

## 한국인에서 본태성 고혈압과 안지오텐신 전환효소 유전자의 유전적 다형성 I/D, G14480C, A22982G와의 관련성 연구

가톨릭대학교 의과대학 연구원 분자유전학연구소,<sup>1</sup> (주) DNA Link,<sup>2</sup>

연세대학교 의과대학 심장내과학교실,<sup>3</sup> 심혈관센터<sup>4</sup>

김종민<sup>1</sup> · 신동직<sup>1</sup> · 배운정<sup>1</sup> · 김 숙<sup>2</sup> · 이종은<sup>2</sup>

박찬미<sup>3,4</sup> · 박현영<sup>3,4</sup> · 김성주<sup>1</sup> · 장양수<sup>3,4</sup>

### Association between I/D, G14480C, A22982G Polymorphisms of Angiotensin I-Converting Enzyme Gene and Essential Hypertension in the Korean Population

Jongmin Kim, BS<sup>1</sup>, Dong-Jik Shin, PhD<sup>1</sup>, Yoonjung Bac, MS<sup>1</sup>,

Sook Kim, MS<sup>2</sup>, Jong-Eun Lee, PhD<sup>2</sup>, Chanmi Park, MS<sup>3,4</sup>,

Hyun-Young Park, MD<sup>3,4</sup>, Sungjoo Kim Yoon, PhD<sup>1</sup> and Yangsoo Jang, MD<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Molecular Genetics, Catholic Research Institutes of Medical Sciences, Seoul,

<sup>2</sup>DNA Link, Inc, Seoul, <sup>3</sup>Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul,

<sup>4</sup>Cardiovascular Genome Center, Yonsei University Medical Center, Seoul, Korea

#### ABSTRACT

**Background and Objectives :** The renin-angiotensin system (RAS) genes have been studied extensively as etiologic essential hypertension (EH) candidate genes in human populations worldwide. The angiotensin I-converting enzyme (ACE) plays an important role in the RAS for the regulation of blood pressure. Recent reports on the association of ACE gene polymorphisms with EH and the related cardiovascular diseases have been controversial. Therefore, this study investigated the association of three polymorphisms (I/D, G14480C and A22982G) in the ACE gene with EH in Koreans. **Subjects and Methods :** This study recruited a sample population of 887 Koreans (comprising of 461 controls and 426 EH cases) from Cardiovascular Genome Center in Korea. The ACE gene polymorphisms were determined by a polymerase chain reaction and a SNP-IT assay.

**Results :** The genotype and the allele frequencies of all three polymorphisms in the hypertensives and the normotensives not significantly different ( $p>0.05$ ). In the female control group, there was a significant difference in SBP among the genotype with the I/D polymorphism ( $p<0.05$ ). There was also an association between the ACE polymorphisms and the hypertensive male group with the total cholesterol level. Haplotype analysis showed that none of the haplotypes were significantly associated with hypertension. **Conclusion :** ACE polymorphisms do not appear to have any apparent association with essential hypertension in Koreans, who have a more homogeneous genetic structure than other ethnic groups. (Korean Circulation J 2004;34(12):1137-1147)

**KEY WORDS :** Renin-angiotensin system ; Angiotensin I-converting enzyme ; Hypertension ; Polymorphism ; Koreans.

논문접수일 : 2004년 10월 5일

심사완료일 : 2004년 11월 3일

교신저자 : 장양수, 120-752 서울 서대문구 신촌동 134 연세대학교 의과대학 심장내과학교실

전화 : (02) 361-7071 · 전송 : (02) 393-2041 · E-mail : jangys1212@yumc.yonsei.ac.kr

## 서론

본태성 고혈압은 그 원인이 아직까지 명확하게 밝혀진 것은 없지만 유전적인 영향과 환경적 인자들이 복합적으로 상호작용하여 발생하는 다인자성 질환으로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 본태성 고혈압의 발생 기전에 영향을 주는 유전자는 다양하지만 이들 가운데 레닌-안지오텐신계(renin-angiotensin system ; RAS)에 관여하는 많은 유전인자들에 대한 연구가 집중적으로 이루어지고 있다. RAS는 안지오텐시노겐(angiotensinogen ; AGT), 레닌(renin), 안지오텐신 전환효소(angiotensin converting enzyme ; ACE), 안지오텐신 II(angiotensin II) 그리고 두 종류의 수용체들(angiotensin II type1 receptor ; AT1, angiotensin II type2 receptor ; AT2)로 구성되어 있으며 체내에서 혈압조절 및 수분 전해질 대사에 관여하고 혈관의 평활근 세포를 증식시켜 고혈압 발생에 중요한 역할을 한다.<sup>2)</sup>

인간에 있어서 ACE 유전자는 17q23 염색체 부위에 존재하고<sup>3)</sup> 26개의 엑손이 24,070 bp의 DNA에 분포하고 있다.<sup>4)</sup> 지금까지 정상대조군과 환자군을 대상으로 ACE 유전자 다형성과 심혈관 질환의 연관성에 대한 연구에서 가장 널리 이용된 유전자 마커는 ACE insertion/deletion(I/D) 다형이다. I/D 다형은 ACE 유전자 16번째 인트론에 287 bp의 *Alu* 염기서열이 삽입(insertion, I) 또는 결실(deletion, D)된 두 종류의 대립인자형으로 나타나며 각 개체는 II, ID 그리고 DD의 세 종류 유전자형 중 한 가지를 가지게 된다.<sup>5)</sup> 또한 ACE 유전자형과 혈청 ACE 활성도에 대한 연구에서 백인의 경우, DD형을 지닌 집단이 활성도가 가장 높고 II형이 가장 낮으며 ID형은 두 집단과 비교해서 중간수준의 ACE 활성도를 나타냈다.<sup>6)</sup> 따라서 이와 같은 관계로 미루어 보아 ACE I/D 다형이 혈압조절 및 고혈압 사이에 강한 연관성이 있을 것으로 추측할 수 있다. ACE I/D 다형과 고혈압 간의 연관성에 대한 연구는 전 세계의 다양한 인종 집단을 대상으로 조사되었으나 그 결과가 집단에 따라 상이하게 나타나 확실한 결론을 도출하지 못하고 논의가 계속되고 있는 실정이다. O'Donnell 등<sup>7)</sup>의 보고에 의하면, 흑인과는 달리 백인 남성 집단에서 I/D 다형과 본태성 고혈압 간의 유의한 연관성이 있는 것으로 나타났다. 그러나 또 다른 연구에서는 I/D 다형이 성별에 따른 고혈압 발생빈도와는 연관성이 없는

것으로 나타난 반면, 연령에 따라 연관성의 결과가 달리 나타나는 것으로 조사되었다.<sup>8)</sup> 이러한 결과들은 I/D 다형성의 영향이 성별, 연령별 그리고 인류 집단에 따라 매우 다양한 차이를 보인다고 할 수 있다. 한국인 집단을 대상으로 한 ACE 유전자 다형성에 관한 연구는 최근에 활발히 진행되어 정상 한국인 집단에서의 ACE 유전자형 분포가 백인, 사모아인 그리고 흑인 집단과 다르게 분포한다고 보고된 바 있다.<sup>9)</sup>

ACE G14480C 다형성은 16번째 인트론의 염기 guanine(G)이 cytosine(C)으로 치환되는 유형이며 A22982G는 25번째 인트론에서 adenine(A)이 guanine(G)으로 대체되어 나타나는 다형이다. 이러한 두 종류의 다형은 모두 엑손과 인트론 경계부위에서 발생하는 다형으로 ACE 활성도 증가와 밀접한 관계가 있는 것으로 조사되었으나<sup>10)11)</sup> 상이한 인류 집단을 대상으로 이들 다형에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이며 한국인에 대한 분석은 아직까지 이루어지지 않고 있다. 한편, 질환과 관련된 연관성은 여러 종류의 다형성을 각각 비교하는 것보다는 동일한 염색체 또는 유전자상의 서로 다른 부위에 존재하는 연관된 대립인자형을 한 세트(구획) 짓는 것과 같은 반수체형(haplotype)에 근거를 두고 분석을 하는 것이 더욱 효과적이다.<sup>12)</sup> 한국인에서 ACE 유전자 다형성과 관상동맥 질환,<sup>13)</sup> 심근경색<sup>14)</sup> 그리고 허혈성 뇌졸중<sup>15)</sup> 등과의 연관성 연구가 수행된 바 있으나 비교적 집단의 크기가 큰 정상대조군과 환자군을 대상으로 하여 후보 유전자의 반수체형 분석(haplotype analysis)으로 본태성 고혈압과의 연관성을 동정한 연구는 아직까지 알려진 바가 없다.

이에 본 연구에서는 한국인 집단을 대상으로 정상 대조군과 고혈압 환자군에서 ACE 유전자의 I/D, G14480C 그리고 A22982G 다형성을 분석하여 이들 유전적 변이와 고혈압 발생 간에 연관성이 존재하는지의 여부를 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 대 상

2000년 11월부터 2002년 12월까지 연세 심혈관계 유전체 연구센터로부터 426명(남성 : 190명, 여성 : 236명)의 환자 표본과 건강검진을 받은 461명(남성 : 201명, 여성 : 236명)의 정상대조군 표본을 제공받아

본 연구를 수행하였다. 혈압측정은 내원 시에 적어도 10분 이상의 휴식을 취하게 한 후, 3분 간격으로 두 번 측정하여 평균을 구하였다. 본 연구에서 고혈압 환자군은 수축기 혈압(systolic blood pressure) 140 mmHg 이상이거나 이완기 혈압(diastolic blood pressure) 90 mmHg 이상, 혹은 내원 시점에서 항고혈압 제제를 복용한 경험이 있는 경우로 정의하였으며 이차성 고혈압, 신장이상 그리고 당뇨병 등의 질환을 가진 환자는 포함되어 있지 않다. 정상대조군으로는 수축기 혈압이 140 mmHg 미만이고 이완기 혈압이 90 mmHg 미만이며 고혈압, 당뇨병, 뇌혈관질환, 관상동맥질환 등의 병력이 없고 이러한 질환의 가족력이 없으며 심전도상 정상소견과 흉부 X-선상 심비대 소견이 없는 건강하고 혈연관계가 없는 성인 남녀를 선별하였다. 참여자의 의무기록과 설문조사를 통하여 연령, 성별, 흡연 및 음주여부 그리고 병력의 유무를 조사하였으며 신장과 체중을 측정하여 체질량지수(body mass index ; BMI)를 산출하였다. 본 연구는 모든 참여 대상자들로부터 서면동의서를 받은 후 수행하였다.

#### ACE 유전자 다형성 분석

ACE 유전자 다형성 분석은 환자군과 정상대조군으로부터 전혈 5 mL를 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 튜브에 채혈한 후, PUREGENE DNA Purification kit (GENTRA, Minneapolis, MA)을 이용하여 혈액 내의 백혈구 세포로부터 genomic DNA를 추출하였다. DNA 추출이 완료된 모든 검체는 스펙트로포토미터에서 농도를 측정하였으며 대량분석을 위하여 각각 PCR 증폭 용도의 96-well 및 384-well 튜브에 25 ng/uL 씩 분주하였다. ACE I/D 다형 분석은 ACE 유전자 인트론 16번에 287 bp 길이를 지닌 *Alu* element의 삽입 및 결실을 관찰하기 위하여 다음과 같은 한 쌍의 시발체(primer)를 이용한 중합효소 연쇄반응(PCR)을 수행하였다. Primer의 염기배열은 각각 sense primer 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3' 및 antisense primer 5'-ATCTGACGAATGTGATGGCCACATC-3'이었다. PCR 반응은 25 ng의 genomic DNA, 각 2.5 pM primer, 0.125 mM의 dNTP, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl(pH 8.3), 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 5% dimethyl sulfoxide (DMSO)에 1 unit의 AmpliTaq polymerase (Applied Biosystems, Foster

City, CA)를 혼합한 후, 반응 총량이 25 uL가 되도록 하여 PCR thermal cycler (PTC-200, MJ Research, Waltham, MA)에서 실시하였다. PCR의 반응 온도와 시간은 초기 변성과정으로 94℃ 5분을 수행한 후, 94℃ 1분, 62℃ 45초, 72℃ 1분의 과정을 35회 반복하였으며 최종적으로 72℃ 10분의 과정을 수행하였다. PCR 반응이 종료된 후, 5 uL의 반응생성물을 2% agarose gel에 전기영동을 시행하고 UV transilluminator 상에서 결과를 확인하였다. II homozygote는 490 bp 길이의 한 종류 분절만이 증폭되었고 DD homozygote의 경우는 190 bp만을 나타냈으며 ID heterozygote는 490과 190 bp 두 종류의 분절이 관찰되었다. G14480C와 A22982G 다형성 분석은 먼저 SNP stream 25K system (Orchid Biosciences, Princeton, NJ)을 이용하여 SNP-IT (SNP-Identification Technology) assay 방법<sup>16)</sup>으로 단일염기확장(single base extension) 반응을 수행하였다. 단일염기확장 반응에 사용되는 primer sequence는 G14480C의 경우, 5'-GTCAGATCTGGTAGGGGTTTGAATG-3' 이고 A22982G는 5'-TGCCCATGCTGTCTCCTTGCTTCCC-3' 이었다. 이들 primer와 각각의 PCR 생성물을 재생(re-naturation) 시킨 후 fluorescein isothiocyanate (FITC) 또는 biotin으로 표지된 각각의 dideoxynucleotide와 반응시켜 단일염기를 확장하였다. 반응이 종료된 후 결과분석은 ELISA 판독기를 이용하여 각기 황색과 청색으로 발색된 유형을 분석하였으며 최종 유전자형은 QC Review<sup>TM</sup> program으로 정리하였다.

#### 통계분석

ACE 유전자형 분석을 위한 자료의 통계처리와 분석은 SAS soft package version 8.1.2 (SAS Institute, Cary, NC)를 사용하였다. 모든 통계값은 평균±표준편차로 표시하였다. 정상대조군과 고혈압 환자군에서 연속형 변수의 차이는 Student's *t*-test를 사용하였으며 명목형 변수의 비교에는 Chi-square test 또는 Fisher's exact test로 이용하였다. 두 군 간의 기본적인 임상특징에 대한 평균비교는 일원형 ANOVA 및 ANCOVA를 사용하였다. 또한 대립인자형과 유전자형의 비교는 Chi-square test를 이용하였으며 ACE 유전자를 대상으로 조사한 세 종류의 다형적 마커간의 연관불평형(linkage disequilibrium ; LD) 관계는 *D'* 값<sup>17)</sup>으로 나타냈다. 개

별적인 haplotype 프로파일 구축은 ACE 다형적 마커들의 유전자형 분석결과를 바탕으로 partition-ligation algorithm을 이용하였으며 haplotype 빈도분석은 Haplotyper 프로그램<sup>18)</sup>으로 수행하였다. 분석된 모든 수치에 대한 통계학적 유의수준은 p값이 0.05 미만인 경우 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 정의하였다.

## 결 과

### 임상적 특성

모든 연구 대상자의 임상적 양상은 Table 1과 같다. 정상대조군은 461명이고 고혈압 환자군은 426명이었으며, 이들의 평균연령은 정상대조군의 경우  $49.76 \pm 10.08$ 세, 환자군의 경우  $51.39 \pm 10.30$ 세로서 환자군의

**Table 1.** Clinical characteristics of the study subjects

Variable	Hypertensive subjects (n=426)		Normotensive subjects (n=461)		p
	Male	Female	Male	Female	
Number	190	236	201	260	
Age (y)	$49.71 \pm 10.35$	$52.75 \pm 10.08$	$47.77 \pm 10.94$	$51.30 \pm 9.09$	0.0173
SBP (mmHg)	$133.22 \pm 18.12$	$128.19 \pm 16.55$	$118.20 \pm 9.99$	$114.97 \pm 12.40$	0.0000
DBP (mmHg)	$85.47 \pm 11.80$	$80.97 \pm 11.08$	$75.41 \pm 7.14$	$72.03 \pm 7.79$	0.0000
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	$25.49 \pm 2.93$	$24.96 \pm 3.02$	$23.71 \pm 2.80$	$23.25 \pm 2.70$	0.0000
TG (mg/dL)	$184.29 \pm 116.50$	$150.53 \pm 82.19$	$158.41 \pm 108.13$	$116.95 \pm 71.63$	0.0000
TC (mg/dL)	$201.16 \pm 38.51$	$206.37 \pm 42.20$	$205.84 \pm 39.57$	$209.15 \pm 36.66$	0.1652
HDL-C (mg/dL)	$42.05 \pm 11.42$	$45.16 \pm 11.19$	$45.48 \pm 10.54$	$51.60 \pm 12.01$	0.0000
LDL-C (mg/dL)	$125.02 \pm 36.33$	$131.76 \pm 35.97$	$130.71 \pm 35.30$	$134.46 \pm 32.91$	0.0983
Glucose (mg/dL)	$96.61 \pm 26.48$	$91.75 \pm 17.70$	$92.98 \pm 20.51$	$86.82 \pm 15.18$	0.0011

Data values are means  $\pm$  standard deviation and numbers (%). SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, BMI: body mass index, TG: triglyceride, TC: total cholesterol, HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol, LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol. p is comparison with means or percentages between two groups by analysis of variance or Chi-square test

**Table 2.** Distribution of allele and genotype frequencies of ACE I/D, G14480C and A22982G polymorphisms in our study population

Polymorphism	Allele/genotype	Male			Female		
		Hypertensives (n=190)	Normortensives (n=201)	p	Hypertensives (n=236)	Normortensives (n=260)	p
ACE I/D	II	65 (0.342)	65 (0.323)	0.8903	86 (0.364)	99 (0.38)	0.8747
	ID	92 (0.484)	98 (0.488)		112 (0.475)	123 (0.473)	
	DD	33 (0.174)	38 (0.189)	0.6298	38 (0.161)	38 (0.146)	0.6146
	%I	0.584	0.567		0.602	0.617	
	%D	0.416	0.433		0.398	0.383	
G14480C	GG	32 (0.168)	38 (0.189)	0.8454	38 (0.161)	38 (0.146)	0.8099
	GC	93 (0.489)	98 (0.488)		115 (0.487)	124 (0.477)	
	CC	65 (0.342)	65 (0.323)	0.5778	83 (0.352)	98 (0.377)	0.5188
	%G	0.413	0.433		0.405	0.385	
	%C	0.587	0.567		0.595	0.615	
A22982G	AA	58 (0.305)	57 (0.284)	0.8831	76 (0.322)	94 (0.362)	0.6257
	AG	96 (0.505)	106 (0.527)		116 (0.492)	118 (0.454)	
	GG	36 (0.189)	38 (0.189)	0.7651	44 (0.186)	48 (0.185)	0.5104
	%A	0.556	0.547		0.568	0.588	
	%G	0.442	0.453		0.432	0.412	

ACE: angiotensin converting enzyme, I/D: ACE insertion/deletion

**Table 3.** Features of all participants by ACE I/D polymorphism

	ACE I/D							
	Hypertensives				Normotensives			
	II	ID	DD	p	II	ID	DD	p
<b>Male</b>								
N	65	92	33		65	98	38	
Age (y)	49.78±10.95	49.20±10.16	51.00±9.85	0.6920	49.03±11.30	47.27±10.86	46.89±10.64	0.5207
SBP (mmHg)	129.88±14.83	134.21±18.40	137.06±22.26	0.1375	117.94±9.92	118.30±10.53	118.42±8.87	0.9649
DBP (mmHg)	83.91±11.39	86.11±12.06	86.79±11.91	0.4048	75.11±7.09	75.66±7.51	75.26±6.34	0.8809
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.92±3.16	25.30±2.65	25.18±3.18	0.3388	24.20±2.84	23.41±2.56	23.65±3.22	0.2111
TG (mg/dL)	166.43±114.68	193.57±111.41	193.61±132.58	0.3148	144.98±108.36	170.51±119.72	150.18±67.37	0.2953
TC (mg/dL)	191.92±36.26	207.64±39.65	201.27±36.92	0.0410	210.29±36.12	203.10±40.72	205.29±42.51	0.5246
HDL-C (mg/dL)	41.14±11.09	42.20±11.48	43.45±12.07	0.6348	46.75±10.54	45.81±10.52	42.44±10.29	0.1232
LDL-C (mg/dL)	121.59±31.31	128.20±38.68	122.99±39.30	0.5275	136.95±35.69	125.67±32.91	132.81±39.27	0.1339
Glucose (mg/dL)	91.23±17.09	97.74±26.66	104.09±37.63	0.0638	90.08±10.62	93.45±20.58	96.71±30.64	0.2724
<b>Female</b>								
N	86	112	38		99	123	38	
Age (y)	51.59±10.47	53.56±10.47	52.95±8.62	0.3931	51.29±8.87	50.87±9.05	52.71±9.89	0.5535
SBP (mmHg)	126.28±17.76	129.55±15.92	128.50±15.53	0.3845	112.51±12.00	115.87±12.33	118.50±12.71	0.0213
DBP (mmHg)	80.86±12.54	81.20±10.01	80.58±10.81	0.9504	71.60±7.06	72.28±8.34	72.32±7.93	0.7842
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.68±3.01	25.05±3.13	25.35±2.69	0.4831	23.27±2.73	23.37±2.75	22.80±2.45	0.5291
TG (mg/dL)	144.64±86.50	146.08±71.04	176.97±98.55	0.0948	118.47±83.15	118.35±66.55	108.42±53.96	0.7311
TC (mg/dL)	199.14±37.01	208.11±44.53	217.61±44.22	0.0664	207.60±38.74	211.24±34.94	206.47±37.12	0.6791
HDL-C (mg/dL)	43.73±11.06	46.15±11.48	45.49±10.50	0.3174	49.94±11.88	52.57±12.10	52.82±11.91	0.2137
LDL-C (mg/dL)	127.80±31.65	132.75±39.05	137.94±41.60	0.3606	134.76±35.02	135.00±32.16	131.97±30.37	0.8795
Glucose (mg/dL)	90.40±18.63	93.10±19.08	90.84±9.54	0.5440	86.67±15.73	86.97±15.40	86.76±13.27	0.9890

ACE: angiotensin converting enzyme, I/D: ACE insertion/deletion, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, BMI: body mass index, TG: triglyceride, TC: total cholesterol, HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol, LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol

연령이 정상 대조군에 비하여 높았다. 남녀 비율은 정상대조군에서 남자가 201명(43.6%), 여자가 260명(56.4%)이었으며 환자군에서는 남자가 190명(44.6%), 여자가 236명(55.4%)으로 다소 차이가 있었으나 통계적 유의성은 없는 것으로 나타났다. 또한 정상 대조군의 수축기 혈압과 이완기 혈압의 평균치는 각각 116.38±11.51 mmHg와 73.50±7.69 mmHg이었으나 고혈압 환

자군의 경우는 130.43±17.43 mmHg와 82.98±11.61 mmHg로 조사되었다. 고혈압 환자군의 혈압 수치가 비교적 낮게 나타난 이유는 대상 환자군의 83.8%(357명)가 항고혈압 약을 복용하고 있기 때문인 것으로 나타났다. 그러나 두 군의 혈압수치를 비교한 결과에서는 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 분석되었다( $p < 0.0001$ ). 한편 고혈압 군에서 BMI, 고밀도 콜레스테롤

**Table 4.** Features of all participants by ACE G14480C polymorphism

	ACE G14480C															
	Hypertensives								Normotensives							
	GG		GC		CC		p		GG		GC		CC		p	
Male																
N	32		93		65				38		98		65			
Age (y)	51.13±	9.98	49.17±	10.11	49.78±	10.95	0.6554		46.89±	10.64	47.27±	10.86	49.03±	11.30	0.5207	
SBP (mmHg)	137.28±	22.58	134.16±	18.31	129.88±	14.83	0.1305		118.42±	8.87	118.30±	10.53	117.94±	9.92	0.9649	
DBP (mmHg)	86.69±	12.08	86.15±	12.00	83.91±	11.39	0.4111		75.26±	6.34	75.66±	7.51	75.11±	7.09	0.8809	
BMI (kg/m²)	25.17±	3.23	25.30±	2.64	25.92±	3.16	0.3379		23.65±	3.22	23.41±	2.56	24.20±	2.84	0.2111	
TG (mg/dL)	196.50±	133.64	192.57±	111.21	166.43±	114.68	0.3106		150.18±	67.37	170.51±	119.72	144.98±	108.36	0.2953	
TC (mg/dL)	199.59±	36.21	208.15±	39.74	191.92±	36.26	0.0316		205.29±	42.51	203.10±	40.72	210.29±	36.12	0.5246	
HDL-C (mg/dL)	43.40±	12.26	42.23±	11.42	41.14±	11.09	0.6478		42.44±	10.29	45.81±	10.52	46.75±	10.54	0.1232	
LDL-C (mg/dL)	120.69±	37.88	128.92±	39.02	121.59±	31.31	0.3801		132.81±	39.27	125.67±	32.91	136.95±	35.69	0.1339	
Glucose (mg/dL)	104.25±	38.22	97.75±	26.52	91.23±	17.09	0.0627		96.71±	30.64	93.45±	20.58	90.08±	10.62	0.2724	
Female																
N	38		115		83				38		124		98			
Age (y)	52.95±	8.62	53.33±	10.30	51.84±	10.42	0.5883		52.71±	9.89	50.90±	9.01	51.27±	8.91	0.5612	
SBP (mmHg)	128.50±	15.53	129.57±	15.87	126.14±	17.86	0.3558		118.50±	12.71	115.85±	12.28	112.49±	12.06	0.0214	
DBP (mmHg)	80.58±	10.81	81.08±	10.02	81.01±	12.61	0.9709		72.32±	7.93	72.27±	8.31	71.60±	7.09	0.7924	
BMI (kg/m²)	25.35±	2.69	25.05±	3.10	24.65±	3.06	0.4537		22.80±	2.45	23.38±	2.74	23.25±	2.74	0.5189	
TG (mg/dL)	176.97±	98.55	149.39±	76.65	140.00±	79.81	0.0695		108.42±	53.96	118.76±	66.44	117.96±	83.42	0.7287	
TC (mg/dL)	217.61±	44.22	207.91±	44.38	199.08±	36.98	0.0694		206.47±	37.12	211.39±	34.84	207.37±	38.87	0.6406	
HDL-C (mg/dL)	45.49±	10.50	45.93±	11.43	43.94±	11.18	0.4578		52.82±	11.91	52.46±	12.11	50.04±	11.89	0.2632	
LDL-C (mg/dL)	137.94±	41.60	132.80±	39.38	127.60±	30.84	0.3452		131.97±	30.37	135.17±	32.09	134.54±	35.13	0.8719	
Glucose (mg/dL)	90.84±	9.54	92.96±	18.87	90.50±	18.94	0.5969		86.76±	13.27	87.09±	15.40	86.51±	15.73	0.9610	

ACE: angiotensin converting enzyme, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, BMI: body mass index, TG: triglyceride, TC: total cholesterol, HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol, LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol

(HDL), 중성지방(TG) 그리고 혈당 수치 등이 정상 대조군과 비교해서 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다. 반면에 총콜레스테롤(total cholesterol)과 저밀도 콜레스테롤(LDL) 수치의 비교에서는 두 군 간에 유의한 차이가 없었다.

#### ACE 유전자 다형성 분석

정상대조군과 고혈압 환자군에서 나타난 ACE I/D, G14480C 그리고 A22982G 다형성의 분포는 Table 2와 같았다. I/D 다형성에서 유전자형의 빈도는 대조군에서 각각 II : ID : DD=0.356 : 0.479 : 0.165, 환자군에서는 0.354 : 0.479 : 0.167로서 두 군 간에 유의

**Table 5.** Features of all participants by ACE A22982G polymorphism

	ACE A22982G															
	Hypertensives								Normotensives							
	AA		AG		GG		p		AA		AG		GG		p	
Male																
N	58		96		36				57		106		38			
Age (y)	49.93±	11.20	49.21±	10.09	50.69±	9.81	0.7512	49.37±	11.37	47.22±	10.83	46.89±	10.64	0.4232		
SBP (mmHg)	129.81±	14.87	134.27±	18.34	135.92±	21.67	0.2052	118.6±±	9.94	117.91±	10.47	118.42±	8.87	0.9020		
DBP (mmHg)	83.79±	11.55	86.10±	11.99	86.50±	11.75	0.4250	75.51±	6.82	75.41±	7.62	75.26±	6.34	0.9867		
BMI (kg/m²)	26.00±	3.26	25.24±	2.58	25.33±	3.22	0.2791	24.23±	2.94	23.46±	2.53	23.65±	3.22	0.2433		
TG (mg/dL)	172.66±	118.86	190.36±	110.74	186.83±	129.09	0.6539	141.67±	103.89	170.37±	120.81	150.18±	67.37	0.2375		
TC (mg/dL)	191.12±	37.15	206.76±	39.43	202.39±	35.85	0.0487	211.60±	36.07	202.94±	40.32	205.29±	42.51	0.4124		
HDL-C (mg/dL)	41.14±	10.93	42.23±	11.68	43.05±	11.69	0.7201	47.75±	10.80	45.34±	10.29	42.44±	10.29	0.0541		
LDL-C (mg/dL)	119.92±	32.35	127.84±	37.79	125.77±	38.61	0.4486	137.54±	36.21	126.13±	32.82	132.81±	39.27	0.1399		
Glucose (mg/dL)	91.91±	17.74	97.06±	26.28	102.97±	36.34	0.1402	90.51±	10.63	92.96±	20.05	96.71±	30.64	0.3545		
Female																
N	76		116		44				94		118		48			
Age (y)	51.32±	10.59	53.94±	9.98	52.07±	9.23	0.1871	51.36±	8.88	50.92±	8.99	52.13±	9.87	0.7383		
SBP (mmHg)	126.00±	17.32	129.94±	16.20	127.36±	15.95	0.2554	112.45±	12.09	115.95±	12.29	117.52±	12.64	0.0351		
DBP (mmHg)	80.84±	11.93	81.40±	10.58	80.09±	11.02	0.7962	71.32±	6.98	72.47±	8.32	72.31±	8.01	0.5425		
BMI (kg/m²)	24.65±	2.81	25.20±	3.18	24.87±	2.94	0.4653	23.22±	2.79	23.27±	2.67	23.04±	2.62	0.8340		
TG (mg/dL)	141.12±	82.87	149.91±	75.14	168.41±	96.72	0.2145	117.65±	84.46	118.25±	65.57	112.38±	58.57	0.8862		
TC (mg/dL)	198.28±	38.10	207.57±	42.37	217.18±	46.49	0.0551	207.23±	38.08	210.96±	34.57	208.48±	39.29	0.7573		
HDL-C (mg/dL)	44.30±	11.42	45.09±	10.89	46.84±	11.63	0.4889	49.95±	12.08	52.88±	12.17	51.71±	11.33	0.2101		
LDL-C (mg/dL)	126.23±	32.56	133.20±	37.55	137.71±	42.05	0.2305	134.60±	34.76	134.43±	31.85	134.30±	32.51	0.9986		
Glucose (mg/dL)	89.63±	18.94	93.66±	19.03	90.39±	9.97	0.2626	86.26±	15.67	87.13±	13.53	87.19±	18.10	0.9026		

ACE: angiotensin converting enzyme, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, BMI: body mass index, TG: triglyceride, TC: total cholesterol, HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol, LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol

한 차이가 없었다. G14480C 다형성 분석에서는 대조군에서 GG : GC : CC=0.165 : 0.482 : 0.354였으며 환자군에서는 0.164 : 0.488 : 0.347로 두 군 간의 통계적 유의성은 없는 것으로 조사되었다. A22982G 다형성은 대조군의 경우에 AA : AG : GG=0.328 : 0.486 : 0.187였으며 환자군은 0.315 : 0.498 : 0.188로 나타나 두 군 간의 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 대조

군과 환자군을 대상으로 이들 세 종류 다형성에 대한 대립인자형 비교 시에도 빈도의 차이는 없었다. 대조군과 환자군을 각각 남녀의 두 군으로 세분하여 이들 다형성의 유전자형과 대립인자형의 빈도를 분석한 결과에서도 각 군 간의 통계적 유의성은 없는 것으로 나타났다. 전체 대조군 및 환자군의 ACE 유전자 다형성들에 대한 유전자형의 분포는 모두 Hardy-Weinberg

equilibrium을 만족하여( $p>0.05$ ), 대조군과 환자군의 선택적 bias는 극히 적은 것으로 조사되었다.

정상대조군과 고혈압 환자군을 각기 남녀의 두 군으로 구분하여 각각의 ACE 유전자 내 세 종류의 다형성 유형에 따른 혈압, 중성지방, 총콜레스테롤, HDL, LDL 그리고 혈당의 변화치를 조사하였다(Table 3-5). 그 결과, 여성 정상대조군의 경우 수축기 혈압의 수치가 I/D 다형성에서는 DD형, G14480C에서는 GG형 그리고 A22982G 다형성에서는 GG 유전자형에서 가장 높게 나타났다. 반면에 이들 다형성의 II형, CC형 그리고 AA 유전자형에서는 비교적 낮은 수축기 혈압수치가 나타났다. 한편 여성 환자군과 비교한 결과, 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 분석되었다( $p=0.0213, 0.0214, 0.0351$ ). 이와는 달리, 남성 정상대조군에서는 다형성 유형에 따른 변수들의 수치 변화는 통계적 유의성을 보이지 않았다. 한편 남성 고혈압 환자군의 경우 총콜레스테롤 수치가 I/D 다형성에서는 ID형, G14480C에서는 GC형 그리고 A22982G 다형성에서는 AG 유전자형에서 가장 높았고 II형, CC형 그리고 AA형이 가장 낮은 것으로 나타났으며 이런 결과를 남성 대조군과 비교해 볼 때, 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 조사되었다( $p=0.0410, 0.0316, 0.0487$ ). 그러나 남성 고혈압 환자군에서 총콜레스테롤 수치를 제외하고 ACE 다

형성의 유전자형에 따른 기타 변수와의 연관성은 보이지 않았다. 또한 여성 고혈압 환자군에서도 ACE 세 종류 다형성과 변수와의 연관성은 통계적으로 유의하지 않았다.

ACE 유전자 다형성들 간의 LD 유형을 확인하기 위하여 불평형 통계치( $D'$ )를 측정하였다(Table 6). I/D, G14480C 그리고 A22982G 간의  $D'$ 치가 모두 0.9900 이상으로 높게 나타났으며 Zhu 등<sup>19)</sup>이 정의한 haplotype block definition에 적용시킨 결과, 본 연구의 대상인 한국인 집단 내에서 common haplotype block이 존재하는 것으로 분석되었다. 이런 결과로 볼 때, ACE 유전자 내 세 종류의 다형성들은 상호 간에 매우 유의한 LD 관계가 있는 것으로 조사되었다. Haplotype 분석을 통하여 ACE 유전자 내 세 종류의 다형성에 존재할 수 있는 haplotype의 수는 모두 8 종류가 되지만 본 연구에서는 6 종류의 haplotype이 관찰되었다(Table 7). Haplotype 분석 결과, 남녀의 모든 대조군과 환자군에서 haplotype ICA의 빈도가 가장 높게 나타났다. 다음으로 haplotype DGG가 높은 것으로 조사되었다. Haplotype IGA와 DGA는 남성 대조군과 환자군에는 존재하지 않았으며 haplotype DCG의 경우는 남성의 환자군에서만 관찰되고 그 외의 분류군에서는 존재하지 않았다. Haplotype 빈도 분포를 이용한 남녀 대조군과 환자군의 비교에서는 모두 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다( $p>0.05$ ).

## 고 찰

RAS는 체내에서 혈압조절 및 나트륨과 칼륨을 포함하는 수분, 전해질 대사의 역할을 수행하고 혈관수축을

**Table 6.** Pairwise LD and statistical significance of polymorphisms in the ACE gene

Polymorphism	I/D	G14480C	A22982G
I/D	—	0.9880	0.8874
G14480C	0.9980	—	0.8817
A22982G	0.9970	0.9900	—

LD is  $D'$  below the diagonal, and  $r^2$  is above the diagonal. LD: low-density

**Table 7.** Comparison of ACE gene haplotype frequencies in study population

Haplotype	I/D	G14480C	A22982G	Male		p	Female		p
				Hypertensives (n=380)	Normotensives (n=402)		Hypertensives (n=380)	Normotensives (n=402)	
1	I	G	A	0.0000	0.0000	—	0.0064	0.0020	—
2	I	C	A	0.5579	0.5472	0.7651	0.5614	0.5846	0.4611
3	I	C	G	0.0263	0.0200	0.5499	0.0339	0.0308	0.7806
4	D	G	A	0.0000	0.0000	—	0.0000	0.0002	—
5	D	G	G	0.4132	0.4328	0.5778	0.3983	0.3808	0.5716
6	D	C	G	0.0026	0.0000	—	0.0000	0.0000	—

n: chromosome number, ACE: angiotensin converting enzyme



비롯하여 전반적인 혈관에 대한 작용에 관여하기 때문에 고혈압의 발생과 유지에 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup> RAS에서 중요한 역할을 수행하는 구성 요소 가운데 하나인 ACE 유전자의 다형성이 본태성 고혈압 발생에 원인을 제공할 것인가에 대한 연구는 전 세계적으로 많은 학자들에 의해 수행되었으나 인류 집단 간의 유전적 차이에 의해 상반된 결과를 보여주고 있다.<sup>7)20)</sup> 현재까지 알려진 ACE 유전자 내에 존재하는 다형성은 13 종류로 보고된 바 있다.<sup>10)</sup> 이들 가운데 ACE 다형성과 심혈관계 질환을 비롯한 여러 종류의 유전질환과의 관련성 연구에 가장 많이 이용된 것이 I/D 다형 분석이다. Rigat 등<sup>5)</sup>의 보고에 따르면 I/D 다형성의 D 대립인자형을 가진 군이 I형을 가진 군보다 혈장 내의 ACE 활성도에 차이가 있다는 것을 보고하였다. 이후 비록 상반된 결과지만 I/D 다형성과 혈압과의 연관성에 대한 연구들이 지속적으로 진행되어 왔다.<sup>21)22)</sup> 비록 유의한 결과를 보이지는 않았으나 한국인을 대상으로 I/D 다형성과 심혈관계 질환 사이의 연관성에 관한 연구들은 다수 보고된 바 있다.<sup>9)13)15)</sup> 그러나 대상자의 수가 많은 집단을 대상으로 본태성 고혈압과 ACE 유전자 다형성 간의 관련성 연구는 아직까지 보고된 바가 없다. I/D 다형성과 고혈압에 관한 연구가 이미 오래전부터 다양한 집단을 대상으로 시도된 것과는 달리, G14480C와 A22982G 다형성에 관한 연구는 일부 심혈관계 질환과 관련된 복합형질분석에 사용된 것을 제외하면 고혈압과의 관련성에 대한 연구는 아직까지 시도된 바 없다. 그러나 본 연구에 대한 예비실험으로서 이들 두 다형성의 대립인자형 빈도를 측정한 결과, 낮은 대립인자형의 빈도가 각각 39%와 45%로 조사되어 한국인 집단에서는 G14480C 및 A22982G 다형성이 고혈압 간의 연관성 연구대상에 적합할 것으로 추정하였다.

본 연구에서는 비교적 대조군과 환자군의 표본 수가 많은 한국인 집단을 대상으로 ACE 유전자의 세 종류 유전적 마커에 대한 다형성 분석을 수행하였다. ACE I/D 다형성 분석 결과, I/D 유전자형 분포는 정상대조군과 고혈압 환자군 사이에 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 대립인자형의 비교 분석에서도 D형을 가진 군이 다른 유형을 가진 군보다 고혈압과의 유의한 관련성을 나타낸다는 Morris 등<sup>23)</sup>의 백인 집단에 대한 이전의 보고와 일본인 집단을 대상으로 한 Yoshida 등<sup>24)</sup>의 결과와는 달리 두 군 사이에 I/D 다형성의 유의한 분

포 차이는 보이지 않았다. 또한 두 군을 다시 남성 및 여성의 두 군으로 나눈 후, 여러 조건으로 분류하여 비교하였을 때에도 관련성이 없는 것으로 분석되었다. 이런 결과는 최근 거대 집단을 대상으로 한 I/D 다형성 분석에서 DD 유전자형을 가진 남성 군이 여성군보다 매우 유의한 차이로 고혈압과 관련이 있다는 결과<sup>7)20)</sup>와 다른 양상이다. 한편 한국인 집단에 분포하고 있는 D 대립인자형의 빈도는 40.5%로서 일본인(40.0%)<sup>25)</sup>과 중국인 집단(38.0%)<sup>26)</sup>과는 유사하게 조사되었으며 흑인(63.0%)<sup>27)</sup> 및 백인 집단(64.0%)<sup>28)</sup> 보다는 매우 낮게 나타난 반면 중남미인 집단(34.0%)<sup>29)</sup>에 비해 비교적 높은 빈도를 보였다.

ACE G14480C와 A22982G 다형성 분석의 경우에도 I/D의 결과와 같이 대조군과 환자군 사이에 유전자형 분포의 차이가 보이지 않았다. 이런 결과들은 한국인 집단의 ACE 유전자 다형성이 이전에 보고된 바 있는 백인, 흑인 그리고 일본인 집단의 결과와 같이 고혈압 발생의 독립적 위험인자로 작용하지 않는다는 것으로 해석할 수 있다.

정상 대조군과 고혈압 환자군을 남녀 두 군으로 구분하여 ACE 유전자형에 따른 혈압, 중성지방, 총콜레스테롤, HDL, LDL 그리고 혈당의 농도 변화를 조사하였다. 그 결과, ACE 유전자형에 따른 여성 대조군에서의 수축기 혈압의 수치가 여성 환자군과 비교해서 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타난 반면 남성의 경우는 유의하지 않는 것으로 분석되었다. 이는 ACE 유전자형이 남성에서 수축기 혈압의 변화와 관련성이 있다는 이전의 보고<sup>7)</sup>와는 다른 결과이며 인류 집단 간의 유전적 배경의 차이로 볼 수 있다. 한편 남성 고혈압 환자군에서 ACE 유전자형에 따른 총콜레스테롤 수치는 남성 대조군과 비교해 볼 때, 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 조사되었다. 이는 Tamaki 등<sup>25)</sup>이 2,892명의 일본인을 대상으로 한 연구에서 ACE 유전자형에 따른 총콜레스테롤 수치는 남성 및 여성의 대조군과 환자군 사이에서 유의한 차이가 없었다는 보고와는 다른 결과이다.

지금까지 혈중 콜레스테롤 농도는 복잡한 대사 경로를 통하여 다양한 유전적 그리고 환경적 요인에 의해 결정된다고 알려져 왔다. 콜레스테롤 농도는 일반적으로 체질량 지수가 높을수록 증가하고 비흡연자에 비해 흡연자에서 증가하는 것으로 보고된 바 있는데 체질량

지수는 고혈압의 주요 위험요인 중 하나이다.<sup>30)</sup> 따라서 본 연구에서 모든 대상자 간의 총콜레스테롤 수치가 유의한 차이로 나타나지 않았으나 남성 고혈압 환자군에서 여성군과는 달리 ACE 유전자형이 총콜레스테롤 수치와 연관성을 보이는 것은 ACE 유전자의 특정한 유전자형이 남성의 총콜레스테롤 증가에 영향을 주었을 것으로 판단된다. 한편 haplotype 빈도 분포를 통한 남녀 대조군과 환자군의 비교에서는 모두 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으며 비록 적은 수의 표본이지만 haplotype DCG는 고혈압 환자군에서, haplotype DGA는 대조군에서만 관찰되었을 뿐 여타의 haplotype은 두 군에서 유사한 빈도로 존재하였다. 이와 같은 결과는 환자군과 대조군을 구성하는 대상 집단이 매우 homogeneous한 유전적 배경을 공유하고 있다는 것을 나타낸다.

결론적으로, 본 연구는 한국인 집단에서 ACE 유전자 다형성은 본태성 고혈압의 발생 유무 및 혈압상승에 미치는 영향이 없는 것으로 분석되었다. 그러나 현재까지 시도된 바 없는 비교적 많은 수의 한국인을 대상으로 고혈압 관련 후보유전자인 ACE 유전자의 세 종류 다형성에 대한 집단분석을 수행하여 향후 심혈관계 질환 유전체 database 구축에 기초자료를 제공했다는 데 의의가 있다고 할 수 있다.

본 연구의 제한점으로는 첫째, ACE 유전자와 혈압과의 관련성 연구에 필요한 ACE 활성도 측정이 모든 대상자를 상대로 수행되지 못하여 기존의 보고와 같이 ACE 유전자 다형성과 ACE 활성도 간의 연관관계를 분석하지 못한 점이다. 둘째, 비록 연구 대상자의 수가 적지는 않지만 환자군에 대한 대조군의 대상자 수가 충분하지 못했다는 점이다. 따라서 이러한 제한점을 고려할 때 보다 많은 대조군의 추가적인 분석 및 ACE 유전자 다형성과 ACE 활성도 그리고 혈압과의 관련성에 관한 종합적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 요 약

### 배경 및 목적 :

레닌-안지오텐신계(RAS) 내의 안지오텐신 전환효소(ACE)는 고혈압을 비롯한 심혈관계 질환의 발병기전에 중추적인 역할을 담당하며 ACE 유전자 다형성이 인류 집단 간에 차이는 있으나 본태성 고혈압 발생에 중요한

영향을 주는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 한국인 정상 대조군과 고혈압 환자군을 대상으로 ACE I/D, G14480C 그리고 A22982G 등의 ACE 유전자 다형성과 본태성 고혈압과의 관련성 연구를 수행하였다.

### 방 법 :

연세 심혈관계 유전체 연구센터로부터 426명(남성 : 190명, 여성 : 236명)의 환자 표본과 건강검진을 받은 461명(남성 : 201명, 여성 : 236명)의 정상대조군 대상으로 세 종류의 ACE 유전자형의 빈도를 조사하였으며 두 군에서 ACE 유전자형에 따른 혈압, 중성지방, 총콜레스테롤, HDL, LDL 그리고 혈당의 농도를 비교분석하였다. ACE 유전자형은 말초혈액으로부터 genomic DNA를 추출하여 PCR 및 SNP-IT 방법으로 결정하였다.

### 결 과 :

정상 대조군과 고혈압 환자군 간의 ACE 유전자형 및 대립인자형의 빈도 비교에서는 유의한 차이를 보이지 않았다. ACE 유전자형에 따른 혈압, 중성지방, 혈당 및 콜레스테롤의 농도를 비교분석한 결과에서 혈압의 경우 수축기 혈압은 정상의 여성 대조군에서 그리고 총콜레스테롤 농도는 남성 환자군에서 유의한 차이를 나타냈으나 이완기 혈압 및 기타의 변수들은 두 군에서 차이가 없는 것으로 조사되었다. 또한 ACE 유전자형을 기초로 한 haplotype 비교분석에서는 두 군 간의 유의한 빈도차이를 보이지 않았다. 한편 한국인에서 ACE I/D 다형성의 D 대립인자형의 빈도는 동아시아인 집단과는 유사하게 나타난 반면 흑인 및 백인 집단 매우 낮은 것으로 분석되었다.

### 결 론 :

한국인 집단에서 세 종류의 ACE 유전자 다형성은 본태성 고혈압의 발생 유무 및 혈압변화의 정도와 관련성이 없는 것으로 분석되었다.

**중심 단어 :** 안지오텐신 전환효소 유전자 ; 다형성 ; 고혈압 ; Haplotype ; 한국인.

본 연구는 보건복지부 보건의료바이오기술개발사업(00-PJ3-PG6-GN01-0001)의 지원으로 이루어졌음.

## REFERENCES

- 1) Harrap SB. Hypertension: genes versus environment. *Lancet* 1994;344:169-71.
- 2) MacGregor GA, Markandu ND, Roulston JE, Jones JC, Morton JJ. Maintenance of blood pressure by the renin-an-

- giotensin system in normal man. *Nature* 1981;291:329-31.
- 3) Mattei M, Hubert C, Ahlenc-Galas F, Roeckel N, Corvol P, Soubrier F. *Angiotensin I-converting enzyme gene is on chromosome 17. Cytogenet Cell Genet* 1989;51:1041-45.
  - 4) Rieder MJ, Taylor SL, Clark AG, Nickerson DA. *Sequence variation in the human angiotensin converting enzyme. Nat Genet* 1999;22:59-62.
  - 5) Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, 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* 1990;86:1343-6.
  - 6) Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F, Soubrier F. *Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. Am J Hum Genet* 1992;51:197-205.
  - 7) O'Donnell CJ, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, Ordovas JM, Schaefer EJ, Myers RH, Levy D. *Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in men but not women in the Framingham Heart Study. Circulation* 1998;97:1766-72.
  - 8) Turner ST, Boerwinkle E, Sing CF. *Context-dependent associations of the ACE I/D polymorphism with blood pressure. Hypertension* 1999;34:773-8.
  - 9) Hong SH, Kang BY, Park WH, Kim JQ, Lee CC. *Genetic variation of the angiotensin-converting enzyme gene: increased frequency of the insertion allele in Koreans. Clin Genet* 1997;51:35-8.
  - 10) Zhu X, McKenzie CA, Forrester T, Nickerson DA, Broeckel U, Schunker H, Doering A, Jacob HJ, Cooper RS, Rieder MJ. *Localization of small genomic region associated with elevated ACE. Am J Hum Genet* 2000;67:1144-53.
  - 11) Cox R, Bouzekri N, Martin S, Southam L, Hugill A, Golamully M, Cooper R, Adeyemo A, Soubrier F, Ward R, Lathrop GM, Mastuda F, Farrall M. *Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) plasma concentration is influenced by multiple ACE-linked quantitative trait nucleotides. Hum Mol Genet* 2002;11:2969-77.
  - 12) Zhang K, Calabrese P, Nordborg M, Sun F. *Haplotype block structure and its applications to association studies: power and study designs. Am J Hum Genet* 2002;71:1386-94.
  - 13) Kwon SU, Kim DK, Kim JH, Park JI, Koak MH, Oh JH, Jeong JO, Lee SC, Gwon HC, Park SW, Kim JS, Lee SH, Hong KP, Park JE, Seo JD, Lee WR. *Association of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and angiotensin-converting enzyme activity in Korean patients with coronary artery disease. Korean Cir J* 2000;30:1350-6.
  - 14) Ryu SK, Cho EY, Park HY, Im EK, Jang YS, Shin GJ, Shim WH, Cho SY. *Renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) gene polymorphism as a risk factor of coronary in stent retension. Yonsei Med J* 2002;43:461-72.
  - 15) Choi YM, Choi JC, Han JK, Park MK, Park KW, Lee DH. *An deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in ischemic stroke patients. J Korean Neurol Assoc* 2000;8:261-6.
  - 16) Grant DM, Phillips MS. *Technologies for the analysis of single nucleotide polymorphisms: an overview. In: Kalow, Myer, Tyndale, editor: Pharmacogenomics. vol 113. New York: Marcel Dekker; 2001. Chapter 10, p.183-90.*
  - 17) Lewontin RC. *On measures of gametic disequilibrium. Genetics* 1988;120:849-52.
  - 18) Niu T, Qin ZS, Xu X, Liu JS. *Bayesian haplotype inference for multiple linked single nucleotide polymorphisms. Am J Hum Genet* 2002;70:157-69.
  - 19) Zhu X, Zhang S, Kan D, Cooper RS. *Haplotype block definition and its application. In: Altman RB, Dunker AK, Hunter L, Jung TA, Klein TE, editor. Pacific Symposium on Biocomputing 2004. World Scientific; 2003. p.152-63.*
  - 20) Higaki J, Baba S, Katsuya T, Sato N, Ishikawa K, Mannami T, Ogata J, Ogihara T. *Deletion allele of angiotensin-converting enzyme gene increases risk of essential hypertension in Japanese men: the Suita Study. Circulation* 2000;101:2060-5.
  - 21) Zhu X, Bouzekri N, Southam L, Cooper RS, Adeyemo A, McKenzie CA, Luke A, Chen G, Elston RC, Ward R. *Linkage and association analysis of angiotensin I-converting enzyme (ACE)-gene polymorphisms with ACE concentration and blood pressure. Am J Hum Genet* 2001;68:1139-48.
  - 22) Bouzekri N, Zhu X, Jiang Y, McKenzie CA, Luke A, Forrester T, Adeyemo A, Kan D, Farrall M, Anderson S, Cooper RS, Ward R. *Angiotensin I-converting enzyme polymorphisms, ACE level and blood pressure among Nigerians, Jamaicans and African-Americans. Eur J Hum Genet* 2004;12:460-8.
  - 23) Morris BJ, Zee RY, Schrader AP. *Different frequencies of angiotensin-converting enzyme genotypes in older hypertensive individuals. J Clin Invest* 1994;94:1085-9.
  - 24) Yoshida K, Ishigami T, Nakazawa I, Ohno A, Tamura K, Fukuoka M, Mizushima S, Umemura S. *Association of essential hypertension in elderly Japanese with I/D polymorphism of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene. J Hum Genet* 2000;45:294-8.
  - 25) Tamaki S, Nakamura Y, Tsujita Y, Nozaki A, Amamoto K, Kadowaki T, Kita Y, Okamura T, Iwai N, Kinoshita M, Ueshima H. *Polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and blood pressure in a Japanese general population (the Shigaraki Study). Hypertens Res* 2002;25: 843-8.
  - 26) Rotimi C, Puras A, Cooper R, McFarlane-Anderson N, Forrester T, Ogunbiyi O, Morrison L, Ward R. *Polymorphisms of rennin-angiotensin genes among Nigerians, Jamaicans, and African Americans. Hypertension* 1996;27:558-63.
  - 27) Castellano M, Glorioso N, Cusi D, Sarzani R, Fabris B, Opocher G, Zoccali C, Golin R, Veglio F, Volpe M, Mantero F, Fallo F, Rossi GP, Barlassina C, Tizzoni L, Filigheddu F, Giacche M, Rossi F. *Genetic polymorphism of the rennin-angiotensin-aldosterone system and arterial hypertension in the Italian population: the GENIPER Project. J Hypertens* 2003;21:1853-60.
  - 28) Wang JG, Liu L, Zagato L, Xie J, Fagard R, Jin K, Wang J, Li Y, Bianchi G, Staessen JA, Liu L. *Blood pressure in relation to three candidate genes in a Chinese population. J Hypertens* 2004;22:937-44.
  - 29) Vargas-Alarcon G, Hernandez-Pacheco G, Rodriguez-Perez JM, Perez-Hernandez N, Pavon Z, Fragoso JM, Juarez-Cedillo T, Villarreal-Garza C, Granados J. *Angiotensin-converting enzyme gene (ACE) insertion/deletion polymorphism in Mexican populations. Hum Biol* 2003;75:889-96.
  - 30) de Baker G, de Bacquer D, Kornitzer M. *Epidemiological aspects of high density lipoprotein cholesterol. Atherosclerosis* 1998;137 (Suppl):S1-6.