日本人小児におけるアンジオテンシノーゲン遺伝子多型および ACE 遺伝子多型の両危険因子の組合せと高血圧の関連についての検討

片岡 哲・山本 浩介・橋本 尚士
柿原 敏夫・田中 篤・川崎 琢也
菊池 透・高橋 秀雄・内山 聖

要 旨

アンジオテンシノーゲン (AGT) 遺伝子の235番目のアミノ酸がメチオニンからスレオニンに置換した多型 (M235T), および ACE 遺伝子のイントロン16に存在する挿入/欠失 (I/D) 多型の DD 型が, 成人で高血圧・心筋梗塞と関連があると報告されている。今回, 日本人小児132名について両遺伝子多型を PCR 法にて検出し, 両危険因子の組合せと高血圧の関連を検討した。AGT 遺伝子のM235T, ACE 遺伝子のDをもつ allele の頻度は各々, 他の日本人成人の報告と同様であった。AGT 遺伝子多型は収縮期血圧と関連が見られ, 小児の血圧の調節に何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。ACE 遺伝子多型は血清 ACE 活性と関連したものの, 小児の血圧調節と関連が少ない可能性が示唆された。また, AGT 遺伝子の M235T ホモと ACE 遺伝子の DD 型の両危険因子を組合せても, 小児の血圧への相乗効果は少ないと考えられた。

序 言

本態性高血圧症は, 遺伝的に決定された体質に高食塩

食やストレスなどの環境因子が負荷されて発症する多因子疾患である。ヒトの高血圧の関連遺伝子は現在のところ十数個と報告されており, これまでに数多くの候補遺伝子が検討されたが, 中でも強力な昇圧系であるレニン-アンジオテンシン系に属する遺伝子の研究が精力的に行われてきた。

ヒトアンジオテンシノーゲン (AGT) 遺伝子の第2エクソンに存在する704番目の核酸がチミンからシトシンに置換することによって, 235番目のアミノ酸がメチオニンからスレオニンに置換した型 (M235T) が, 白人および日本人の成人において本態性高血圧と関連があると報告されている¹⁾²⁾。また, ヒトアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 遺伝子の第16イントロンには約300bp の Alu 配列が存在し, その挿入/欠失 (insertion/deletion; I/D) 多型にて成人で DD 型が心筋梗塞・高血圧と関連すると報告されている³⁾⁴⁾。

しかし, 小児において, これらの遺伝子多型と高血圧の関連についての成績は私どもの報告⁵⁾⁶⁾以外にはほとんどない。今回, 日本人小児について AGT 遺伝子多型と ACE 遺伝子多型の検出ならびに両危険因子の組合せと高血圧の関連を検討した。

対象・方法

対象は, 新潟県のある地域において検診を行った10~15歳の健康小児, 男児81名, 女児51名の計132名である。毎年, 脂質, 肝機能および末梢血検査を行っており, 今回は地域の教育委員会の指導の元に両親の許可を得て, 遺伝子多型の分析を行った。

Key Words : アンジオテンシノーゲン遺伝子
ACE 遺伝子
高血圧
日本人小児

新潟大学医学部 小児科

(〒951 新潟市旭町通1-757)

A study of the combination of angiotensinogen gene and ACE gene in relation to essential hypertension

Satoshi Kataoka, Kohsuke Yamamoto,
Naoshi Hashimoto, Toshio Kakihara, Atsushi Tanaka,
Takuya Kawasaki, Toru Kikuchi,
Hideo Takahashi, Makoto Uchiyama

Department of Pediatrics, Niigata University School of Medicine

表1 対象のプロフィール

人数	132
男児	81
女児	51
年齢(才)	13.0±1.9
身長(cm)	154.8±12.3
体重(kg)	46.0±11.2
BMI(kg/m ²)	18.9±2.6
肥満度(%)	102.1±13.5
上腕周囲長(cm)	22.8±2.9
収縮期血圧(mmHg)	117.4±9.5
拡張期血圧(mmHg)	59.2±8.8

数値は 平均±標準偏差
BMI: body mass index

血圧は、Dinamap model 8104を用い、座位にて右上腕(13-cmカフ)を3回計測し、3回目を各個人の血圧とした。また、同時に身長、体重、上腕周囲長を測定した。body mass index (BMI) は、体重(kg)/身長(m)²にて計算した。

末梢血白血球よりDNAを抽出し、131名についてAGT遺伝子の235番目のアミノ酸の変異を、RussらのPCR法により観察した⁷⁾。以下、235番目のアミノ酸がメチオニンとなるalleleをM、スレオニンとなるalleleをTとすると、PCRで検索したAGT遺伝子型は、165bpのホモ(MM型)、165bpと141bpのヘテロ(MT型)、141bpのホモ(TT型)の3パターンとなった。

また、122名について、ACE遺伝子多型をRigatらのPCR法にて観察した⁸⁾。約300bpのAlu配列の挿入したalleleをI、Alu配列の欠失したalleleをDとすると、PCRで検索したACE遺伝子型は、490bpのホモ(II型)、490bpと190bpのヘテロ(ID型)、190bpのホモ(DD型)の3パターンとなった。そのうち87名を対象に血清ACE活性を測定した⁹⁾。

統計処理は、AGT遺伝子多型とACE遺伝子多型の各々の3遺伝子型間で、小児の血圧および血清ACE活性を分析するために一元配置分散分析およびKruskal Wallis検定を用いた。AGT遺伝子のM235Tのホモ接合型を持つ小児とその他の遺伝子型をもつ小児の比較には、対応のないt検定および χ^2 検定を用いた。AGT遺伝子多型の遺伝子型が血圧に影響するか否かを検討するために、重回帰分析を用いた。また、収縮期および拡張期血圧について、AGT遺伝子型とACE遺伝子型の2つの要因を加えた検討には、二元配置分散分析を用いた。

表2 AGT遺伝子のM235Tホモ(TT型)とその他の遺伝子型を持つ小児における性別、年齢、身体サイズ、血圧の比較

	MM+MT	TT	p
人数	54	77	
男児	35	45	] 0.47
女児	19	32	
年齢(才)	13.1±1.9	13.0±1.8	0.74
身長(cm)	154.7±12.8	154.8±12.1	0.96
体重(kg)	45.4±11.3	46.5±11.3	0.58
BMI(kg/m ²)	18.7±2.6	19.1±2.6	0.32
肥満度(%)	100.8±13.7	103.0±13.4	0.35
上腕周囲長(cm)	22.7±2.7	22.8±3.1	0.86
収縮期血圧(mmHg)	115.6±9.2	118.7±9.7	0.069
拡張期血圧(mmHg)	59.0±9.1	59.3±8.8	0.83

BMI: body mass index

成 績

132人のプロフィールは表1のとおりである。

1) AGT遺伝子多型の遺伝子型はMM型6.9%、MT型34.3%、TT型58.8%であり、各alleleの頻度はMが0.24、Tが0.76であった。3遺伝子型(MM型、MT型、TT型)と、収縮期血圧および拡張期血圧との間には明らかな関連は見られなかった。

2) AGT遺伝子のM235Tのホモ接合型であるTT型を持つ小児と、他の遺伝子型(MM型+MT型)を持つ小児の2群に分けて検討した(表2)。2群間で、男女比、年齢、身長、体重、BMI、肥満度、上腕周囲長、および拡張期血圧に明らかな差を認めなかった。しかし、収縮期血圧については、統計学的に有意差はなかったものの、M235Tのホモ接合型を持つ小児が他の遺伝子型を持つ小児より高い傾向にあった(p=0.069)。

3) 収縮期血圧を目的因子とし、性、年齢、身長、肥満度、上腕周囲長、AGT遺伝子型を独立因子として重回帰分析を行ったところ、AGT遺伝子多型の遺伝子型は統計学的に有意な因子であった(p<0.05)(表3)。拡張期血圧についても同様の検討を行ったが、遺伝子型は統計学的に有意な因子ではなかった。

4) ACE遺伝子多型の遺伝子型はII型40.2%、ID型47.5%、DD型12.3%であり、各alleleの頻度はIが0.64、Dが0.36であった。

5) 男児72名について、ACE遺伝子型3群間(II型、ID型、DD型)で、年齢、身長、体重、BMI、肥満度、上腕周囲長、血圧を比較したが、3群間で、収縮期血圧、拡張期血圧に明らかな差を認めなかった(表4)。

表3 重回帰分析を用いた性、年齢、身体サイズ、AGT 遺伝子型の収縮期血圧、拡張期血圧への影響

	β coefficient	SE	p
(収縮期血圧)			
性別	0.156	1.722	0.928
年齢(才)	-0.277	0.812	0.734
身長(cm)	0.203	0.154	0.1897
肥満度(%)	0.002	0.13	0.9872
上腕周囲長(cm)	0.876	0.731	0.233
遺伝子型(MM+MT, TT)	3.138	1.584	0.0498
(拡張期血圧)			
性別	1.625	1.783	0.364
年齢(才)	-0.021	0.841	0.9799
身長(cm)	-0.126	0.159	0.4285
肥満度(%)	-0.103	0.135	0.4456
上腕周囲長(cm)	0.918	0.757	0.2274
遺伝子型(MM+MT, TT)	0.656	1.64	0.6898

また、女兒50名について同様に比較したが、やはり3群間で、収縮期血圧および拡張期血圧に明らかな差を認めなかった。

6) ACE 遺伝子型と ACE 活性との関係について検討した。血清 ACE 活性は、DD 型 (24.2 ± 3.9 IU/ℓ) が ID 型 (20.4 ± 4.1 IU/ℓ) より、ID 型が II 型 (15.4 ± 4.0 IU/ℓ) より、各々有意の高値を示した ($p < 0.01$)。

7) 収縮期血圧について、AGT 遺伝子型と ACE 遺伝子型の2つの要因を加えた二元配置分散分析で、AGT 遺伝子型は収縮期血圧に有意な影響を与えたが、ACE 遺伝子型は収縮期血圧に有意な影響を与えなかった。また、AGT 遺伝子の TT 型と ACE 遺伝子の DD 型を併せもつ小児は収縮期血圧が有意に高くはなかった(表5)。

8) 拡張期血圧についても同様の検討を行ったが、両危険因子を組合せても、小児の拡張期血圧との明らかな関連はみられなかった。

考 察

本態性高血圧症は、環境因子と遺伝的な要因にて発症する多因子疾患である。遺伝的感受性が本態性高血圧発

表4 ACE 遺伝子型による年齢、身体サイズ、血圧の比較

	ACE 遺伝子型		
	II	ID	DD
(男児72名)	n=32	n=28	n=12
年齢(才)	13.5 ± 1.8	13.4 ± 1.9	13.5 ± 1.7
身長(cm)	158.9 ± 12.5	159.2 ± 13.8	159.2 ± 14.1
体重(kg)	49.9 ± 10.3	49.7 ± 12.9	51.0 ± 12.2
BMI (kg/m ²)	19.6 ± 2.9	19.3 ± 2.6	19.9 ± 2.7
肥満度(%)	104.9 ± 17.3	103.1 ± 12.5	106.4 ± 14.4
上腕周囲長(cm)	24.1 ± 2.5	23.5 ± 2.9	23.5 ± 4.6
収縮期血圧(mmHg)	121 ± 9.8	117 ± 10.3	120 ± 8.3
拡張期血圧(mmHg)	61 ± 9.2	57 ± 7.7	59 ± 8.5
(女兒50名)	n=17	n=30	n=3
年齢(才)	$13.2 \pm 1.8^*$	$12.3 \pm 1.8^*$	$10.8 \pm 0.4^*$
身長(cm)	152.2 ± 8.4	148.9 ± 9.0	148.5 ± 7.9
体重(kg)	44.1 ± 9.3	39.8 ± 8.9	45.2 ± 3.1
BMI (kg/m ²)	19.1 ± 2.7	17.7 ± 2.2	20.5 ± 1.7
肥満度(%)	100.2 ± 9.5	96.7 ± 8.8	117.5 ± 13.1
上腕周囲長(cm)	22.2 ± 2.3	21.3 ± 2.3	24.1 ± 2.5
収縮期血圧(mmHg)	120 ± 7.2	113 ± 8.3	117 ± 21.6
拡張期血圧(mmHg)	61 ± 10.3	59 ± 9.1	63 ± 14.4

数値は平均±標準偏差

BMI : body mass index

* 遺伝子型3群の比較 : $p < 0.05$ (Kruskal Wallis 検定)

表5 AGT 遺伝子型, ACE 遺伝子型の組合せによる収縮期血圧の比較

遺伝子型		ACE			Total
		II	ID	DD	
AGT	MM	113.3±4.6 (4)	117.0±10.1 (4)	* (0)	115.1±7.5 (8)
	MT	120.6±10.0 (16)	111.8±8.8 (22)	115.0±1.4 (2)	115.5±9.9 (40)
	TT	121.6±8.4 (29)	116.9±9.4 (32)	119.5±12.3 (12)	119.2±9.7 (73)
Total		120.6±8.9 (49)	115.0±9.4 (58)	118.9±11.4 (14)	117.7±9.7 (121)

数値は収縮期血圧の平均±標準偏差 (mmHg)

カッコ内は対象の人数

症に重要な役割を果たし、家族内、双子間の研究により本態性高血圧症の20～40%が遺伝素因であると報告されている¹⁰⁾。レニン-アンジオテンシン系は、血圧や体液量の調節に重要な役割を果たしている。このレニン-アンジオテンシン系に属する遺伝子が高血圧と関連すると報告されている¹¹⁾¹²⁾。

Jeunemaitre らは、AGT 遺伝子の15カ所の置換部位のなかで、2カ所の部位が高血圧と有意に関連すると報告した¹⁾。その1つが、第2エクソンに存在する704番目の核酸がチミンからシトシンに置換することによって、235番目のアミノ酸がメチオニンからスレオニンに置換した型 (M235T) である。その後、日本人の成人においても、この M235T が本態性高血圧と関連していると報告され、高血圧群と正常血圧群の間において、この M235T のホモ接合型の頻度に有意な差が認められた²⁾¹²⁾。また別の報告でも、妊娠中毒症に伴う高血圧の妊婦が、正常の血圧の妊婦より M235T の頻度が高いと報告された¹³⁾。

今回、アンジオテンシノーゲン濃度は測定していないが、アンジオテンシノーゲン濃度が遺伝子型と有意に関係し、TT 型の値が MM 型の値より20%高いと報告されている¹⁾。血漿アンジオテンシノーゲン濃度の基準が高いことによってレニン-アンジオテンシン系の感受性が亢進し、個人の血圧の設定を上昇させるのかもしれない。

AGT 遺伝子の M235T をもつ allele の頻度は、白人の成人の正常血圧群が0.35～0.4¹⁾であり、日本人成人の報告は0.68～0.77²⁾であった。M235T の出現頻度に明らかな民族差が認められ、この遺伝子頻度の差異はどのような病態生理学的な意味を持つのか不明である。し

かし、このことは日本に高血圧の頻度が多い事と関係しているかもしれない。

小児において、AGT 遺伝子多型と高血圧の関連についての報告はいまだ少ない⁵⁾。今回、我々は日本人小児において、AGT 遺伝子多型と高血圧の関連について検討した。今回の結果では、M235T をもつ allele の頻度は0.76であった。この頻度は、他の日本人成人の報告と同様の結果であった。

収縮期血圧を目的因子とした重回帰分析にて、AGT 遺伝子型は統計学的に有意な因子であり、M235T のホモ接合型を持つ個人では、たとえ小児期であっても血圧が高くなることを示すと考えられた。成人で報告されているように、今回我々の検討でも、日本人小児において AGT 遺伝子多型と収縮期血圧の関連が見られ、AGT 遺伝子多型が小児期の血圧の調節に何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。

白人において、ACE 遺伝子 I/D 多型と本態性高血圧症との間に有意な関連を認めたとの報告があり⁴⁾、ACE 遺伝子は高血圧原因遺伝子候補として注目された。その後の検討で、本態性高血圧症とこの I/D 多型との間には有意な相関は認められておらず¹⁴⁾¹⁵⁾、ACE 遺伝子が高血圧原因遺伝子のひとつであるかどうかに関しては、まだ結論がでていない。しかし、DD 型が高血圧以外の循環器疾患の危険因子となると報告されている³⁾¹⁶⁾。

この I/D 多型は、血中 ACE 濃度と相関し、遺伝子型が DD 型の者は II 型の者に比べ有意に高く、ID 型がその中間の ACE 濃度を呈すると報告されている¹⁶⁾¹⁷⁾。遺伝的に規定された ACE 濃度の上昇が、血管平滑筋に増殖因子としての作用を持つアンジオテンシン II の産生亢進を起こし、循環器疾患の危険因子になっている可能性

がある。

ACE 遺伝子型の D をもつ allele の頻度は、白人の成人の正常血圧群が 0.54~0.58⁴⁾であり、日本人成人の報告は 0.32~0.39⁴⁾であった。ACE 遺伝子多型の出現頻度にも明らかな民族差の存在が示唆された。

小児において、ACE 遺伝子多型と高血圧の関連についての報告はいまだ少なく⁹⁾、今回の結果では D をもつ allele の頻度は 0.36 であり、他の日本人成人の報告と同様の結果であった。

ACE 遺伝子型 3 群間で、収縮期血圧、拡張期血圧に明らかな差を認めなかった。多くの成人の報告で ACE 遺伝子多型と高血圧の関係が否定的だが、我々の検討でも、小児の血圧調節と関連が少ない可能性が示唆された。

また、成人で報告されているように、ACE 遺伝子型は血清 ACE 活性と関連した。ACE 濃度は小児期から遺伝的に規定されている可能性が示唆された。

最近、AGT 遺伝子の M235T 多型が冠動脈疾患の危険因子であることも明らかにされた¹⁸⁾¹⁹⁾。AGT 遺伝子の M235T のホモをもつ者は他の遺伝子型の者に比して 1.8 倍の危険率 (オッズ比) で心筋梗塞になりやすく、かつ ACE 遺伝子の DD 型をホモにもつと 11.2 倍の危険率になると報告された²⁰⁾。なお、今回、小児の血圧に関する検討では、AGT 遺伝子の M235T ホモと ACE 遺伝子の DD 型の両危険因子を組合せても、小児の血圧への相乗効果は少ないと考えられた。今後はさらに小児の対象を増やして研究し、長期にわたる血圧の追跡が必要と思われる。

結 論

日本人小児においてアンジオテンシノーゲン遺伝子多型は収縮期血圧と関連が見られ、小児の血圧の調節に何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。ACE 遺伝子多型は血清 ACE 活性と関連したものの、小児の血圧調節と関連が少ない可能性が示唆された。また、アンジオテンシノーゲン遺伝子の M235T ホモと ACE 遺伝子の DD 型の両危険因子を組合せても、小児の血圧への相乗効果は少ないと考えられた。

本論文の要旨は第 31 回日本小児腎臓病学会 (1996 年 7 月 19 日) で発表した。

文 献

- 1) Jeunemaitre, X., Soubrier F., Kotelevtsev Y.V., Lifton R.P., Williams C.S., Charru A., Hunt S.C., Hopkins P.N., Williams R.R., Lalouel J.-M. and Corvol P.: Molecular basis

of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 71; 169-180, 1992.

- 2) Hata, A., Namikawa C., Sasaki M., Sato K., Nakamura T., Tamura K. and Lalouel J.-M.: Angiotensinogen as a risk factor for essential hypertension in Japan. *J. Clin. Invest.* 93; 1285-1287, 1994.
- 3) Cambien, F., Poirier O., Lecerf L., Evans A., Cambou J.-P., Arveiler D., Luc G., Bard J.-M., Bara L., Ricard S., Tiret L., Amouyel P., Alhenc-Gelas F. and Soubrier F.: Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 359; 641-644, 1992.
- 4) Zee, R.Y.L., Lou Y.-K., Griffiths L.R. and Morris B.J.: Association of a polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene with essential hypertension. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 184; 9-15, 1992.
- 5) Kataoka, S., Hashimoto N., Kakiyama T., Tanaka A., Kawasaki T., Kikuchi T., Takahashi H. and Uchiyama M.: Analysis of Met²³⁵ to Thr variant of the angiotensinogen gene in relation to the blood pressure and family history of essential hypertension in Japanese children. *Acta Paediatr. Jpn.* 38; 312-316, 1996.
- 6) Yamamoto, K., Kataoka S., Hashimoto N., Kakiyama T., Tanaka A., Kawasaki T., Kikuchi T., Takahashi H. and Uchiyama M.: Serum level and gene polymorphism of angiotensin I converting enzyme in Japanese children. *Acta Paediatr. Jpn.* (in press).
- 7) Russ, A.P., Maerz W., Ruzicka V., Stein U. and Gross W.: Rapid detection of the hypertension-associated Met²³⁵→Thr allele of the human angiotensinogen gene. *Hum. Mol. Genet.* 2; 609-610, 1993.
- 8) Rigat, B., Hubert C., Corvol P. and Soubrier F.: PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res.* 20; 1433, 1992.
- 9) Kasahara, Y., Ashihara Y.: Colorimetry of angiotensin-I converting enzyme activity in serum. *Clin. Chem.* 27; 1922-1925, 1981.
- 10) Ward, R.: Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure, in *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*, edited by Laragh J.H. and Brenner B.M. (eds.), Raven Press, New York p. 81-100, 1990.
- 11) Barley, J., Carter N.D., Cruickshank J.K., Jeffery S., Smith A., Charlett A. and Webb D.J.: Renin and atrial natriuretic peptide restriction fragment length polymorphisms: association with ethnicity and blood pressure. *J. Hypertens.* 9; 993-996, 1991.
- 12) Kamitani, A., Rakugi H., Higaki J., Yi Z., Mikami H., Miki T. and Ogiyama T.: Association analysis of a polymorphism of the angiotensinogen gene with essential hypertension in Japanese. *J. Hum. Hypertens.* 8; 521-524, 1994.
- 13) Ward, K., Hata A., Jeunemaitre X., Helin C., Nelson L., Namikawa C., Farrington P.F., Ogasawara M., Suzumori K., Tomoda S., Berrebi S., Sasaki M., Corvol P., Lifton R. P. and Lalouel J.-M.: A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. *Nature Genet.* 4; 59-61, 1993.

- 14) Higashimori, K., Zhao Y., Higaki J., Kamitani A., Katsuya T., Nakura J., Miki T., Mikami H. and Ogihara T. : Association analysis of a polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene with essential hypertension in the Japanese population. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 191 ; 399-404, 1993.
- 15) Harrap, S.B., Davidson H.R., Connor J.M., Soubrier F., Corvol P., Fraser R., Foy C.J.W. and Watt G.C.M. : The angiotensin I converting enzyme gene and predisposition to high blood pressure. *Hypertension* 21 ; 455-460, 1993.
- 16) Nakai, K., Itoh C., Miura Y., Hotta K., Musha T., Itoh T., Miyakawa T., Iwasaki R. and Hiramori K. : Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. *Circulation* 90 ; 2199-2202, 1994.
- 17) Rigat, B., Hubert C., Alhenc-Gelas F., Cambien F., Corvol P. and Soubrier F. : An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I -converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J. Clin. Invest.* 86 ; 1343-1346, 1990.
- 18) Katsuya, T., Koike G., Yee T.W., Sharpe N., Jackson R., Norton R., Horiuchi M., Pratt R.E., Dzau V.J. and MacMahon S. : Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease. *Lancet* 345 ; 1600-1603, 1995.
- 19) Ishigami, T., Uemura S., Iwamoto T., Tamura K., Hibi K., Yamaguchi S., Nyuui N., Kimura K., Miyazaki N. and Ishii M. : Molecular variant of angiotensinogen gene is associated with coronary atherosclerosis. *Circulation* 91 ; 951-954, 1995.
- 20) Kamitani, A., Rakugi H., Higaki J., Ohishi M., Shi S.-J., Takami S., Nakata Y., Higashino Y., Fujii K., Mikami H., Miki T. and Ogihara T. : Enhanced predictability of myocardial infarction in Japanese by combined genotype analysis. *Hypertension* 25 ; 950-953, 1995.