

学位論文（博士）

A close relationship between plasma concentrations of branched-chain and aromatic amino acids and uric acid among healthy adults

（健常人における分枝鎖アミノ酸と芳香族アミノ酸の
血漿中濃度と尿酸値の関連）

氏名 石丸 泰隆

所属 山口大学大学院医学系研究科システム統御医学系専攻
公衆衛生学・予防医学講座

令和3年11月

目 次

1. 要旨	3
2. 研究の背景	3
3. 目的	4
4. 方法	4
1) 研究デザインと倫理的問題	4
2) 研究対象者	4
3) BCAA 及び AAA 等の測定	4
4) 統計分析	5
5. 結果	5
1) 研究対象者の基本属性及び臨床的特徴	5
2) BCAA と AAA 間の相関関係	5
3) UA の三群間の BCAA と AAA の濃度の違い	6
6. 考察	6
7. 結語	8
8. 利害の対立	8
9. 参考文献	14

1. 要旨

本研究の目的は、健常人において、血漿中の尿酸値 (UA) と分枝鎖アミノ酸および芳香族アミノ酸 (BCAA および AAA) の濃度の関連を明らかにすることである。

合計 2,804 人の健常人について、血漿 UA レベルに応じて 3 つのグループに分類した。その 3 グループ間における、BCAA と AAA の濃度の関連を、分散分析 (ANOVA) と共分散分析 (ANCOVA) により解析した。

この研究で対象としたすべての BCAA と AAA の濃度は、トリプトファンを除き、全てが UA 濃度の各レベルに応じて、漸進的に有意に増加した ($P < 0.001$)。また、全体として、個々の BCAA および AAA について、最低のカテゴリの差にくらべ、高いカテゴリの差の方が、より大きかった。本研究は、血漿中の BCAA および AAA と、UA のレベルについて、潜在的に、密接な関係が存在していることを示唆した。今後、それらの間の因果関係および相互作用を解明する研究が必要である。

2. 研究の背景

ヒトの生理学的条件下においては、個々の血中アミノ酸は、それぞれ異なる代謝的または生化学的役割を果たす [1]。これまで、アミノ酸の変化は、特定の疾患について重要な病因となることが報告されている [2, 3]。近年では、特定の血漿遊離アミノ酸 (PFAA) と、さまざまな疾患との関連を調べることに関心が高まっている。PFAA の中では、分岐鎖アミノ酸/BCAA (イソロイシン/Ile、ロイシン/Leu、およびバリン/Val) および芳香族アミノ酸/AA (フェニルアラニン/Phe、チロシン/Tyr、およびトリプトファン/Trp) が、高血圧、メタボリックシンドローム、インスリン抵抗性の 2 型糖尿病 (T2D)、腎臓病などの病因において、重要な役割を果たしていることが示されている [3-7]。

一方で、尿酸 (UA) の血中濃度の上昇または高尿酸血症は、さまざまなヒトの病気の発症と進行に重要な役割を果たしており、特に、高尿酸血症は、高血圧、メタボリックシンドローム、冠状動脈疾患を含む心血管状態、脳血管疾患、血管認知症、子癇前症等の血管疾患、加えて、糖尿病や腎臓病などとの関連について示唆されている [8-11]。

上記の研究の結果は、BCAA と AAA、加えて UA が、多くの一般的な病状の発症や進行における潜在的な役割を持っていることを示している。さらに、BCAA と AAA の体内のレベルは、UA と密接に関連している可能性があり、関連疾患の発症において、個別に、あるいは相互作用的に重要な役割を果たしている可能性がある [12]。

この仮説に基づき、BCAA と AAA、UA の、血漿中濃度の潜在的な関係を明らかにすることは、さまざまな疾患の病態生理をよりよく理解することや、その疾患の予防と疾患の管理において有効な対策を講じるのに役立つと考える。

これまで、血漿中の BCAA と AAA、UA の濃度の関連について、ほとんど報告が無い。これらの関係を正しく理解するためには、まず、健常人の UA のレベルに応じた BCAA と AAA の循環レベルの濃度変化に特定のパターンがあるかどうかを明らかにすることが重要である。

3. 目的

この横断的研究の目的は、血漿尿酸レベルの程度に応じて、BCAA および AAA の濃度に生

じる差異を解析し、健常人における関連の傾向を明らかにすることである。

4. 方法

4-1) 研究デザインと倫理的問題

この横断的研究のプロトコルについては、山口大学（H25-26-2）および島根大学（20100129-3）が関連する審査委員会から承認を得た。

本研究は、ヘルシンキ宣言に従って実施され、研究参加者に対し、詳細なプロトコルについて口頭で説明した。また、参加者が本研究に参加するにあたり、インフォームドコンセントを書面提供により実施した。

4-2) 研究対象者

本研究の対象者のフローチャートを図 1 に示す。本研究では、島根県内の複数の健康診断センターにおいて、毎年、健康診断を受けていて、持病がなく、薬を服用していない成人を対象とし、最終的に、被験者数は合計 2,804 人となった。

なお、健康診断には、身体検査、臨床検査、その他の臨床検査が含まれている。また、自己記入式の質問票を使用して、個人および病歴に関するデータも収集した。これらにより、被験者には明らかな健康上の問題がないことを確認した。

4-3) BCAA 及び AAA 等の測定

本研究では、各被験者の BCAA と AAA の血漿濃度 ($\mu\text{mol/L}$) を測定した。この目的のために、一晚絶食した各被験者から、5 ml の静脈血サンプルを採取し、前述したプロトコルに従って分析した [13]。

採血については、エチレンジアミン四酢酸 (EDTA; テルモ、東京、日本) を含む採血管を用い、血液採取後すぐに採血管を氷上で冷却し、次に採血管を 4°C で 15 分間、3,000 rpm で遠心分離し、血漿サンプルを分析に用いるまで -80°C で保存した。

PFAA 濃度の測定にあたっては、血漿サンプルを、濃度 80% のアセトニトリルを使用して除タンパクし、プレカラム誘導体化した後、高速液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレーイオン化-質量分析 (HPLC-ESI-MS) により、高精度に測定した。

空腹時血漿グルコース (FPG) とヘモグロビン A1c (HbA1c) は、それぞれヘキソキナーゼ法とラテックス凝集イムノアッセイを使用して測定した。また、血清中の高密度リポタンパク質コレステロール (HDL-C)、低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C)、およびトリグリセリド (TG) の測定は、酵素的測定法を使用した。血漿 UA の測定には、L 型 UA-M キット (和光純薬工業株式会社、大阪、日本) によるウリカーゼ-HMPS 法を使用した。

4-4) 統計分析

本研究の連続変数は、Kolmogorov-Smirnov 検定と Shapiro-Wilk 検定によって評価された正規分布を示さなかった。そのため、収集されたデータの対数変換後に統計分析を実行

し、結果は逆変換後の元のスケールで報告した。連続変数の要約統計量は、幾何平均と対応する 95%CI として表し、カテゴリ変数の要約統計量は、数とパーセンテージとして表している。

まず、本研究の対象の被験者を、血漿 UA 濃度に基づいて、3 群に分類した [14-16]。

性別にみた血漿 UA 濃度の 3 群それぞれの値については、男性で「 ≤ 5.1 mg/ dl」、「5.2-6.1 mg / dl」、「 ≥ 6.2 mg/ dl」とし、また女性では「 ≤ 3.6 mg/ dl」、「3.7-4.3 mg / dl」、「 ≥ 4.4 mg/ dl」とし、それぞれ、Tertile-1、Tertile-2、および Tertile-3 とした。

ピアソン相関分析は、三群のカテゴリで、別々に、BCAA と AAA の濃度の間で実行した。UA の三群の間での変数の差は、連続変数の一元配置分散分析 (ANOVA) を使用し、カテゴリ変数のカイ 2 乗 (χ^2) 検定によって解析した。

個々の PFAA の分析は、共分散分析 (ANCOVA) を使用し、UA の三群の間で、潜在的な交絡因子となる人口統計学および臨床的要因を調整した。必要に応じて有意水準で Bonferroni 調整を使用し、多重比較を行った。データの解析に、Windows 用のソフトウェアパッケージ SPSS バージョン 22 (SPSS Inc.、米国イリノイ州シカゴ) を使用した。この研究のすべての統計的検定は、両側検定と見なし、有意水準は $P < 0.05$ に設定した。

5. 結果

5-1) 研究対象者の基本属性及び臨床的特徴

本研究では、薬を服用しておらず、明らかに病気のない合計 2,804 人の健康な被験者 (男性 1,191 人、女性 1,613 人) のデータについて、最終的に分析した (図 1)。

すべての群には、男性よりも多くの女性が含まれていたが、性別の分布は群間で類似していた ($P = 0.773$)。

本研究の対象者の基本属性および臨床的特徴について、血漿 UA 値の三群ごとに表 1 に示す。Tertile-2 の被験者と比較して、Tertile-1 と Tertile-3 の被験者は年齢が高かった ($P < 0.001$)。より高い血漿 UA 濃度に属する被験者についてみると、HbA1c、TG、および DBP のレベルが高く、HDLc のレベルは低く、群間に有意な差を認めた ($P < 0.05 \sim 0.001$)。FPG、LDLC、SBP の値については、三群間で有意差はなかった。

5-2) BCAA と AAA 間の相関関係

異なる三群の対象者の BCAA と AAA の濃度の関係について、ピアソン相関分析を用いて調べたところ、BCAA と AAA の血漿中濃度は、すべての三群間で互いに有意な正の相関を示していた (Tertile-1、Tertile-2、および Tertile-3 でそれぞれ $r = 0.42 \sim 0.58$ 、 $0.44 \sim 0.53$ 、および $0.44 \sim 0.53$; $P < 0.001$)。これを表 2 に示す。

5-3) UA の三群間の BCAA と AAA の濃度の違い

血漿 UA の三カテゴリに属する対象者について、個々の BCAA (Ile、Leu、および Val) と AAA (Phe、Trp、および Tyr) の濃度の、平均値と対応する 95%CI 値を表 3 に示す。

異なる三群の BCAA と AAA の濃度の違いについて、潜在的な交絡因子を調整した ANOVA と

ANCOVA を用いて分析・評価を行った。すべての BCAA と AAA について、Tertile-1 から Tertile-3 まで、濃度は徐々に増加しており、線形傾向が認められた。

三群それぞれの PFAA の濃度差は、ANCOVA による Trp を除いて、有意であった。

ANOVA と ANCOVA の両方による多重比較によれば、BCAA については、濃度の低いカテゴリーと比較して、より濃度の高いカテゴリー間で有意差を示した ($P < 0.001$)。ただし、ANCOVA によって Tertile-1 と 2 の間で比較した Ile ($P = 0.074$) の差は有意でなかった。

また、AAA については、ANOVA による分析では、Tertile-1 と 3 の間でのみ有意差が明らかであった ($P < 0.01 \sim 0.001$)。一方 ANCOVA によれば Tertile-1 と比較して、Phe の Tertile-1 と 2 と、Tyr の Tertile-3 でそれぞれ有意差を示した。

なお全体として、有意差は、本研究で調べた個々の PFAA の対応する最低カテゴリーのものと比較した場合、より高いカテゴリーでより大きかった。

6. 考察

本研究は、血漿 UA のレベルが高いほど、BCAA と AAA のレベルも上昇していることを示したものである。この結果は、BCAA と AAA、および UA の循環レベル量が互いに密接に関連していることを示しているものであり、本研究は、この関係の存在を明らかにする初めての研究である。

また、本研究では、UA 値の低い群から高い群にレベルが変化することに伴って、HbA1c、TG、および DBP は漸進的に増加し、HDL-C は減少していた。この結果については、UA レベルの変化に伴って前述のパラメーターのレベルが漸進的に変化するという、既存の報告されと一致している [14, 17]。

なお、UA の三群間で、年齢についても有意差を認めており、UA の高い群の (Tertile-2, 3) の被験者は比較的若かった。この傾向は、これまでの研究でも見られている [14, 17, 18]。

さらに本研究では、BCAA と AAA の間に有意な正の相関関係を認めた。この結果については、これまでの別の研究で観察された結果と一致している [13, 19]。

さらに本研究では、UA の異なる濃度の 3 群 (Trp を除く) 全体で、BCAA と AAA のレベルについて、群間の有意な差があることを示している。BCAA と AAA の濃度は低い群 (Tertile-1) から高い群 (Tertile-2, 3) に向かって、漸進的に増加していた。このことは、BCAA と AAA の循環レベルと UA の間に関係があることを示している。

BCAA および AAA と UA の関係に焦点を当てた本研究と同様の研究は、これまで非常に少ないため、現象の根本的なメカニズムを説明することは困難であるが、BCAA と AAA、および UA は、おそらく、複数の、直接的および間接的なメカニズムを介して相互に影響を及ぼしていると想定される。

ヒトでは、UA はプリン代謝の最終産物である [9]。また、特定のアミノ酸は、プリンの生合成とそれに続く UA の形成に関与しており、例えば、アミノ酸の中で、BCAA はプリンヌクレオチドサイクルに寄与することが明らかとなっている [20]。

一方、BCAA と AAA の循環レベルの間に密接な関係があることが文献で示唆されていることから [13, 20]、BCAA および AAA の循環レベルの変化が UA のレベルの変化を引き起こす可能性、あるいはその逆の可能性がある。

また、BCAA と AAA (Phe と Tyr) が、インスリン抵抗性の発症に寄与する可能性があることが報告されている [21, 22]。インスリン抵抗性は、腎尿細管再吸収の増加とそれに続く高尿酸血症の発症を通じて尿酸排泄を阻害することにより、循環 UA のレベルを変化させる可能性がある [23, 24]。

総合的にまとめると、他の研究や本研究から得られた知見や結果は、血漿 BCAA および AAA の濃度の変化と UA との間には、密接な関係が存在する可能性があることを示唆している。

ただし、本研究における UA のレベルに応じた PFAA のレベルの変化は、UA のレベルの変化の結果なのか、またはその逆なのかは説明できないことから、今後の研究では、BCAA と AAA の循環レベルと UA の濃度との間の、時間的な関係を明らかにする必要がある。

先述の結果等から、生活習慣等に関連した要因によって引き起こされる BCAA と AAA のレベルの変化は、複数のメカニズムを通じて、UA の血漿レベルの変化をもたらす可能性がある [4]。

さらに UA は、BCAA と AAA のさらなる変化を誘発することとなる。こうして、BCAA と AAA、UA との間に、悪循環を引き起こし、細胞シグナル伝達、遺伝子発現、神経内分泌機能など、人体のさまざまな生物学的メカニズムや機能に深刻な影響を与える可能性がある [1, 25-28]。したがって、BCAA と AAA、および UA の変化は、糖尿病、メタボリックシンドローム、高血圧、心血管疾患、高血圧、脳血管疾患、腎疾患等をはじめ、その他の公衆衛生上重要な様々な慢性疾患の病因として、あるいは臨床経過において、大きな影響を及ぼす可能性がある [4-7, 28-35]。しかし、病状の発症における BCAA、AAA、UA の正確な役割はまだ明らかになっていないことから、今後、縦断研究によって明らかにすることが求められる。

根底にあるメカニズムを解明することは、BCAA と AAA、及び UA のレベルが変化し引き起こされる病態生理学の理解促進と、疾患を診断する上での重要な臨床的意味を持つかもしれない。

また、BCAA と AAA のレベルの変化と UA との関連に関する知見は、さまざまな疾患を発症するリスク予測に役立つ可能性がある。さらに、特定の疾患や健康障害を治療するために、BCAA、AAA、または UA 濃度を操作する介入が確立されることにも役立つ可能性がある。

本研究には、いくつかの限界点がある。まず、本研究の対象者について、食事、運動、喫煙状況またはアルコール消費量、高尿酸血症の家族歴等のデータは利用できなかった。

ただし、本研究の結果に対するこれらのデータ変数の影響は、同じ地域で過ごす健常人のみを対象としており、非常に限定的であると考えられる。

また、この研究では、性別に着目して層別化はしなかったが、UA の濃度に従って研究参加者を男性と女性の両方で別々に分類したため、研究結果には影響を与えなかったと考えている。性別の分布は、UA の三群間では異なることはなく、さらに、ANCOVA の結果は、変数「性別」を含む潜在的な交絡因子を調整した後に提示しているものである。

本研究は横断研究であることから、BCAA、AAA、および UA の間で観察された現象の根底にある因果関係やメカニズムについて推測することはできない。

最後に、本研究は、健常人を対象にして実施されたものであり、今回の結果に関する

は、一部、推測により議論している。今回の私たちの研究結果により、BCAA と AAA、および UA の濃度が、ヒトの疾病の発症において、どのような役割を果たし、相互作用するかについて明らかにする将来の研究に寄与することを期待するものである。

7. 結語

私たちの研究では、BCAA と AAA のレベルが、UA のレベルの上昇に伴って、徐々に増加することを示すことができた。

この結果は、健常人における、血漿の BCAA と AAA と UA の各レベルの間に、密接な関係が存在する可能性を示唆しており、BCAA、AAA、UA の血漿レベルの変化の間にある因果関係を解明するさらなる研究が必要である。

今後、BCAA、AAA、UA の相互作用が明らかになれば、それらが関連する疾患について、病態生理学の進展に寄与するとともに、それらの発症予防と良好なコントロールを図る介入方法の開発に向けた新しい知見を提供することにつながると期待される。

8. 利害の対立

本研究は、味の素株式会社から研究助成金を受けて行われた。HY と SK は味の素株式会社の従業員です。資金提供者は、この研究の設計またはその実行、データの収集または解釈、提出された原稿の準備、またはそれを公開する決定に関与していません。

図1 本研究対象者確定までのプロセス

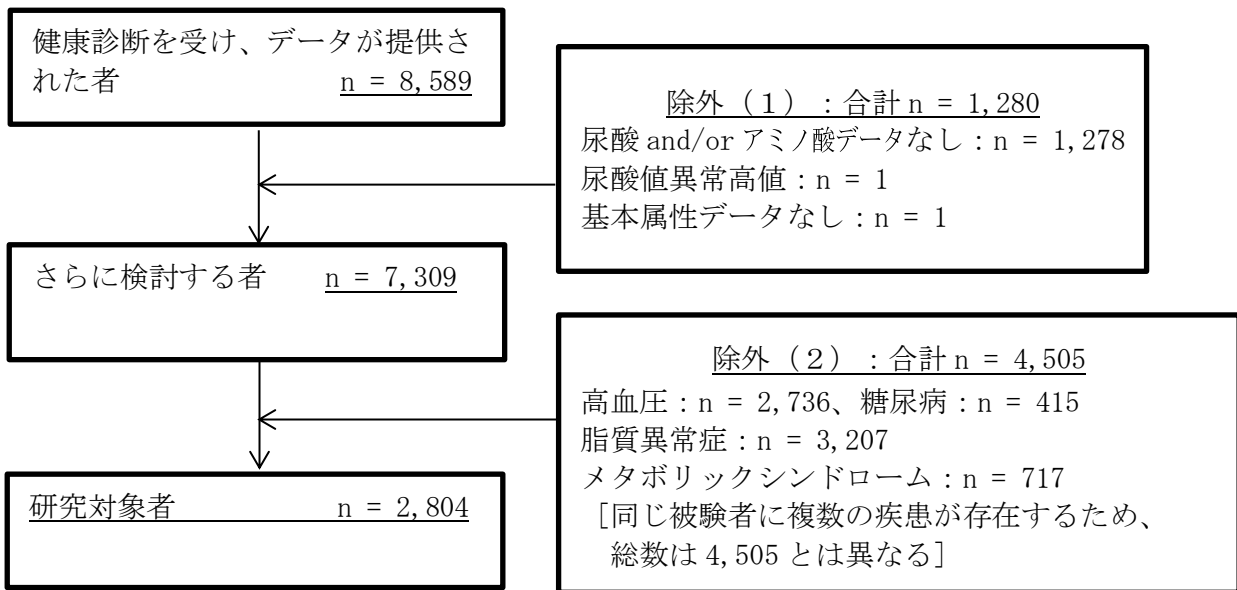


表 1 尿酸 UA の三群の研究対象の基本属性および臨床的特徴。

値は、連続変数の場合は幾何平均と 95%信頼区間 (CI)、カテゴリ変数の場合は数とパーセンテージとして表記。

Variable	Tertile 1 (n=913)			Tertile 2 (n=1006)			Tertile 3 (n=885)			P-value
	Geometric mean or n (%)	95%CI		Geometric mean or n (%)	95%CI		Geometric mean or n (%)	95%CI		
		Lower	Upper		Lower	Upper		Lower	Upper	
Age (Years)	45.6	44.6	46.7	42.7	41.8	43.6	44.2	43.2	45.3	<0.001
Sex										
Male	379 (41.5)	—	—	432 (42.9)	—	—	380 (42.9)	—	—	0.773
Female	534 (58.5)	—	—	574 (57.1)	—	—	505 (57.1)	—	—	
BMI (kg/m ²)	20.7	20.5	20.8	21.2	21.1	21.4	22.2	22.0	22.4	<0.001
FPG (mg/dL)	91.0	90.5	91.6	90.4	90.0	90.9	91.6	91.0	92.2	0.198
HbA1c (%)	5.4	5.4	5.5	5.4	5.4	5.4	5.5	5.4	5.5	0.032
HDLC (mg/dL)	68.8	67.9	69.8	68.7	67.7	69.7	66.7	65.7	67.8	<0.001
LDLC (mg/dL)	102.3	100.9	103.7	103.6	102.3	104.9	104.6	103.1	106.0	0.958
TG (mg/dL)	62.3	60.8	63.9	62.7	61.2	64.3	69.9	68.0	71.8	<0.001
SBP (mmHg)	115.8	115.1	116.5	116.0	115.3	116.7	118.3	117.5	119.0	0.404
DBP (mmHg)	71.4	70.8	72.0	71.7	71.1	72.3	73.5	72.9	74.1	<0.001
Waist (cm)	74.4	74.0	74.9	76.0	75.5	76.5	78.9	78.3	79.5	<0.001

UA 三群のカットオフ値：男性の場合は、 ≤ 5.1 mg/ dl、 $5.2-6.1$ mg / dl、および ≥ 6.2 mg/ dl。女性の場合は、 ≤ 3.6 mg/ dl、 $3.7-4.3$ mg / dl、および ≥ 4.4 mg/ dl。それぞれ、tertile 1、tertile 2、およびtertile3としている。

BMI：ボディマス指数、DBP：拡張期血圧、FPG：空腹時血漿グルコース、HbA1c：ヘモグロビン A1c、HDLC：高密度リポタンパク質コレステロール、LDLC：低密度リポタンパク質コレステロール、SBP：収縮期血圧、TG：トリグリセリド（中性脂肪）。

P 値は、連続変数の一元配置分散分析（ANOVA）と、カテゴリ変数のカイ 2 乗（ χ^2 ）検定によってテストされた、尿酸三群間の変数の両側グループの差。

三群の被験者数は、尿酸の性別のカットオフ値に基づいて被験者を 3 つのグループに分類して設定。

表2 三群全体の分岐鎖アミノ酸と芳香族アミノ酸の濃度間の相関係数

Amino acids	Tertile 1			Tertile 2			Tertile 3		
	Phe	Tyr	Trp	Phe	Tyr	Trp	Phe	Tyr	Trp
Ile	0.48*	0.42*	0.52*	0.48*	0.45*	0.49*	0.48*	0.45*	0.49*
Leu	0.58*	0.47*	0.56*	0.53*	0.46*	0.53*	0.53*	0.46*	0.53*
Val	0.52*	0.45*	0.55*	0.47*	0.44*	0.49*	0.47*	0.44*	0.49*

UA 三群のカットオフ値：男性の場合は ≤ 5.1 mg/dl、 $5.2-6.1$ mg/dl、および ≥ 6.2 mg/dl、女性の場合は ≤ 3.6 mg/dl、 $3.7-4.3$ mg/dl、および ≥ 4.4 mg/dl（それぞれ、tertile 1、tertile 2、および tertile3）

Ile：イソロイシン、Leu：ロイシン、Val：バリン、Phe：フェニルアラニン、Tyr：チロシン、Trp：トリプトファン。

*すべてのP値： <0.001

表 3 潜在的な交絡因子の調整なし (ANOVA) と調整あり (ANCOVA) の三群間の BCAA と AAA の濃度の違い

アミノ酸の値は、平均および 95%CI として表している。

Amino acids	Tertiles	n	Geometric mean	95%CI		P1 (ANOVA)		P2 (ANCOVA)	
				Lower	Upper	Group	Tertile 1 vs.	Group	Tertile 1 vs.
Ile	Tertile 1	913	50.5	49.8	51.2				
	Tertile 2	1006	52.0	51.3	52.7	<0.001	<0.01	<0.001	0.074
	Tertile 3	885	54.0	53.2	54.8		<0.001		<0.001
Leu	Tertile 1	913	98.8	97.6	100.0				
	Tertile 2	1006	103.2	102.0	104.5	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	Tertile 3	885	107.2	105.8	108.6		<0.001		<0.001
Val	Tertile 1	913	184.1	181.9	186.2				
	Tertile 2	1006	191.3	189.1	193.5	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	Tertile 3	885	199.2	196.7	201.7		<0.001		<0.001
Phe	Tertile 1	913	53.0	52.5	53.6				
	Tertile 2	1006	53.9	53.4	54.3	<0.001	.056	<0.001	<0.005
	Tertile 3	885	56.1	55.5	56.6		<0.001		<0.001
Tyr	Tertile 1	913	56.1	55.4	56.8				
	Tertile 2	1006	57.0	56.3	57.6	<0.001	.283	<0.001	0.084
	Tertile 3	885	59.4	58.6	60.1		<0.001		<0.001
Trp	Tertile 1	913	50.4	49.9	51.0				
	Tertile 2	1006	51.1	50.6	51.7	<0.01	.216	0.235	0.551
	Tertile 3	885	51.8	51.2	52.4		<0.005		0.333

UA 三群のカットオフ値：男性の場合は ≤ 5.1 mg/ dl、 $5.2-6.1$ mg / dl、および ≥ 6.2 mg/ dl、女性の場合は ≤ 3.6 mg/ dl、 $3.7-4.3$ mg / dl、および ≥ 4.4 mg/ dl（それぞれ、tertile 1、tertile 2、およびtertile3）

ANOVA：分散分析、ANCOVA：共分散分析、CI：信頼区間。

Ile：イソロイシン、Leu：ロイシン、Val：バリン、Phe：フェニルアラニン、Tyr：チロシン、Trp：トリプトファン。

P1 と P2 は、それぞれ両側 ANOVA と ANCOVA による三カテゴリー間の差の P 値を示す。ボンフェローニ調整を使用して多重比較を実行した。ANCOVA の結果は、年齢、性別、BMI、HbA1c、HDLc、TG、DBP、および胴囲について調整したもの。

9. 参考文献

1. Wu, G.: Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino acids* 2009; 37: 1-17.
2. Efeyan, A., Zoncu, R. and Sabatini, D. M.: Amino acids and mTORC1: from lysosomes to disease. *Trends Mol. Med.* 2012; 18: 524–533.
3. Newgard, C. B.: Metabolomics and Metabolic Diseases: Where Do We Stand? *Cell Metab.* 2017; 25: 43–56.
4. Mahbub, M. H., Yamaguchi, N., Takahashi, H., Hase, R., Yamamoto, H., Kikuchi, S. and Tanabe, T.: Relationship of reduced glomerular filtration rate with alterations in plasma free amino acids and uric acid evaluated in healthy control and hypertensive subjects. *Sci. Rep.* 2019; 9 : 10252.
5. Weng, L., Quinlivan, E., Gong, Y., Beitelshes, A. L., Shahin, M. H., Turner, S. T., Chapman, A. B., Gums, J. G., Johnson, J. A., Frye, R. F., Garrett, T. J. and Cooper-DeHoff, R. M.: Association of branched and aromatic amino acids levels with metabolic syndrome and impaired fasting glucose in hypertensive patients. *Metab. Syndr. Relat. Disord.*, 2015; 13: 195–202.
6. Wiklund, P. K., Pekkala, S., Autio, R., Munukka, E., Xu, L., Saltevo, J., Cheng, S., Kujala, U. M., Alen, M. and Cheng, S.: Serum metabolic profiles in overweight and obese women with and without metabolic syndrome. *Diabetol. Metab. Syndr.*, 2014; 6: 40.
7. Yamakado, M., Nagao, K., Imaizumi, A., Tani, M., Toda, A., Tanaka, T., Jinzu, H., Miyano, H., Yamamoto, H., Daimon, T., Horimoto, K. and Ishizaka, Y.: Plasma Free Amino Acid Profiles Predict Four-Year Risk of Developing Diabetes, Metabolic Syndrome, Dyslipidemia, and Hypertension in Japanese Population. *Sci. Rep.*, 2015; 5, 11918.
8. Kutzing, M. K. and Firestein, B. L.: Altered uric acid levels and disease states. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2008; 324: 1–7.
9. Maiuolo, J., Oppedisano, F., Gratteri, S., Muscoli, C. and Mollace, V.: Regulation of uric acid metabolism and excretion. *Int. J. Cardiol.*, 2016; 213, 8–14.

10. Soltani, Z., Rasheed, K., Kapusta, D. R. and Reisin, E.: Potential role of uric acid in metabolic syndrome, hypertension, kidney injury, and cardiovascular diseases: is it time for reappraisal?. *Curr. Hypertens. Rep.*, 2013; 15: 175–181.
11. Feig, D. I., Kang, D. H. and Johnson, R. J.: Uric acid and cardiovascular risk. *N. Engl. J. Med.*, 2008; 359: 1811–1821.
12. Mahbub, M. H., Yamaguchi, N., Takahashi, H., Hase, R., Ishimaru, Y., Sunagawa, H., Amano, H., Kobayashi-Miura, M., Kanda, H., Fujita, Y., Yamamoto, H., Yamamoto, M., Kikuchi, S., Ikeda, A., Kageyama, N., Nakamura, M. and Tanabe, T.: Association of plasma free amino acids with hyperuricemia in relation to diabetes mellitus, dyslipidemia, hypertension and metabolic syndrome. *Sci. Rep.*, 2017; 7: 17616.
13. Mahbub, M. H., Yamaguchi, N., Hase, R., Takahashi, H., Ishimaru, Y., Watanabe, R., Saito, H., Shimokawa, J., Yamamoto, H., Kikuchi, S. and Tanabe, T.: Plasma Branched-Chain and Aromatic Amino Acids in Relation to Hypertension. *Nutrients*, 2020; 12: 3791.
14. Grossman, C., Shemesh, J., Koren-Morag, N., Bornstein, G., Ben-Zvi, I. and Grossman, E.: Serum uric acid is associated with coronary artery calcification. *J. Clin. Hypertens. (Greenwich)*, 2014; 16: 424–428.
15. Madero, M., Sarnak, M. J., Wang, X., Greene, T., Beck, G. J., Kusek, J. W., Collins, A. J., Levey, A. S. and Menon, V.: Uric acid and long-term outcomes in CKD. *Am. J. Kidney Dis.*, 2009; 53: 796–803.
16. Xia, X., He, F., Wu, X., Peng, F., Huang, F. and Yu, X.: Relationship between serum uric acid and all-cause and cardiovascular mortality in patients treated with peritoneal dialysis. *Am. J. Kidney Dis.*, 2014; 64: 257–264.
17. Nagayama, D., Yamaguchi, T., Saiki, A., Imamura, H., Sato, Y., Ban, N., Kawana, H., Nagumo, A., Shirai, K. and Tatsuno, I.: High serum uric acid is associated with increased cardio-ankle vascular index (CAVI) in healthy Japanese subjects: a cross-sectional study. *Atherosclerosis*, 2015; 239: 163–168.
18. Xiao, J., Chen, W., Feng, X., Liu, W., Zhang, Z., He, L. and Ye, Z.: Serum uric acid is associated with lumbar spine bone mineral density in healthy Chinese males older than 50 years. *Clin. Interv. Aging*, 2017; 12: 445–452.

19. Fernstrom J. D.: Branched-chain amino acids and brain function. *J. Nutr.*, 2005; 135: 1539S–1546S.
20. Tang, F. C. and Chan, C. C.: Contribution of branched-chain amino acids to purine nucleotide cycle: a pilot study. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2017; 71: 587–593.
21. Felig, P., Marliss, E. and Cahill, G. F., Jr.: Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity. *N. Engl. J. Med.*, 1969; 281: 811–816.
22. Newgard, C. B., An, J., Bain, J. R., Muehlbauer, M. J., Stevens, R. D., Lien, L. F., Haqq, A. M., Shah, S. H., Arlotto, M., Slentz, C. A., Rochon, J., Gallup, D., Ilkayeva, O., Wenner, B. R., Yancy, W. S., Jr, Eisenson, H., Musante, G., Surwit, R. S., Millington, D. S., Butler, M. D. and Svetkey, L. P.: A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab.*, 2009; 9: 311–326.
23. Nakamura, K., Sakurai, M., Miura, K., Morikawa, Y., Nagasawa, S. Y., Ishizaki, M., Kido, T., Naruse, Y., Nakashima, M., Nogawa, K., Suwazono, Y. and Nakagawa, H.: HOMA-IR and the risk of hyperuricemia: a prospective study in non-diabetic Japanese men. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2014; 106: 154–160.
24. Ter Maaten, J. C., Voorburg, A., Heine, R. J., Ter Wee, P. M., Donker, A. J. and Gans, R. O.: Renal handling of urate and sodium during acute physiological hyperinsulinaemia in healthy subjects. *Clin. Sci.*, 1997; 92: 51–58.
25. Hundal, H. S. and Taylor, P. M.: Amino acid transceptors: gate keepers of nutrient exchange and regulators of nutrient signaling. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2009; 296: E603–E613.
26. Lynch, C. J. and Adams, S. H.: Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2014; 10: 723–736.
27. Wang, T. J., Larson, M. G., Vasan, R. S., Cheng, S., Rhee, E. P., McCabe, E., Lewis, G. D., Fox, C. S., Jacques, P. F., Fernandez, C., O'Donnell, C. J., Carr, S. A., Mootha, V. K., Florez, J. C., Souza, A., Melander, O., Clish, C. B. and Gerszten, R. E.: Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat. Med.*, 2011; 17: 448–453.
28. White, P. J. and Newgard, C. B.: Branched-chain amino acids in disease. *Science*, 2019; 363: 582–583.

29. Würtz, P., Soininen, P., Kangas, A. J., Rönnemaa, T., Lehtimäki, T., Kähönen, M., Viikari, J. S., Raitakari, O. T. and Ala-Korpela, M.: Branched-chain and aromatic amino acids are predictors of insulin resistance in young adults. *Diabetes care*, 2013; 36: 648–655.
30. Flores-Guerrero, J. L., Groothof, D., Connelly, M. A., Otvos, J. D., Bakker, S. and Dullaart, R.: Concentration of Branched-Chain Amino Acids Is a Strong Risk Marker for Incident Hypertension. *Hypertension*, 2019; 74: 1428–1435.
31. Yang, R., Dong, J., Zhao, H., Li, H., Guo, H., Wang, S., Zhang, C., Wang, S., Wang, M., Yu, S. and Chen, W.: Association of branched-chain amino acids with carotid intima-media thickness and coronary artery disease risk factors. *PLoS One*, 2014; 9: e99598.
32. Lehto, S., Niskanen, L., Rönnemaa, T. and Laakso, M.: Serum uric acid is a strong predictor of stroke in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Stroke*, 1998; 29: 635–639.
33. Onat, A., Uyarel, H., Hergenç, G., Karabulut, A., Albayrak, S., Sari, I., Yazici, M. and Keleş, I.: Serum uric acid is a determinant of metabolic syndrome in a population-based study. *Am. J. Hypertens.*, 2006; 19: 1055–1062.
34. Tuttle, K. R., Short, R. A. and Johnson, R. J.: Sex differences in uric acid and risk factors for coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.*, 2001; 87: 1411–1414.
35. Borghi, C., Rosei, E. A., Bardin, T., Dawson, J., Dominiczak, A., Kielstein, J. T., Manolis, A. J., Perez-Ruiz, F. and Mancia, G.: Serum uric acid and the risk of cardiovascular and renal disease. *J. Hypertens.*, 2015; 33: 1729–1741.