

한국인의 ACE(Angiotensin-converting Enzyme) 유전자의 다형성과 뇌혈관 질환과의 관계에 대한 연구

이진우 · 이경진¹ · 노삼웅 · 김재종² · 배형섭¹ · 홍무창 · 신민규 · 김영석¹ · 배현수*

경희대학교 한의과대학 생리학교실, 1: 경희대학교 한의과대학 심계내과학교실, 2: Genotech Co.

Angiotensin-converting Enzyme Gene Polymorphism and Cerebrovascular Disease in Korean population

Jin Woo Lee, Kyung Jin Lee¹, Sam Woong Rho, Jae Jong Kim², Hyung Sup Bae¹, Moo Chang Hong, Min Kyu Shin, Young Suk Kim¹, Hyun Su Bae*

Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Kyunghee University.

1: Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunghee University. 2: Genotech Co.

Angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphism, which consists of presence (insertion, I) or absence (deletion, D) of a 250-bp fragment, is associated with ischemic heart disease, renovascular disease, systemic lupus erythematosus. Subjects with the DD genotype have higher levels of circulating ACE than subjects with the II genotype and show an increased tendency towards vascular wall thickness and contribute to the development of vascular disease. But the association between I/D polymorphism of the ACE gene and cerebrovascular disease is still controversial. The aim of this study was to determine whether the DNA polymorphism of the ACE are associated with cerebrovascular disease in Korean population. The study group comprised 377 Korean patients admitted to Kyunghee Oriental Medical Center in the year of 2000 for the treatment of brain infarction or brain hemorrhage. Magnetic resonance imaging(MRI) was performed for each patient to determine the stroke phenotype, infarction or hemorrhage. The 183 subjects without evidence of brain infarction or brain hemorrhage were selected from the some ethnical population(control group). Venous blood samples were drawn from each subject for the extraction of DNA. Genotypes of ACE were determined by polymerase chain reaction amplification of the genomic DNA. Case and control genotype frequencies were compared by chi-square testing. Both the patients and the controls were classified respectively into 4 groups: age less than forty years, age forty one to fifty, age fifty one to sixty, age greater than sixty years. There were no significant differences in the distributions of ACE genotypes among the patients with infarction, with hemorrhage and controls (Infarction: D/D 15.8%, I/D 46.7%, I/I 37.5%, Hemorrhage: D/D 15.1%, I/D 46.5%, I/I 38.4%, Control: D/D 18.6%, I/D 50.3%, I/I 31.2%). There was a significant difference in the distribution of ACE genotypes between the age greater than sixty year subgroup of patient with brain hemorrhage and the control (Hemorrhage: D/D 0%, I/D 55.6%, I/I 44.4%, Control: D/D 13.0%, I/D 63.0%, I/I 23.9%; Pearson Chi-Square value 5.956, P<0.05). Furthermore, the frequency of the ACE D/D type declined with increasing age both in the patient and control group (Patient group: age < 50 D/D 21.5%, age > 50 D/D 14.42%; Control group: age < 50 D/D 21.0%, age > 50 D/D 14.2%). In conclusion there is no clear association between ACE polymorphism and cerebrovascular disease in Korean population. Although, there was a tendency for the frequency of the ACE D/D type declined with increasing age in both patients and controls.

Key words : Angiotensin-converting enzyme(ACE), Polymorphism, Cerebrovascular disease(CVA), Stroke, Korean.

서론

* 교신저자 : 배현수, 서울 동대문구 회기동 1 경희대학교 한의과대학

E-mail : hbae@khu.ac.kr Tel : 02-961-0323

· 접수: 2002/06/03 · 수정: 2001/07/06 · 채택 : 2002/08/02

뇌경색과 뇌출혈로 대표할 수 있는 뇌혈관질환은 한의학의 증풍과 매우 유사한 질환으로 갑작스런 의식장애, 운동장애 및

언어장애 등의 증상이 나타난다. 뇌혈관질환은 단일질환으로서 사망원인 1위를 차지하고 있으며 평균수명의 연장, 노인 인구의 증가 및 운동 부족 등으로 점점 증가되고 있는 추세이며 이로 인해 많은 연구들이 이루어지고 있다.

한의학적으로는 病態에 따라서 中絡, 中經, 中腑, 中臟으로 구분되며, 症候에 따라 半身不隨者는 偏枯, 身無痛而四肢不舉者는 風痺, 卒中或人事不省者는 風懿, 諸痺類風狀은 風痺로 구분한다. 증풍의 원인으로는 內風說, 火熱說, 濕痰說, 瘀血說, 虛說 등의 다섯 가지로 요약되고 있다.¹⁾ 서양의학에서도 뇌혈관질환에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 이중 특정 유전자의 Polymorphism과의 관련성에 대하여 집중적인 연구가 이루어지고 있다. 인간을 구성하는 수많은 유전자 중 Angiotensin-converting Enzyme(ACE), Apolipoprotein E (ApoE), G protein-beta3 (Gβ3) 등의 유전자가 뇌혈관질환의 발병과 관련이 있을 것으로 추정하고 있다. 이중 ACE 유전자는 angiotensin I을 가수분해하여 혈관수축작용을 나타내는 angiotensin II를 생성하며, 혈관확장제로 작용하는 bradykinin의 활성을 저하시키는 역할을 하는 ACE의 혈중농도를 조절한다. ACE 유전자의 표현형은 250 base pair fragment의 유무에 따라 D allele과 I allele로 나눌 수 있으며 DD type의 ACE 유전자를 가지고 있는 사람의 경우 II type에 비해 혈중 ACE농도가 높아지게 되고, 이로 인하여 혈관수축에 의한 혈압상승이 일어나고 혈관벽이 두꺼워지는 등 여러 가지 심혈관질환을 일으킬 수 있는 요인이 된다고 알려져 있다.²⁾ 뇌혈관질환의 위험인자로 고혈압 및 동맥경화 등이 알려져 있는 등 ACE유전자와 뇌혈관질환과의 상관관계는 충분한 관련 근거가 있음에도 불구하고 우리나라에서는 아직 심도 있게 연구되지 않았다. 또한 세계적으로도 수많은 역학적 연구가 이루어져 있으나, 민족 및 조사대상에 따라서 뇌혈관질환과 관련이 있다는 보고^{3,4)}와 관련이 없다는 보고^{5,6)}가 동시에 발표되고 있다.

이에 본 연구는 2000년 경희의료원에 입원한 377명의 환자군과 연구에 자발적으로 참여한 183명의 건강한 대조군을 대상으로 한국인에 있어 ACE유전자의 다형성과 뇌출혈 및 뇌경색 등 뇌혈관질환과의 관련성을 밝히려고 한다.

대상 및 방법

1. 연구대상

환자군으로는 2000년 3월 1일부터 2000년 12월 31일까지 경희의료원 한방병원 2내과 병동에 입원한 환자로서 Brain MRI 또는 Brain CT 상 뇌졸중으로 진단된 환자 377명을 대상으로 하였다. 환자군은 다시 뇌졸중의 종류에 따라 뇌경색, 뇌출혈의 2군으로 나누어 분석하였고, 대조군으로는 2000년 제2회 한의학회제박람회와 관람 온 관람객중 유전자 검사를 희망하는 183명의 건강한 일반인을 대상으로 하였다.

2. 연구방법

1) DNA 분리

DNA는 Lahiri등⁷⁾이 사용한 방법을 응용하여 말초정맥혈에

서 분리하였다. 즉, 2ml Microtube에 1ml의 정맥혈을 넣고 TKM1 buffer 1ml, 25ul의 NP-40을 넣어 cell을 lyse한다. TKM1 buffer로 wash한 후 TKM2 buffer 160ul, 10% SDS 10ul를 넣고 55℃에서 10분간 배양한다. 60ul의 6M NaCl을 첨가하여 protein을 침전시킨 후 상청액에 1ml의 100% ethanol로 DNA를 침전시킨 후 70% ethanol로 DNA를 wash하여 DNA를 얻어 Tris-EDTA buffer에 보관하여 사용하였다.

* <TKM1> buffer의 조성

10mM Tris-HCl pH 7.6, 10mM KCl, 10mM MgCl₂, 2mM EDTA

* <TKM2> bufer의 조성

10mM Tris-HCl pH7.6, 10mM KCl, 10mM MgCl₂, 0.4M NaCl, 2mM EDTA

2) PCR reaction

분리된 DNA, PCR master mix (Genotech Co., Daejun, Korea), ACE primer Set (Genotech Co., Daejun, Korea)을 이용하여, 다음과 같은 조건에서 PCR하였다. 94℃에서 10분간 denaturation한 후 94℃ 40초, 61℃ 40초, 72℃ 40초의 반응을 35cycle 실시하고 마지막으로 72℃에서 10분간 배양하였다. PCR 반응액은 Tris-acetate-EDTA(TAE) buffer 에서 2% agarose gel로 100 Volt, 30분간 전기영동하고 ethidium bromide로 staining한 후 Gel Doc Gel-Doc system (Photodoc system, Bio-Rad co. USA)을 사용하여 type을 구분하였다.

본 연구에서 사용한 primer로 PCR 반응을 실시하면 D allele은 235bp에서 I allele은 153bp와 523bp에서 band가 관찰되므로 235bp의 band만 관찰되면 D/D type (homozygote), 153bp와 523bp의 band가 모두 관찰되면 I/I type (homozygote), 153bp 235bp 523bp의 band가 모두 관찰되면 I/D type (heterozygote)이다.

3. 통계처리

데이터는 통계프로그램 SPSS for windows (ver 10.1, SPSS Inc., USA)을 사용하여 Chi-square test 및 independent sample t-test를 실시하였다. 통계는 양측검증을 하였고 유의수준은 P-value < 0.05로 하였다.

결 과

1. 환자군 및 대조군의 일반적 특징

환자군은 총 377명이며 성별은 남자 204명 여자 173명, 평균연령은 54.87±7.76세였다. 연령별로는 40세 이하 19명, 41-50세 62명, 51-60세 159명, 60세 이상 137명이었다. 환자군중 뇌경색군은 총 291명이며 성별은 남자 152명 여자 139명, 평균연령은 56.36±7.32세였다. 연령별로는 40세 이하 12명, 41-50세 47명, 51-60세 122명, 60세 이상 110명이었다. 환자군중 뇌출혈군은 총 86명이며 성별은 남자 52명 여자 34명, 평균연령은 54.87±9.01세였다. 연령별로는 40세 이하 7명, 41-50세 15명, 51-60세 37명, 60세 이상 27명이었다.

대조군은 총 183명이며 성별은 남자 79명 여자 104명, 평균연령은 50.98±12.51세였다. 연령별로는 40세 이하 38명, 41-50세 41명, 51-60세 57명, 60세 이상 47명이었다. (Table 1)

Table 1. General Characteristics of Patients (with Brain Infarction or with Brain Hemorrhage) and Controls.

Group	Patients			Control	
	infarction	Hemorrhage	Total		
n	291	86	377	183	
Sex(male/female)	152/139	52/34	204/173	79/104	
Age	<40	12	7	19	38
	41-50	47	15	62	41
	51-60	122	37	159	57
	>60	110	27	137	47
Mean age	56.36±7.32	54.87±9.01	56.00±7.76	50.98±12.51	

2. 환자군과 대조군의 ACE 유전자 type.

ACE 유전자는 250 base pair fragment의 유무에 따라 D allele과 I allele로 나눌수 있으며 본 연구에서 사용한 primer를 이용 연쇄중합반응을 시행한 후 분석하면 D allele은 235bp에서 I allele은 153bp와 523bp에서 특정 band가 관찰된다. 따라서 235bp의 band만 관찰되면 D/D type(homozygote), 153bp와 523bp의 band가 모두 관찰되면 I/I type(homozygote), 153bp 234bp 523bp의 band가 모두 관찰되면 I/D type (heterozygote)이다. (Fig.1)

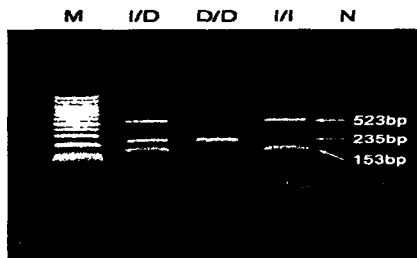


Fig 1. Detection of ACE polymorphism in pheripheral blood from i individuals with D/D, I/D, or I/I genotype. Displayed is a representative res ult. M, 100bp DNA Marker (Invitrogen, Life technologies, USA)

ACE 유전자 분석결과 환자군 총 377명의 ACE 유전자의 polymorphism은 D/D type 59명(15.6%), I/D type 176명 (46.7%), I/I type 142명(37.7%)으로 대조군의 polymorphism D/D type 32명(17.5%), I/D type 85명(46.4%), I/I type 66명 (36.1%)과 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다.(Chi-square test, Pearson Chi-Square value: 2.441, Sig. 0.295)

환자군을 다시 뇌출혈군과 뇌경색군으로 나누어 분석한 결과 뇌출혈군은 D/D type 13명(15.1%), I/D type 40명(46.5%), I/I type 33명(38.4%)으로 대조군과 유의성있는 차이가 나타나지 않았으며((Chi-square test, Pearson Chi-Square value: 1.483, Sig. 0.476), 뇌경색군에 있어서도 D/D type 46명(15.8%), I/D type 136명(46.7%), I/I type 109명(37.5%)로 대조군과 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다. (Chi-square test, Pearson Chi-Square value: 2.081, Sig. 0.353) (Table 2.)

Table 2. Frequencies of ACE genotypes in patient group and Control group.

Group	Patients						Control	
	infarction		Hemorrhage		Total		number	%
ACE genotype	number	%	number	%	number	%	number	%
D/D	46	15.8	13	15.1	59	15.6	32	17.5
I/D	136	46.7	40	46.5	176	46.7	85	46.4
I/I	109	37.5	33	38.4	142	37.7	66	36.1

Result of Chi-square test is as follows. Patients vs. Control : Pearson Chi-Square value 2.441, Sig. 0.295, Brain Infarction vs. Control: Pearson Chi-Square value 2.081, Sig. 0.353, Brain Hemorrhage vs. Control: Pearson Chi-Square value 1.483, Sig. 0.476

3. 연령에 따른 ACE 유전자의 polymorphism.

연령에 따른 ACE 유전자의 polymorphism은 표와 같다. (Table 3).

Table 3. Age-Dependent Change of the ACE gene polymorphism.

		AGE*		
		D/D	I/D	I/I
<40	Infarc.	3 (25.0)	5 (41.6)	4 (33.3)
	Hemo.	1 (14.3)	5 (71.4)	1 (14.3)
	Cont.	9 (23.7)	15 (39.5)	14 (36.8)
41-50	Infarc.	8 (17.0)	23 (48.9)	16 (34.0)
	Hemo.	5 (33.3)	6 (40.0)	4 (26.7)
	Cont.	8 (19.5)	20 (48.8)	13 (31.7)
51-60	Infarc.	15 (12.3)	53 (43.4)	54 (44.3)
	Hemo.	7 (18.9)	14 (37.8)	16 (43.2)
	Cont.	11 (19.3)	28 (49.1)	18 (31.6)
>60	Infarc.	20 (18.2)	55 (50.0)	35 (31.8)
	Hemo.	0 (0)	15 (55.6)	12 (44.4)
	Cont.	4 (8.5)	22 (46.8)	21 (44.7)

Absolute values of the subjects with ACE genotype are shown, with percentages in pare ntheses. * Age, onset age: Infarc, Patients with brain infarction. Hemo, Patients with brai n hemorrhage. Cont, Controls.

연령을 40세이하, 41세-50세, 51세-60세, 61세 이상의 4군으로 나누고 각각의 연령군에 대해 ACE 유전자의 polymorphism을 분석하였으나 환자군(뇌출혈군, 뇌경색군)과 대조군 모두 통계적으로 유의성 있는 결과를 얻지는 못하였다.(Fig. 2) 다만 50세 이하에서는 환자군 및 대조군의 D/D type의 비율이 각각 21%, 21.5이던 것이 50세 이상에서는 환자군 및 대조군의 D/D type의 비율이 각각 14.0%, 14.5%로 감소였으며(Fig. 3), 특히 60세 이상의 뇌출혈혈에서는 D/D type이 단 한건도 관찰되지 않았다.

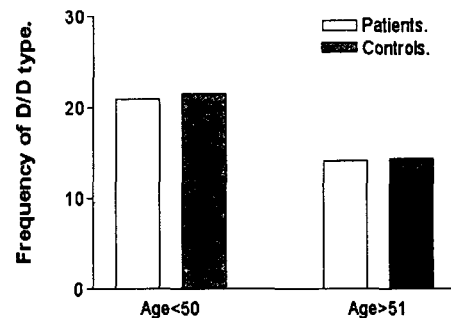


Fig 2. Age-Dependent Change of the ACE gene D/D type freque ncy. Frequencies of the D/D genotypes were not significantly different in two age sub groups. The results of the chi-square test is as follows, Patients: Pearson Chi-Square val ue 3.193, Sig. 0.203, Controls: Pearson Chi-Square value 2.042, Sig. 0.360

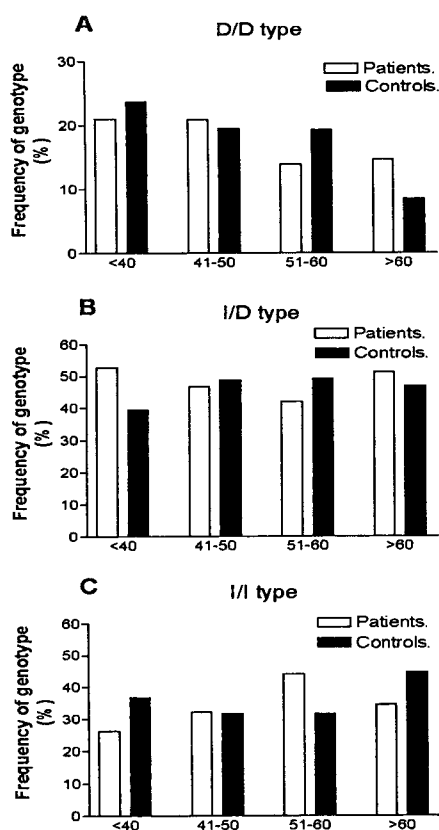


Fig 3. ACE genotype frequency among Age subgroups. No significant differences were detected among the age subgroups.

고찰

중풍은 갑작스런 의식장애, 운동장애, 언어장애 등의 증상이 나타나는 병증으로서 서양의학에서 이러한 증상이 나타나는 대표적 질환은 뇌졸중이다. 한의학적으로는 病態에 따라서 中絡, 中經, 中腑, 中臟으로 구분되며, 症候에 따라 半身不隨者是 偏枯, 身無痛而四肢不舉者是 風痹, 卒中或人事不省者是 風懿, 諸痺類風狀은 風痺로 구분한다. 중풍의 원인으로는 內風設, 火熱設, 濕痰設, 瘀血設, 虛說 등의 다섯 가지로 요약되고 있다.¹⁾ 한편 분자생물학적 기법이 분자생물학 연구자만의 영역에서 벗어나서 일반과학의 보편적인 기술로 자리잡아감에 따라 의료분야에 있어서도 유전학적 연구를 통한 질병의 예측, 진단 및 치료에 대한 연구가 광범위하게 진행되고 있다. 이들 중 Angiotensin-converting Enzyme(ACE), Apolipoprotein E (ApoE), G protein-beta3 (Gβ3) 등의 유전자가 뇌혈관질환의 발병과 관련이 있을 것으로 추정되고 있다. 그 중에서도 ACE 유전자는 Cambien⁸⁾이 Nature지에 ACE 유전자의 D/D type이 허혈성 심장질환의 잠재적 위험인자임을 경고한 이후 주목받기 시작하여 이후로 수많은 연구가 진행되었다. 특히 관상동맥질환과 심근경색에 관한 연구가 활발히 진행되어 ACE D/D type이 관상동맥 질환과 심근경색을 유발시킬 수 있는 위험인자임이 많은 논문에서 발표되어지고 있다.⁹⁾ 이들 역학적 연구 외에도 ACE 유전자는, angiotensin I을 가수분해하여 혈관수축작용을 나타내는 angiotensin II를 생성하며 혈관확장

제로 작용하는 bradykinin의 활성을 저하시키는 역할을 하는 ACE의 혈중농도를 조절하는 역할을 한다. ACE 유전자의 표현형은 250 base pair fragment의 유무에 따라 D allele과 I allele로 나눌 수 있으며 DD type의 ACE유전자를 가지고 있는 사람의 경우 II type에 비해 혈중 ACE농도가 높아지고, 이로 인하여 혈관수축작용에 의한 혈압상승 및 혈관벽이 두꺼워지는 등 여러 가지 심혈관질환을 유발할 수 있는 기전을 가지고 있다.²⁾ 중풍 등 뇌혈관질환의 위험인자는 여러 가지가 있는데, 고혈압, 고지혈증, 심장질환, 당뇨, 일과성 뇌허혈발작 등이 대표적인 위험인자로 알려져 있다. 이들 중 고혈압과 고콜레스테롤혈증은 흡연과 함께 동맥경화를 유발시키는 주요위험인자 중의 하나로 뇌졸중을 유발시킬 수 있는 강력한 독립적인 위험인자라고 언급한 연구도 발표되었다.¹⁰⁾ 이렇듯 ACE유전자와 뇌혈관질환과의 상관관계는 충분한 관련 근거가 있음에도 불구하고 우리나라에서는 아직 심도 있게 연구되지 않았다. 국내에서도 ACE 유전자다형성의 분포에 관한 연구가 있었으나¹¹⁾ 대상자가 건강한 사람에 한정되어 있었으며 뇌혈관질환과의 상관성에 관한 연구는 없었다. 또한 세계적으로도 역학적 연구가 이루어지고 있으나, 민족에 따라 뇌혈관질환과 관련이 있다는 보고^{12,13)}와 관련이 없다는 보고^{14,15)}가 동시에 보고되고 있다. 즉 ACE 유전형과 뇌혈관질환과의 관계는 연구대상에 따라 크게 차이가 나며, 이는 연구집단의 유전적 다양성 때문으로 생각된다. 본 연구결과 한국인에 있어 ACE gene의 polymorphism은 환자군과 대조군 모두 D/D<I/I<I/D 순서이며 D/D type이 정상인군 및 환자군에 있어 모두 15.1%-17.5로 유의한 차이가 나타나지 않았다. 이 결과는 최 등이 1998년에 정상인 675명을 조사하여 얻은 결과 17.2%와도 거의 일치하고 있다.¹¹⁾

상기의 결과로 한국인에 있어 ACE gene의 polymorphism과 뇌경색 및 뇌출혈의 발생은 큰 상관관계가 없음을 알 수 있다. 본 연구에서 특이하게 관찰된 점은 환자군 및 대조군 모두에서 연령이 증가할수록 D/D type의 비율이 감소한다는 것이다. 50세 이하에서는 D/D type이 환자군과 대조군에서 각각 21.0%와 21.5%를 차지하던 것이 50세 이상에서는 각각 14.2%, 14.4%로 감소하고 있다. 본 교실에서 20대 정상인 98명을 대상으로 연구한 미발표 된 자료에 의하면 D/D type의 비율이 35.2%로 위의 연구 결과에 비해 월등히 높음을 알 수 있다. 이와 같은 연령 증가에 따른 D/D type의 감소는 호주와 일본의 연구결과에서도 보고되고 있다.^{16,17)} ACE D/D type이 중풍의 발병률과는 직접적인 관계가 관찰되지 않았으나, 연령의 증가에 따른 D/D type의 감소는, 상기 유전자가 중풍 이외의 질병 또는 인간의 수명을 조절하는 인자와 관계되었음을 의미한다. 다만 본 연구의 환자군의 경우 경희의료원 한방병원의 입원환자 특성상 중풍 초기의 급성기를 지나 평균 발병 후 2주 이상 된 환자로 구성된 실험군의 특성을 고려할 때, ACE D/D type의 경우 중풍 발병 초기의 사망률 증가로 인한 중풍환자의 D/D type 감소를 배제할 수 없으며, ACE genotype과 중풍 초기 사망률의 관계를 연구하는 후속 연구가 이루어져야 할 것으로 생각되며, 이외에 중풍이외의 질병과의 관계에 대한 연구 및 인간의 수명과 ACE genotype과의 관계 등에 대한 후속연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결 과

고혈압 및 심혈관 질환의 위험인자로 알려진 ACE 유전자와 뇌출혈 및 뇌경색과의 관계를 연구한 결과 한국인에 있어 뇌경색 및 뇌출혈 환자군과 정상인군과의 ACE 유전자형의 분포는 유의 상이는 차이가 나타나지 않았으므로 한국인에 있어 ACE 유전자형과 뇌출혈 및 뇌경색과의 관계는 크지 않다고 하겠다. 그러나 환자군과 정상인군 모두 연령이 증가함에 따라 ACE D/D type의 비율이 감소하는 결과가 나타났으며 이는 ACE 유전자가 뇌혈관 질환이외의 질병과 관계가 있거나 인간의 수명에 관계됨을 의미하므로 이를 분석하기 위한 후속연구가 이루어져야 하겠다.

감사의 글

이 연구는 2000년도 경희대학교 연구비 지원에 의한 결과임. 본 연구 수행을 성심 성의껏 도와준 최미영, 이효정 선생에게 깊은 감사의 마음을 전합니다.

참고문헌

- 김영석, 임상중풍학, pp. 303-308, pp. 317-329, 서원당, 서울, 1997,
- 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.* 51: 197-205, 1992.
- Markus HS, Barley J, Lunt R, Bland JM, Jeffery S, Carter ND, Brown MM., Angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism. A new risk factor for lacunar stroke but not carotid atheroma, *Stroke* 26(8):1329-33, 1995.
- Ueda S, Weir CJ, Inglis GC, Murray GD, Muir KW, Lees KR., Lack of association between angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and stroke, *J Hypertens* 13(12Pt2):1597-601, 1995.
- Sharma P, Carter ND, Barley J, Brown MM., Molecular approach to assessing the genetic risk of cerebral infarction: deletion polymorphism in the gene encoding angiotensin 1-converting enzyme, *J Hum Hypertens.* 8(8):645-8, 1994.
- Lin JJ, Yueh KC, Lin GY, Chang DC, Chang CY, Shieh HL, Harn HJ., Lack of association between angiotensin I-converting enzyme gene deletion polymorphism and cerebrovascular disease in Taiwanese, *J Formos Med Assoc.* 99(12):895-901, 2000.
- Debomoy K.Lahiri, John I.Nurnberger, Jr., A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies, *Nucleic Acids Research* 19(19):5444, 1991.
- Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Ricard S, Tiret L, Amouyel P, Alhenc-Gelas F, Soubrier F, Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 15;359(6396):641-4, 1992.
- Cambien F, Costerousse O, Tiret L, Poirier O, Lecerf L, Gonzales MF, Evans A, Arveiler D, Cambou JP, Luc G, Rakotovo R, Ducimetiere P, Soubrier F, Alhenc-Gelas F., Plasma level and gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme in relation to myocardial infarction. *Circulation* 90(2):669-76, 1994.
- Abbott RD, Yin Y, Reed DM, Yano K., Risk of stroke in male cigarette smokers, *N Engl J Med.* 18;315(12):717-20, 1986.
- 최윤호, 이원로, 한국인에서 ACE와 ApoE 유전자다형성의 분포 및 혈중지질에 미치는 영향, *노인병* 2(1):18-26, 1998.
- Markus HS, Barley J, Lunt R, Bland JM, Jeffery S, Carter ND, Brown MM., Angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism, A new risk factor for lacunar stroke but not carotid atheroma, *Stroke* 26(8):1329-33, 1995.
- Ueda S, Weir CJ, Inglis GC, Murray GD, Muir KW, Lees KR., Lack of association between angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and stroke, *J Hypertens* 13(12Pt2):1597-601, 1995.
- Sharma P, Carter ND, Barley J, Brown MM., Molecular approach to assessing the genetic risk of cerebral infarction: deletion polymorphism in the gene encoding angiotensin 1-converting enzyme, *J Hum Hypertens.* 8(8):645-8, 1994.
- Lin JJ, Yueh KC, Lin GY, Chang DC, Chang CY, Shieh HL, Harn HJ., Lack of association between angiotensin I-converting enzyme gene deletion polymorphism and cerebrovascular disease in Taiwanese, *J Formos Med Assoc.* 99(12):895-901, 2000.
- Morris BJ, Zee RY, Schrader AP., Different frequencies of angiotensin-converting enzyme genotypes in older hypertensive individuals. *J Clin Invest.* 94(3):1085-9, 1994.
- Doi Y, Yoshinari M, Yoshizumi H, Ibayashi S, Wakisaka M, Fujishima M., Polymorphism of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene in patients with thrombotic brain infarction, *Atherosclerosis* 132(2):145-50, 1997.