasms (C02, C15, C16, C18, C20, C22, C34, C45, C55, C61, C64, C67, C72, C76 and D43).

Statistical analysis

Hemodialysis patients were divided into quartile groups according to serum selenium levels. Continuous variables are expressed as means (standard deviations) or sex- and age-adjusted means [95% confidence intervals (CIs)] estimated by analysis of covariance (ANCOVA) in quartile groups. Multiple comparisons were performed using the Bonferroni method. Sex- and age-adjusted proportions were determined by logistic regression analysis.

Cumulative probability of death was estimated by the Kaplan–Meier method, and mortalities were compared between the groups by the log-rank test. Crude mortality rates and direct age-adjusted mortality rates (per 1000 patient-years) stratified by quartile groups were calculated. Age-adjusted mortality rate was calculated by the direct method using the WHO standard population of 2000–25. Sex- and age-adjusted hazard ratios (HRs) and multivariate-adjusted HRs and their 95% CIs for total death, infection disease death, CVD death and malignant disease death were estimated in the upper three quartile groups compared with those for patients in the Q1 group serving as a reference after adjustment for risk factors [age, male gender, underweight (BMI < 18.5), overweight (BMI ≥ 27.5), hypertension (systolic blood pressure ≥ 140 or diastolic blood pressure ≥ 90 or medication), dyslipidemia (TC ≥ 220 mg/dL or HDLC < 40 mg/dL), diabetes mellitus, serum albumin levels, high-sensitivity CRP (hsCRP) levels, history of myocardial infarction, history of stroke, history of malignant disease, smoking status and regular drinking habit] using Cox's regression model. All P-values were based on two-sided tests and P-values < 0.05 were considered statistically significant. The Statistical Package for Social Sciences (SPSS version 15.0; SPSS Inc., Tokyo, Japan) was used for the analysis.

Results

Table 2 shows baseline characteristics of patients stratified by quartile groups according to serum selenium levels. Ranges of selenium levels of the quartile groups were 18.4–85.3 ($\mu\text{g/L}$) in the Q1 group, 85.4–99.9 in the Q2 group, 100.0–114.0

Table 1. Criteria for determining causes of death in the KAREN Study (based on ICD-10)

Cardiovascular death: I01–I99	
Cardiac death: I20–I25, I29, I27, I30–I52	
I20–I25	Coronary artery disease
I33	Acute and subacute endocarditis
I50	Heart failure
Pulmonary embolism death: I26	
Stroke death: I60–I69	
I60	Subarachnoidal hemorrhage
I61, I62	Intracerebral hemorrhage
I63	Cerebral infarction
I64, I67	Other type of stroke
Vascular death: I70–I77	
I70	Atherosclerosis
I71	Aortic aneurysm and dissection
I72, I73	Other peripheral artery disease
I74	Arterial embolism and thrombosis
I77	Other arterial disease
Sudden cardiac death: I46, I49, R96	
Cardiac arrest: I46	
I46.0	Cardiac arrest with successful resuscitation
I46.1	Sudden cardiac death, so described
I46.9	Cardiac arrest, unspecified
Ventricular fibrillation and flutter: I49	
I49.0	Ventricular fibrillation and flutter
Other sudden death, cause unknown R96	
R96.0	Instantaneous death
R96.1	Death occurring less than 24 h from onset of symptoms, not otherwise explained
Infectious disease-related death	
A: bacterial infection: A00–A09, A15–A19, A40–A41	
B: viral infection, fungal and other microorganism infection	
G: infectious diseases in nervous system	
G00	Bacterial meningitis, not elsewhere classified
G04.2	Bacterial meningoenzephalitis and meningomyelitis, not elsewhere classified
J: infectious diseases in respiratory tract	
J10–J11	Influenza
J12–J18	Pneumonia
J20	Acute bronchitis
J69	Pneumonitis due to solids and liquids
J86	Pyothorax
K: infectious diseases in gastrointestinal tract and digestive organ	
K65	Peritonitis
K80.3	Calculus of bile duct with cholangitis
K81	Cholecystitis
L: infectious diseases in skin and subcutaneous tissue	
L03	Cellulites
L89	Decubitus ulcer
Malignant neoplasm: (C02, C15, C16, C18, C20, C22, C34, C45, C55, C61, C64, C67, C72, C76, D43)	
C02	Malignant neoplasm of tongue
C15	Malignant neoplasm of esophagus
C16	Malignant neoplasm of stomach
C18	Malignant neoplasm of colon
C20	Malignant neoplasm of rectum
C22	Liver cell carcinoma
C34	Malignant neoplasm of bronchus or lung
C45	Methothelioma of pleura
C55	Malignant neoplasm of uterus
C61	Malignant neoplasm of prostate
C64	Malignant neoplasm of kidney
C67	Malignant neoplasm of bladder
C72	Malignant neoplasm of spinal cord
C76.2	Malignant neoplasm of abdomen (origin unknown)
D43.1	Neoplasm of brain (infratentorial)
Other causes of death	

in the Q3 group and 114.2–226.2 in the Q4 group. Mean age in the Q1 group was significantly older than mean ages in the other groups (Q1 versus Q2, $P = 0.006$; Q1 versus Q3, $P < 0.001$; Q1 versus Q4, $P < 0.001$, by analysis of variance), and an inverse relationship between serum selenium levels and age was observed (trend $P < 0.05$). Proportions of male patients and mean vintage of hemodialysis were not different between the groups.

Both sex- and age-adjusted means of BMI in the Q3 and Q4 groups were significantly higher than that in the Q1 group (Q1 versus Q2, $P = 0.450$; Q1 versus Q3, $P = 0.020$; Q1 versus Q4, $P = 0.043$, by ANCOVA). Adjusted means of serum albumin in the Q3 and Q4 groups were significantly higher than that in the Q1 group (Q1 versus Q2, $P = 0.292$; Q1 versus Q3, $P = 0.004$; Q1 versus Q4, $P < 0.001$, by ANCOVA). Adjusted geometric means of hsCRP levels in the Q2, Q3 and Q4 groups were significantly lower than that in the Q1 group (Q1 versus Q2, $P = 0.001$; Q1 versus Q3, $P = 0.002$; Q1 versus Q4, $P < 0.001$, by ANCOVA). The proportion of patients with hypertension in the Q4 group was significantly higher than that in the Q1 group (Q1 versus Q2, $P = 0.819$; Q1 versus Q3, $P = 0.777$; Q1 versus Q4, $P = 0.024$, by logistic regression). The proportion of patients having a current smoking habit in the Q2 group was significantly higher than that in the Q1 group (Q1 versus Q2, $P = 0.029$; Q1 versus Q3, $P = 0.901$; Q1 versus Q4, $P = 0.113$, by logistic regression). Proportions of other comorbid conditions were not different between the groups after sex and age adjustment.

After completion of 5-year follow-up studies, the observed patient-years were 4152. Mean and median follow-up periods were 4.0 and 4.9 years, respectively. A total of 382 patients died during the 5-year observation period. Figure 2 shows Kaplan–Meier estimated cumulative probability of death for the groups. The Q1 group had a significantly higher mortality rate from all causes of death than the rates in the other three groups (Q1 versus Q2, $P = 0.024$; Q1 versus Q3, $P < 0.001$; Q1 versus Q4, $P < 0.001$, by log-rank test, Figure A). The Q1 group also had a significantly higher mortality rate from infectious disease than the rates in the other three groups (Q1 versus Q2, $P < 0.001$; Q1 versus Q3, $P < 0.001$; Q1 versus Q4, $P < 0.001$, Figure C). No significant differences in mortality rate between the groups were observed for CVD-related death and malignant disease-related death.

Table 3 shows numbers of deaths and crude or age-adjusted mortality rates (per 1000 patient-years) by the quartile groups according to serum selenium levels in the hemodialysis patients. Crude (age-adjusted) mortality rates in the quartile groups (Q1, Q2, Q3 and Q4) were 134.5 (49.6), 99.9 (37.7), 85.9 (31.6) and 55.2 (25.2), respectively, for all-cause death and 52.7 (14.4), 20.2 (6.6), 17.9 (4.8) and 8.9 (3.6), respectively, for infectious disease-related death. These data suggested that lower selenium levels in hemodialysis patients contributed to increased risks for all-cause and infectious disease-related deaths. On the other hand, relationships of serum selenium levels with CVD-related death and malignant disease-related death were not observed. Results were similar when the general Japanese population was used for age-standardization (data not shown).

Figure 3 shows adjusted HRs for all-cause death, CVD-related death, infectious disease-related death and malignant

Table 2. Baseline characteristics stratified by quartile groups according to serum selenium levels^a

Groups (<i>n</i>) Se range (ug/L)	Q1 (260) 18.4 to 85.3	Q2 (261) 85.4 to 99.9	Q3 (259) 100.0 to 114.0	Q4 (261) 114.2 to 226.2	Excluded subjects (173)
Men, <i>n</i> (%)	160 (63.0)	165 (65.6)	160 (63.6)	159 (63.0)	116 (67.1)
Means (SD)					
Age (years)	65.8 (12.7)	62.0 (12.4)*	61.3 (12.4)*	55.6 (13.0)*	61.8 (12.3)
Vintage of dialysis	6.8 (6.7)	6.2 (6.0)	6.2 (5.9)	6.7 (6.4)	10.0 (8.8)§
Sex- and age-adjusted means (95% CI)					
BMI (Kg/m ²)	20.4 (20.0 to 20.7)	20.8 (20.5 to 21.2)	21.1 (20.8 to 21.5) [†]	21.1 (20.7 to 21.5) [†]	20.6 (20.2 to 21.0)
SBP (mmHg)	155.0 (152 to 158)	156.0 (153 to 159)	156.0 (153 to 159)	154.0 (151 to 158)	152.9 (149 to 156)
Serum albumin (g/dL)	3.7 (3.6 to 3.7)	3.7 (3.7 to 3.8)	3.8 (3.7 to 3.8) [†]	3.9 (3.8 to 3.9) [†]	3.7 (3.6 to 3.7)
Hb (g/dL)	10.1 (10.0 to 10.3)	10.2 (10.1 to 10.4)	9.9 (9.8 to 10.1)	10.2 (10.0 to 10.4)	10.5 (10.3 to 10.8) [§]
Ht (%)	31.1 (30.6 to 31.6)	31.6 (31.1 to 32.1)	30.6 (30.1 to 31.1)	31.4 (30.9 to 31.9)	32.5 (31.9 to 33.1) [§]
hsCRP (mg/dL)	1.81 (1.52 to 2.16)	1.13 (0.95 to 1.35) [†]	1.14 (0.95 to 1.35) [†]	0.94 (0.78 to 1.12) [†]	1.38 (0.95 to 1.68)
Sex- and age-adjusted proportions of comorbid conditions, cause of renal failure and habits (%)					
Hypertension	87.7	88.3	88.4	93.4 [‡]	80.9 [§]
DM	29.1	33.9	32.2	29.0	31.9
CGN	28.3	28.9	29.4	27.5	29.3
DMN	24.4	28.2	28.9	27.2	28.8
History of stroke	19.3	15.8	14.0	14.0	14.3
History of MI	3.9	5.5	5.8	3.4	3.1
Current smoker	31.7	43.0 [‡]	31.9	40.9	48.7 [§]
Past smoker	36.0	31.5	43.2	33.8	31.6
Regular drinker	9.0	5.5	10.3	13.4	7.5

^aContinuous variables are expressed as means (standard deviations) or adjusted means (95% CIs) estimated by ANCOVA. Multiple comparisons were performed using the Bonferroni method. Proportions are expressed as percentages. Proportions were estimated by logistic regression analysis after adjusting for sex and mean age (61.2 years). Abbreviations: Se, selenium; *n*, number; SBP, systolic blood pressure; Hb, hemoglobin; Ht, hematocrit; DM, diabetes mellitus; CGN, chronic glomerulonephritis; DMN, diabetic nephropathy; MI, myocardial infarction.

**P* < 0.05 by one-way ANOVA. [†]*P* < 0.05 by ANCOVA. [‡]*P* < 0.05 by logistic regression. (Q1 versus each group), [§]*P* < 0.05 by Student's *t*-test or chi-square test (subjects versus excluded subjects).

disease-related death in the upper three groups compared with those for patients in the Q1 group. An inverse relationship between serum selenium levels and all-cause mortality was observed after adjustment for sex and age (trend *P* = 0.007), and an inverse relationship between serum selenium and infectious disease-related mortality was observed after adjustment for sex and age (trend *P* < 0.001). Risks for infectious disease-related mortality in the Q2, Q3 and Q4 groups were significantly lower than that in the Q1 group (each *P* < 0.001) after adjustment for sex and age.

Risks for infectious disease-related death in the Q2 and Q4 groups were significantly lower than that in the Q1 group (Q1 versus Q2, *P* = 0.038; Q1 versus Q4, *P* = 0.032), and the risk for infectious disease-related death in the Q3 group was lower but not significantly lower (*P* = 0.121) after multivariate adjustment. An evident inverse relationship between serum selenium levels and infectious disease-related mortality was observed even after multivariate adjustment (trend *P* = 0.024). On the other hand, relationships between serum selenium levels and all-cause, cardiovascular and malignant disease-related mortality rates were not observed after multivariate adjustment.

Discussion

We showed that low levels of serum selenium increased the risk for death, especially infectious disease-related death, in

hemodialysis patients. Previous studies showed that lower levels of serum selenium were associated with the development of cardiovascular diseases [2, 21, 22], malignant neoplasms [5, 6, 22] and viral infectious diseases [4, 23] in the general population. However, to our knowledge, there has been no investigation of whether low serum selenium levels contribute to an increase in mortality either in the general population or hemodialysis patients.

It is known that hemodialysis patients have disturbances of the immune system and subsequent susceptibility to infections. Rate of mortality caused by sepsis was shown to be 50 times higher in hemodialysis patients than in the general population after adjustments for risk factors [24]. Current data suggest that acquired immunity disturbances in hemodialysis patients are attributed mainly to dysfunction of T-lymphocytes and activation of antigen-presenting cells (APCs). Since T-lymphocyte-dependent immune response is impaired in hemodialysis patients, hemodialysis patients tend to develop infectious diseases. In addition, MIAS activates APCs and also exacerbates T-lymphocyte function [25].

The influence of selenium on immunity function has been shown [23]. An appropriate selenium intake is necessary for maintenance of cell-mediated immunity and humoral immunity [26, 27]. Selenium-deficient lymphocytes have less capability for proliferation in response to mitogen [28]. Selenium inhibits activation of the transcription factor nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated

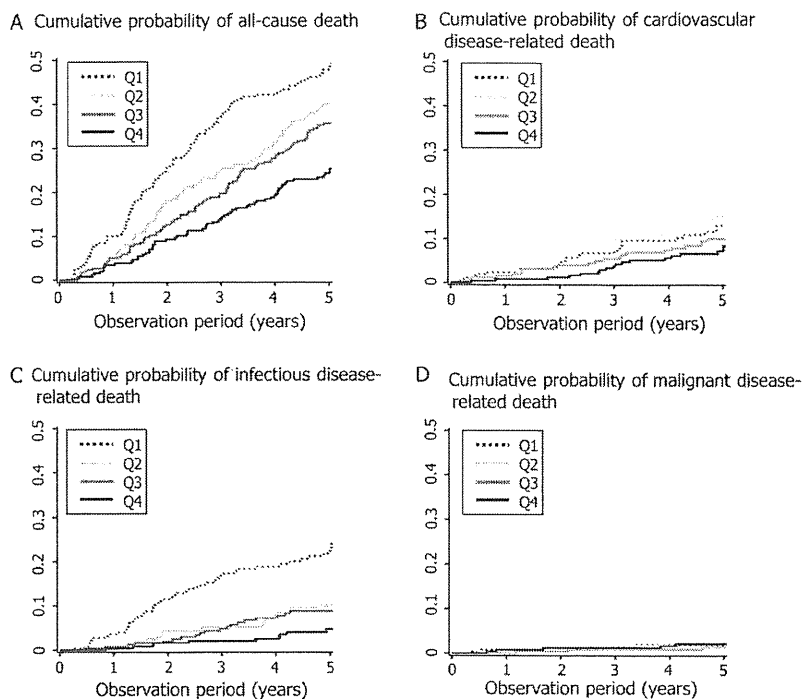


Fig. 2. Kaplan–Meier estimated cumulative cause-specific mortality curves. The upper left schema (A) shows Kaplan–Meier estimated cumulative probability of all-cause death by quartile groups according to serum selenium levels. The Q1 group had a significantly higher rate of mortality from all-cause death than the mortality rates in the other three groups (Q1 versus Q2 $P = 0.024$; Q1 versus Q3 $P < 0.001$; Q1 versus Q4 $P < 0.001$, by log-rank test). The lower left schema (C) shows cumulative probability of infectious disease-related mortality in the quartile groups. The Q1 group had a significantly higher rate of mortality from infectious disease-related death than the mortality rates in the other three groups (Q1 versus Q2 $P < 0.001$; Q1 versus Q3 $P < 0.001$; Q1 versus Q4 $P < 0.001$, by log-rank test). No significant differences in mortality rates between groups were observed in CVD-related death (B) and malignant disease-related death (D).

Table 3. Number of deaths and crude or age-adjusted mortality rates (per 1000 patient-years) by quartile groups according to serum selenium levels in hemodialysis patients^a

Quartile groups (<i>n</i>) Range of Se (pg/L)	Q1 (<i>n</i> = 260) 18.4–85.3	Q2 (<i>n</i> = 261) 85.4–99.9	Q3 (<i>n</i> = 259) 100.0–114.0	Q4 (<i>n</i> = 261) 114.2–226.2	<i>P</i> for trend*
All-cause death	<i>n</i> = 125 134.5 (49.6)	<i>n</i> = 104 99.9 (37.7)	<i>n</i> = 91 85.9 (31.6)	<i>n</i> = 62 55.2 (25.2)	0.008
CVD-related death	<i>n</i> = 41 44.1 (15.5)	<i>n</i> = 60 57.6 (22.2)	<i>n</i> = 52 49.1 (20.6)	<i>n</i> = 30 26.7 (12.3)	0.289
Infectious disease-related death	<i>n</i> = 49 52.7 (14.4)	<i>n</i> = 21 20.2 (6.6)	<i>n</i> = 19 17.9 (4.8)	<i>n</i> = 10 8.9 (3.6)	<0.001
Malignant disease-related death	<i>n</i> = 4 4.3 (0.7)	<i>n</i> = 5 4.8 (2.9)	<i>n</i> = 3 2.8 (2.4)	<i>n</i> = 5 4.5 (1.6)	0.615

^aVariables indicate numbers of deaths and crude (age-adjusted) mortality rates (per 1000 patient-years). Age-adjusted mortality rates were calculated by the direct method based on WHO standard population. Abbreviations are the same as those used in Table 2*, trend test after adjustment for age.

B cells, which regulates genes that encode inflammatory cytokines. Reduction of selenium contributes to activated inflammation [29, 30]. These studies suggested that selenium deficiency exacerbates immune function and activates inflammation. Selenium deficiency also exacerbates hemodialysis-related immune dysfunction and may contribute to an increase in risks for severe infection and infectious disease-related death.

It was not definitely determined in this observational study whether decreased selenium directly contributes to increased risks for death due to infection and there remains the possibility that selenium deficiency is one of the

common phenomena just secondarily derived from a systemic deconditioning status. In our previous study, cross-sectional analysis indicated that decreased selenium levels were associated with malnutrition and activated inflammation status [31]. However, we also revealed that low levels of serum selenium increased the risk for infectious disease-related death independently of elevated hsCRP and low albumin level in hemodialysis patients. This suggested that low levels of serum selenium increased the risk for infectious disease-related death independently of MIAS and that decreased selenium level is not only a subsequent event secondary to systemic deconditioning but also an

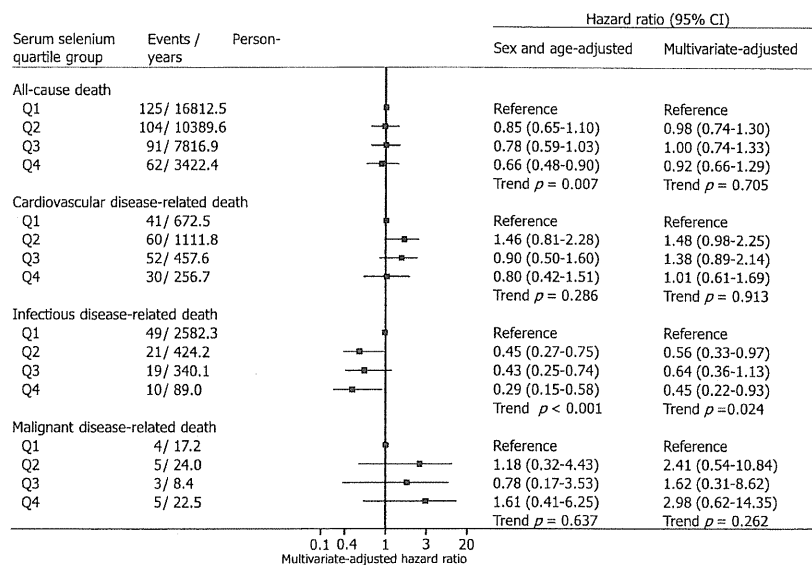


Fig. 3. Adjusted HRs for death (all-cause, CVD, infectious disease and malignant disease-related death) in the upper three quartile groups with patients in the Q1 group serving as a reference. Risk for all-cause death in the Q4 group was significantly lower than that in the Q1 group ($P < 0.001$, by Cox's regression), and risks for infectious disease-related death in the upper three groups were lower than that in the Q1 group after sex and age adjustment (each $P < 0.001$). Inverse relationships between serum selenium levels and all-cause mortality and between serum selenium levels and infectious disease-related mortality were observed even after sex and age adjustment (each trend $P = 0.007$, $P < 0.001$). An evident inverse relationship between serum selenium levels and infectious disease-related mortality was observed even after multivariate adjustment (trend $P = 0.003$). Relationships between serum selenium levels and all-cause, cardiovascular and malignant disease-related mortalities were not observed after multivariate adjustment.

independent predictive risk factor for infectious disease-related death.

Since it was shown that severe selenium deficiency caused endemic cardiomyopathy [32], relationships between selenium deficiency and cardiac diseases have been investigated in several studies. Salonen *et al.* [21] showed that the adjusted relative risk for cardiovascular death due to low serum selenium level ($Se < 45 \mu\text{g/L}$) was 2.2 (95% CI: 1.20–4.00, $P < 0.01$) in a case-control study in Finland, where selenium level in the soil is very low. A meta-analysis (including 14 prospective cohort studies and 11 case-control studies) indicated that the pooled relative risk for coronary events in a comparison of the highest to lowest categories of selenium level was 0.85 in cohort studies (95% CI: 0.74–0.99) and 0.43 in case-control studies (95% CI: 0.29–0.66) [2]. This meta-analysis showed that high levels of serum selenium contribute to decreased risk of coronary events.

An inverse relationship was not observed between serum selenium levels and cardiovascular mortality among hemodialysis patients in our study. There are several possible reasons for this. Although serum selenium levels in hemodialysis patients in our study were lower than those in the Japanese general population [33], the levels of serum selenium in our study samples were not greatly decreased compared to those in the study in Finland [21]. The small number of subjects with severe selenium deficiency in our study may have attenuated the inverse relationship between selenium levels and cardiovascular death. In addition, dialysis itself is a strong risk factor for cardiovascular disease [34], and a relatively weak inverse relationship between selenium levels and cardiovascular mortality

may be negated by a strong effect of dialysis on cardiovascular risks.

An inverse relationship was also not observed between serum selenium levels and malignant disease-related mortality among hemodialysis patients in our study. Previous studies suggested associations between selenium deficiency and risks for development of several cancers [5, 6]. It was hypothesized that selenium deficiency contributes to increased risks for death due to several cancers. However, only 17 patients died of malignant disease-related death and we were not able to perform accurate risk assessment for malignant disease-related death due to the small number of subjects.

This study firstly showed that lower selenium levels in hemodialysis patients independently contributed to increased risks for infectious disease-related death. However, greatly reduced levels of selenium ($< 70 \mu\text{g/L}$) [35] were found in only 80 patients, and the rather small sample size of patients with selenium deficiency probably contributed to weak statistical power for estimating risks for death after multivariate adjustment. There were 173 patients who did not provide additional serum samples to determine serum selenium levels in this study. They had rather unfavorable characteristics. Since we excluded data for these 173 patients from analysis, the results of this study were for rather healthy hemodialysis patients and the relationship between serum selenium levels and risk for death may be attenuated.

Selenium deficiency is a serious problem that commonly occurs in a very restricted area where environmental selenium is greatly depleted. However, our data indicated that selenium deficiency might occur in hemodialysis patients in non-specific areas where environmental selenium