

アンギオテンシン変換酵素遺伝子多型とスポーツ心臓について

前 田 雅 人・丸 山 敦 夫

(2007年10月23日 受理)

Angiotensin-converting Enzyme Gene Polymorphism and Athlete's Heart

MAEDA Masato・MARUYAMA Atsuo

要 約

目的：アンギオテンシン変換酵素（ACE）遺伝子多型が陸上中長距離走者の心臓形態と機能および持久性運動能力におよぼす影響について検討すること。

方法：被験者（21名）のgenomic DNAを抽出し、polymerase chain reaction法にてACE遺伝子第16イントロンの287塩基対の挿入／欠失（I/D）を判定、遺伝子多型（DD型、ID型、II型）を決定した。心形態、機能評価は心エコーを用い、持久性運動能力については最大酸素摂取量を測定した。

結果：被験者はDD型2名（9.5%）、ID型9名（42.9%）、II型10名（47.6%）であった。比較検討できたID型およびII型では、心エコーおよび最大酸素摂取量について有意な相違はなく、2年間のトレーニング後も変化はみられなかった。

結論：ACE遺伝子多型（ID型、II型）とスポーツ心臓および持久性運動能力に関連性を認めなかった。

キーワード：アンギオテンシン変換酵素・遺伝子多型・持久性運動能力・スポーツ心臓

I. 緒 言

長期間、激しいトレーニングを続けてきたスポーツ選手にしばしば心肥大や心拡大、心電図異常、徐脈性不整脈が生じることは良く知られており、スポーツ心臓と呼ばれている。従来これらの形態的・機能的変化はトレーニングに対する生理的適応現象としてとらえられてきており、持久性トレーニングまたは筋力トレーニングによって心筋肥大の程度に違いがあると報告されている¹⁾。しかしながらその変化の程度は多様であり、極端な心肥大、心拡大を生じる者もいる。またスポーツ活動を辞めた後もこれらの異常所見が持続する者がおり、決して予後良好とみれない一面がある。ところがスポーツ心臓に関する問題は、これまで個々の競技者の適応能力の違いとして理解されており、原因についての検討は十分になされてこなかった。

一方、高血圧や心肥大を生じる心血管系遺伝子の解明には目覚ましい進歩がみられる。特に血圧、水・電解質の調節や、心血管系細胞の機能に大きく影響しているレニン・アンギオテンシン (RA) 系に関する研究は、1950年代にその機構と概念が確立されて以来、数々の興味深い結果が報告されてきた。循環RA系については、腎臓の傍糸球体細胞から分泌されたレニンがアンギオテンシノーゲンをアンギオテンシン I に変換し、さらにアンギオテンシン変換酵素 (angiotensin-converting enzyme, 以下ACE) によってアンギオテンシン I はアンギオテンシン II に変化することがわかっている。このアンギオテンシン II には血管収縮作用と副腎皮質からのアルドステロン分泌促進作用があり、最終的に血液量の増加と血圧の上昇がもたらされる。また組織特異的に作動している組織RA系の重要性も指摘されており、動物実験では心臓のACE活性が心筋肥大と関連していると報告されている²⁾。この心筋肥大という観点から我々はスポーツ心臓とRA系の関わりに注目し、特にACE遺伝子に興味を持った。近年の分子生物学手法によってACE遺伝子については、第16イントロンにおいて287塩基対の挿入／欠失 (insertion/deletion; I/D) があり、ヒトはDD型、ID型、II型のいずれかを示すこと、またこの遺伝子多型のうち特にDD型が心肥大や虚血性心疾患と関連していることが報告されている^{3) 4)}。さらに心疾患だけでなく、健康人のトレーニングによって生じる心肥大についても関連がみられ、Montgomery ら⁵⁾ は若手軍兵士の10週間の訓練後にDD型およびID型にII型と比べて明らかな心肥大が認められたことを報告している。Myerson ら⁶⁾ も軍隊の10週間訓練がDD型にコントロール群よりも2.4倍の心肥大が起こったことを報告している。

では、スポーツ選手ではどうであろうか。Kasikcioglu ら⁷⁾ は白人レスラーを対象に調べ、筋力トレーニングを継続しているDD型の選手ではID型、II型よりも心筋重量が有意に増加していることを報告している。また長距離走者や水泳選手および自転車競技者といった持久性運動を継続している選手についても、Hernandez ら⁸⁾ はDD型がID型、II型よりも心肥大が明らかであることを報告している。日本ではACE遺伝子多型とスポーツ心臓の関連を調べた研究は少ないが、Nagashima ら⁹⁾ は100kmウルトラマラソン選手を対象に検討し、これまでの結果と同じようにDD型およびID型の選手にI型よりも有意に心肥大が認められることを報告している。

ACE遺伝子多型のI型については、Gayagay ら¹⁰⁾ が漕艇選手に多くみられることを明らかにし、I型が持久性運動能力と関連があることを述べている。Myerson ら¹¹⁾ も陸上トラック競技者では走行距離が長いほどI型が多いことを報告し、I型と持久性パフォーマンスが注目されるようになってきた。ところが、Taylor ら¹²⁾ はエリート選手を対象とした研究結果から、I型は持久性運動能力と関連はないとこれまでの論文と相反する結論を導いている。また河野¹³⁾ の日本の大学生ランナーを対象とした研究でも、I型の選手に心筋重量の増加や心拡大がみられ、DD型の心容積は小さい傾向にあるものの、持久性運動能力を直接反映する因子ではないと述べている。従って、未だACE遺伝子多型とスポーツ心臓に関して一定の結論が得られていない。本研究ではACE遺伝子多型が陸上中長距離走者の心臓形態と機能および持久性運動能力に如何なる影響をおよぼすかについて明らかにすることを目的とする。

II. 研究方法

1. 被験者

本研究の被験者は本学陸上部に所属し、日頃から持久性トレーニングを継続している男子中距離走および長距離走者の21名である。

遺伝子解析については、被験者に本研究の内容を十分に説明した後、同意を文書によって表明してもらった。さらに被験者および関係者の人権および利益の保護のために十分に配慮し、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成13年3月29日文部科学省・厚生労働省・経済産業省共同告示第1号) を遵守した。

2. アンギオテンシン変換酵素 (ACE) 遺伝子多型の解析

被験者の血液を一般末血検査用抗凝固剤 (EDTA) 入りベノジェクト真空採血管 2ml (テルモ社製) にて2本採血した。採血後、市販されているQIAGEN社製Blood and Cell Culture DNA Kitを用いて、3.5mlの血液 (真空採血管2本分) から約70~100ugのgenomic DNAを抽出し、最終的に200ulのTE (pH8.0) に溶解した。得られた血液サンプルおよびgenomic DNAは-30℃の冷凍庫に保管した。

次にACE遺伝子多型の解析のために被験者のgenomic DNAを用いて、polymerase chain reaction (PCR) 法を行った。具体的には200ngのgenomic DNAを10×PCR buffer (100mM Tris-HCl (pH8.3), 500mM KCl) 5ul, 2.5mM dNTP mixture 4ul, 25mM MgCl₂ 3ul, プライマー0.4uMに加え、さらにTaKaRa社製Taq DNA polymerase 0.5ulを加え、滅菌蒸留水にて総量50ulに調節した。プライマーはMaruyama ら¹⁴⁾ の文献に従い、sense primerとして5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTCT -3'を用い、antisense primerとして5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3'を用いた。このプライマーセットを用いた場合、ACE

遺伝子のイントロン16の287塩基対が欠失しているdeletion type (以下D型)であれば, 190bpのPCR産物が生成され, 欠失していないinsertion type (以下I型)なら490bpの産物が生成される。PCR反応の条件としてはpre-heat 94℃ 2.5min施行後, denature 94℃ 1min, anneal 58℃ 1min, extension 72℃ 2minのサイクルを30回繰り返した。PCR反応後は, PCR産物10ulにloading buffer 2ulを加え, ethidium bromideを加えた2%アガロースゲルのウェルに滴下し, 小型泳動装置 (ミュージッド2, コスモバイオ社製) を用いて, 100volt 40分の電気泳動を行った。泳動終了後はゲルを取りだし, UVサンプル撮影装置 (FAS-III, 東洋紡社製) にて画像を撮影した。泳動の際のMarkerとしてはφX174-HaeIII digest 1ulを用いた。電気泳動の結果, 濃い190bpのバンドのみを示した場合はDD型, 190bpと490bpの2つのバンドを示した場合はID型, 濃い490bpのバンドのみを示した場合はII型に区分した。図1にDD型, ID型およびII型の泳動例を示す。

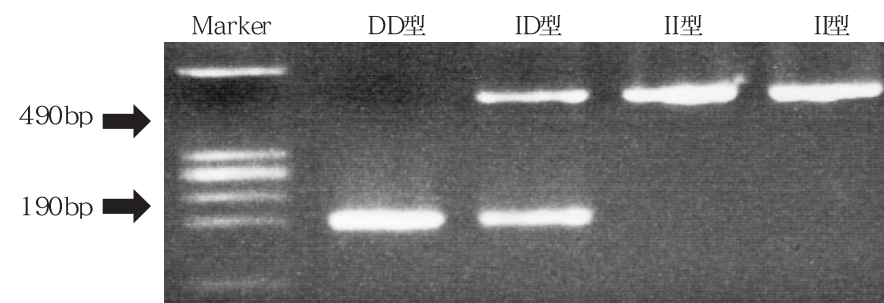


図1 ACE遺伝子多型

3. 心エコーによる心臓の形態, 機能評価

心エコーは, 日立社製セクタ電子走査型超音波断層装置 (EUB-165型) を用いて, 被験者を左半側臥位の姿勢にさせ, 胸骨左縁第3~4肋骨より2.5MHzの探触子をあて, Bモード法で胸骨左縁長軸断面像と短軸断面像を撮影した。その後, 撮影方法をMモードに変えて, 形態的評価として①左室拡張末期径 (LVDd), ②左室収縮末期径 (LVDs), ③左室中隔厚 (IVSth), ④左室後壁厚 (LVPWth) を測定した。またこれらの測定値を元に⑤左室心筋重量 (LV mass) を算出し, 体表面積にて左室心筋重量を補正することで⑥LV mass index (LVMI) を求めた。

$$LV\ mass\ (g) = 1.04 \left([LVDd + IVSth + LVPWth]^3 - [LVDd]^3 \right) - 13.6 \quad (15)$$

さらに機能的評価として⑦心拍数 (HR) ⑧左室駆出率 (EF) を測定した。

4. 持久性運動能力の評価

長距離走者のトレーニングによる持久性運動能力を調べるために, モナーク社製自転車エルゴメーターおよび自動呼気ガス分析器 (Mijnhardt b.v.社製Oxycon α) を用い, 最大酸素摂取量 ($\dot{V}O_{2max}$)

を測定した。具体的には被験者にガス測定用マスクを付けてもらい, 安静5分の後に, 0kp負荷2分, その後1分毎に0.5kpずつ負荷を増やす漸増負荷法を行った。負荷終了の判断は, 負荷の増大ないし時間の経過にも関わらず酸素摂取量が一定となった時点とした。得られた結果は, コンピューターの計算ソフト (Microsoft Excel) を用いて解析した。

5. 長期間トレーニング後の心形態, 機能の評価

継続的なトレーニングによるスポーツ心臓の変化を検討するため, 2年後に再び同じ被験者を対象として心エコーにて心形態 (LVDd, LVMI) および心機能 (HR, EF) の評価を行った。

6. 統計解析

2群間のデータ比較については, 統計ソフトSPSS11.5J for Windowsを用いて対応のないt検定を行い, また長期間トレーニング前後のデータ解析では, それぞれの被験者について対応のあるt検定を行い, いずれも危険率5%以下を有意水準とした。

III. 結 果

1. ACE遺伝子多型について

被験者21名のPCR解析の結果, ACE遺伝子多型についてはDD型が2名 (9.5%), ID型が9名 (42.9%), II型が10名 (47.6%) であった。この割合はこれまでの日本人の報告^{13) 14)}に近いものであった。DD型があまりに少ないので, 統計解析はID型とII型についてのみ行った。

2. 心エコーについて

心形態の指標として測定した左室拡張末期径 (LVDd), 左室収縮末期径 (LVDs), 左室中隔厚 (IVSth), 左室後壁厚 (LVPWth), 左室心筋重量 (LV mass), LVMIのいずれもID型とII型では有意な差を見出すことはできなかった。(図2~図7) また心機能の指標として測定した心拍数 (HR) および左室駆出率 (EF) についても有意な差はみられなかった。(図8, 図9) 一方DD型は2名と少数のため一定の傾向を見出すことは難しかった。

しかし過去に調べた運動部活動をしていない大学生の心エコー測定値 (平均値) はLVDd 46.7mm, LVDs 32.7mm, IVSth 9.6mm, LVPWth 9.6mm, LV mass 194.4g, LVMI 110.7g/m², HR 65.5beats/min, EF 57.1% (未発表データ) であったので, 本研究の被験者の心エコーの測定結果は左室拡大, 左室心筋重量増加, LVMI増加, HR減少, 左室駆出率増加を示すものであった。従って持久性トレーニングはACE遺伝子多型のいずれの型にも関わらず, スポーツ心臓への変化をもたらしていた。

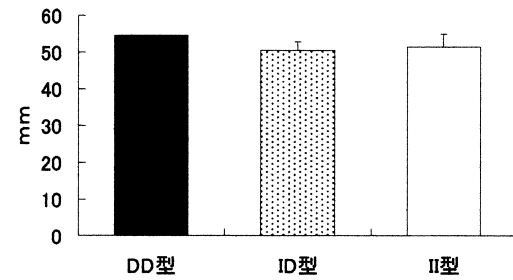


図2 左室拡張末期径

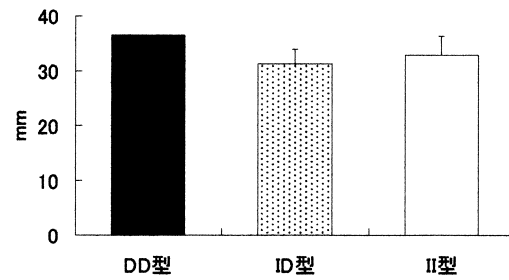


図3 左室収縮末期径

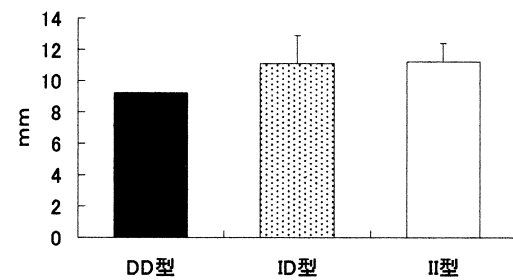


図4 心室中隔厚

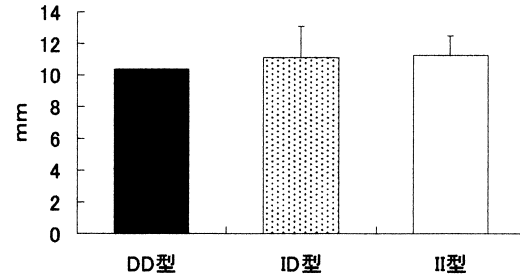


図5 左室後壁厚

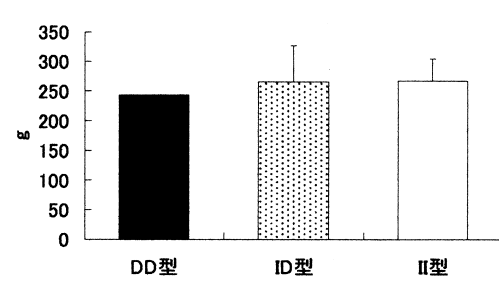


図6 左室心筋重量

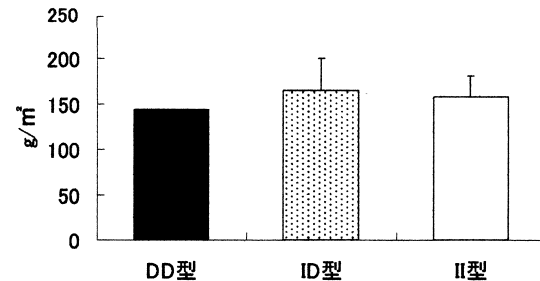


図7 LVMI

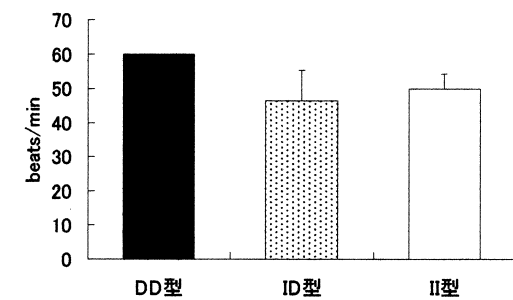


図8 心拍数

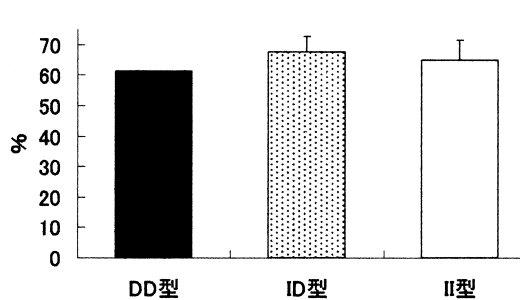


図9 左室駆出率

3. 持久性運動能力について

最大酸素摂取量 ($\dot{V}O_2\max$) の20才台男子の平均値は45.4~51.4ml/kg/minであり、被験者の測定値はいずれも高値であり、持久性トレーニングにより有酸素能力が十分に鍛えられていることが明らかであった(図10)。しかしACE遺伝子多型についてはID型とII型に有意な差を見出すことはできなかった。

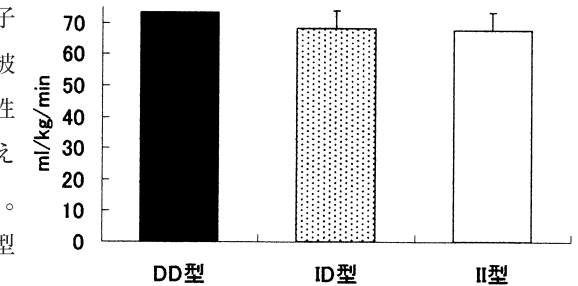
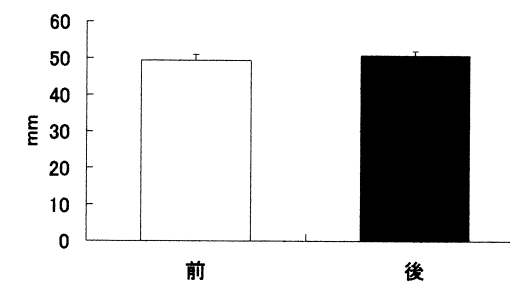


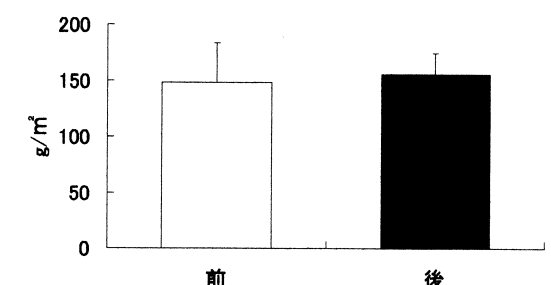
図10 最大酸素摂取量

4. 長期間トレーニング後の心形態、機能の変化について

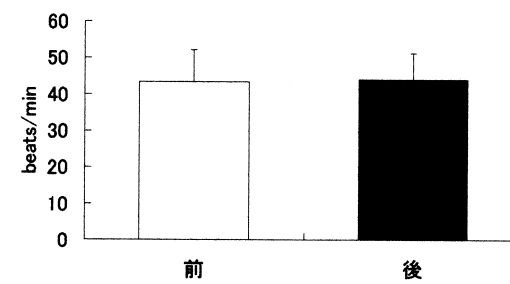
最初の測定から2年間持久性トレーニングを継続した者は、ID型5名、II型5名であった。心エコーを用いて心形態(左室拡張末期径, LVMI)および心機能(心拍数, 左室駆出率)の測定を行い、2年前の測定値との比較を行ったが、ID型(図11(A)~図11(D))およびII型(図12(A)~図12(D))のそれぞれについて、いずれも心形態、心機能に有意な変化を認めなかった。



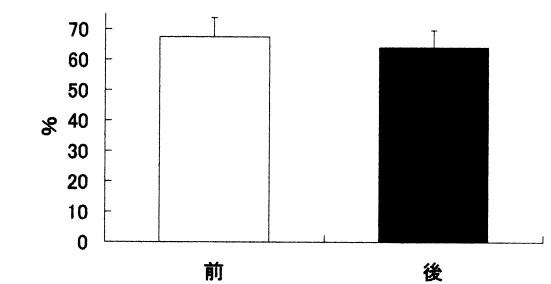
(A) 左室拡張末期径



(B) LVMI



(C) 心拍数



(D) 左室駆出率

図11 ID型の2年間トレーニング前後の心臓形態および機能変化

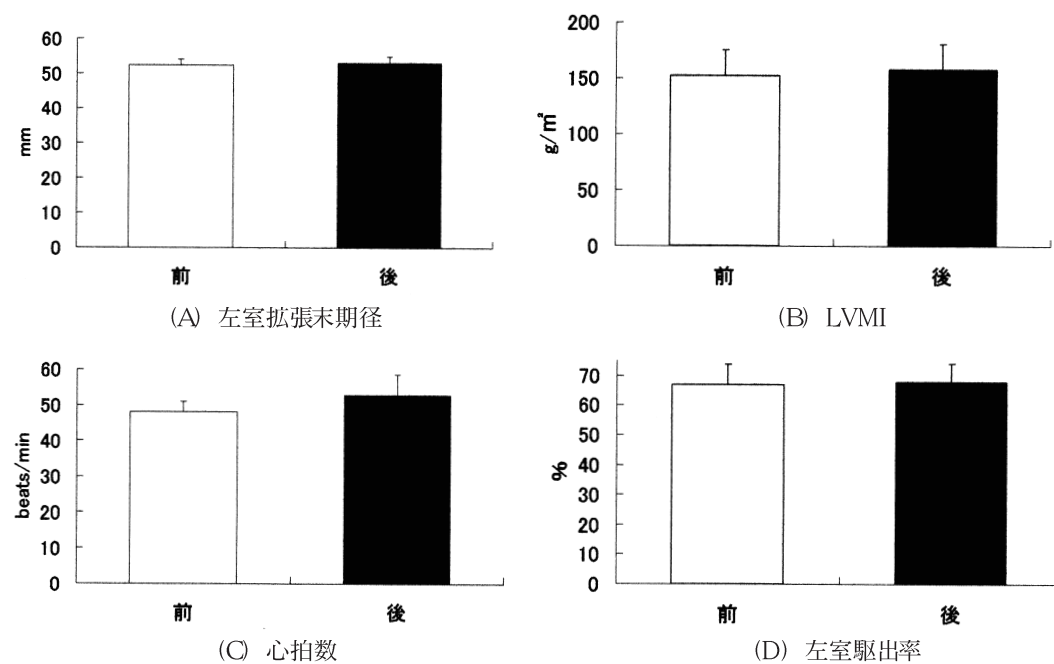


図12 II型の2年間トレーニング前後の心臓形態および機能変化

IV. 考 察

1. ACE遺伝子多型とスポーツ心臓

ACE遺伝子多型のスポーツ心臓への影響を調べたが、結果として中長距離走者ではID型およびII型の心形態、心機能、持久性運動能力に違いを見出せず、また2年間の長期トレーニング後も明らかな変化を指摘できなかった。DD型については人数が少なかったが、検討した範囲では心筋重量が他の型より増加している傾向は見られなかった。しかし、もちろん今後DD型をもっと増やさなければ、判断はむずかしい。ACE遺伝子多型の割合に関しては、Samaniら¹⁶⁾は過去の論文に用いられたコントロール群のデータをまとめ、日本人についてはDD型19%、ID型40%、II型41%、白人についてはDD型29%、ID型50%、II型22%と報告している。従って本研究にてDD型が少なかったのは、人種特性と考えることができる。

また本研究ではID型とII型の左室心筋重量に相違は見られなかったわけであるが、Montgomeryら⁵⁾は10週間トレーニングにてトレーニング前後の左室心筋重量を比較したところ、DD型とII型同様、ID型とII型にも有意差を認め、D型が明らかに心筋肥大に作用していると述べている。またNagashimaら⁹⁾もDD型とID型は左室拡張末期径および左室心筋重量がI型に比べて有意に大きく、D型がスポーツ心臓形成の独立した因子であると報告している。では、このようにDD型やID型に心

筋肥大が起こりやすいのはなぜであろうか。この理由として、ACEの酵素レベルを上げることができ、Rigatら¹⁷⁾はACE濃度がDD型>ID型>II型とACE遺伝子多型によって違いがあることを述べ、Tiretら¹⁸⁾もDD型>ID型>II型とACE活性に差があること、ただしその活性の違いが収縮期圧、拡張期圧のいずれにも作用していないことを報告している。Iwaiら¹⁹⁾も同様に、ACE遺伝子多型が血压に影響をおよぼしていないことを報告している。従ってスポーツ心臓形成において、特にD型では循環RA系を介した血压上昇による心肥大よりも、心臓の組織RA系の賦活化が心筋細胞に大きく作用し、肥大をまねく可能性が考えられる。Danserら²⁰⁾も心疾患の研究から、DD型に見られる心筋組織におけるACEの活性化がアンギオテンシンIIの増加をまねき、冠動脈疾患のリスクになると組織RA系の重要性を述べている。しかし本研究ではこれまでの報告と異なり、ID型に心肥大が見られなかった。この理由としては、トレーニング内容または競技の質に違いがあると思われる。例えばMontgomeryら⁵⁾、Myersonら⁶⁾のトレーニング内容は軍隊での10週間訓練であり、Kasikciogluら⁷⁾は筋力トレーニングを行っている。またHernandezら⁸⁾の被験者は持久性トレーニング鍛錬者といっても長距離走者だけではなく、水泳、自転車、トライアスロンと競技種目が幅広い。Nagashimaら⁹⁾の被験者も100kmウルトラマラソン競技者であり、通常の長距離走より負荷が強いと考えられる。本研究に近い競技種目での報告は河野ら¹³⁾の研究に見ることができ、彼らの結論では本研究の結果と同様に、ACE遺伝子多型に明らかな心形態、機能の変化を認めていない。また我々は2年間という長期の縦断的検討を行っており、ID型、II型について有意な相違がなかったことから、DD型のデータは少ないが、持久性トレーニングを主体とする陸上中長距離走では、ACE遺伝子多型のスポーツ心臓への影響は少ないと考えている。

またスポーツ心臓に関して、ACE遺伝子多型よりアンギオテンシノーゲン (angiotensinogen, 以下AGT) 遺伝子多型のTT型が重要であるとのKarjalainenら²¹⁾の報告やACE遺伝子多型のDD型とAGT遺伝子多型のTT型の組み合わせがLVMIが増大させるとのDietら²²⁾の報告などがあり、スポーツ心臓の心肥大について、競技種目、運動内容などを含め今後の更なる検討が必要である。

2. ACE遺伝子多型と持久性運動能力

Montgomeryら²³⁾は若い軍隊兵士の10週間の訓練にて、ACE遺伝子多型のII型に筋肉増加がみられ、代謝亢進することを報告した。Williamsら²⁴⁾も自転車エルゴメーターの実験にて、II型に筋力の増強がみられることを明らかにしている。彼らはその理由について、持久性トレーニングによって遅筋線維が増え、またII型はACE活性の低下があり血液循環能が促進することが効果をもたらしていると考えている。しかしながら、本研究では最大酸素摂取量についてID型とII型にて有意な違いを認めなかった。Rankinenら²⁵⁾も持久性競技選手を対象に最大酸素摂取量を測定し、ACE遺伝子多型と持久性運動能力は関連性がないと報告している。競技種目およびトレーニング内容の相違が異なる結論を導いているようにも思われ、持久性運動能力についてさらに研究成果をまとめた検討が必要であると思われる。

V. 結 論

アンギオテンシン変換酵素（ACE）遺伝子の遺伝子多型とスポーツ心臓について，中長距離走者を対象として検討を行ったが，持久性トレーニングによって発達した心形態，機能および持久性運動能力の向上について，遺伝子多型による影響はみられなかった。しかしながらDD型については被験者が少なく，今後さらに検討していく必要である。

謝 辞

本研究を行うにあたり，被験者としてご協力いただいた鹿児島大学陸上競技部員の皆様に対し，深謝いたします。また本研究は平成13年～平成14年度科学研究費（基盤研究（C）（2），課題番号13680037）（研究代表者 前田雅人）の助成を受けて実施したものである。

参考文献

1) Keul J, Dickhuth HH, Lehmann M and Staiger J. The athlete's heart-haemodynamics and structure. *Int J Sports Med.* 1982;3:33-43.

2) Schunkert H, Dzau VJ, Tang SS, Hirsh AT, Apstein CS and Lorell BH. Increased rat cardiac angiotensin converting enzyme activity and mRNA expression in pressure overload left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest.* 1990;86:1913-1920.

3) Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, Stender M, Perz S, Keil U, Lorell BH and Riegger GA. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med.* 1994;330:1634-1638.

4) Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Richard S, Laurence T, Philippe A, Francois AG and Florent S. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature.* 1992;359:641-644.

5) Montgomery HE, Clarkson P, Dollery CM, Prasad K, Losi MA, Hemingway H, Statters D, Jubb M, Girvain M, Varnava A, World M, Deanfield J, Talmud P, McEwan JR, McKenna WJ and Humphries S. Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation.* 1997;96:741-747.

6) Myerson SG, Montgomery HE, Whittingham M, Jubb M, World MJ, Humphries SE and Pennell DJ. Left ventricular hypertrophy with exercise and ACE gene insertion/deletion polymorphism. a randomized controlled trial with Losartan. *Circulation.* 2001;103:226-230.

7) Kasikcioglu E, Kayserilioglu A, Gloglu F, Akhan H, Oflaz H, Yildiz S, Peker I. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism, left ventricular remodeling, and exercise capacity in strength-trained athletes. *Heart Vessels.* 2004;19:287-293.

8) Hernandez D, Rosa ADL, Barragan A, Barricos Y, Salido E, Torres A, Martin B, Laynez I, Duque A, Vera AD, Lorenzo V and Gonzalez A. The ACE/DD genotype is associated with the extent of exercise-induced left ventricular growth in endurance athletes. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:527-532.

9) Nagashima J, Musha H, Takada H, Awaya T, Oba H, Mori N, Ohmiya K, Nobucka S and Murayama M. Influence of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on development of athlete's heart. *Clin Cardiol.* 2000;23: 621-624.

10) Gayagay G, Yu B, Hamby B, Boston T, Hahn A, Celermajer DS and Trent RJ. Elite endurance athletes and the ACE I allele - the role of genes in athletic performance. *Hum Genet.* 1998;103:48-50.

11) Myerson S, Hemingway H, Budget R, Martin J, Humphries S and Montgomery H. Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *J Appl Physiol.* 1999;87:1313-1316.

12) Taylor RR, Mamotte CDS, Fallon K and Bockxmeer FM. Elite athletes and the gene for angiotensin-converting enzyme. *J Appl Physiol.* 1999;87:1035-1037.

13) 河野史倫, 齊藤和人, 大平充宣. アンギオテンシン変換酵素遺伝子多型が先天的持久性運動能力に及ぼす影響. 第19回「健康医科学」研究助成論文集 平成14年度, pp.20-26.

14) Maruyama K, Yoshida M, Nishio H, Shirakawa T, Kawamura T, Tanaka R, Nakamura H, Iijima K and Yoshikawa N. Polymorphisms of renin-angiotensin system genes in childhood IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol.* 2001;16:350-355.

15) Devereux RB and Reichek N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. *Circulation.* 1977;55:613-618.

16) Samani NJ, Thompson JR, O'Toole L, Channer K, Woods KL. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation.* 1996;94:708-712.

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.* 1990;86:1343-1346.

18) Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F and 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.
- 19) Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y and Kinoshita M. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation.* 1994;90:2622-2628.
 - 20) Danser AHJ, Schalekamp MADH, Bax WA, Brink AMVD, Saxena PR, Riegger GAI, Schunkert H. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. *Circulation.* 1995;92:1387-1388.
 - 21) Karjalainen J, Kujala UM, Stolt A, Mantysaari M, Viitasalo M, Kainulainen K and Kontula K. Angiotensinogen gene M235T polymorphism predicts left ventricular hypertrophy in endurance athletes. *J Am Coll Cardiol.* 1999;34:494-499.
 - 22) Diet F, Graf C, Mahnke N, Wassmer G, Predel HG, Palma-Hohmann I, Rost R and Bohm M. ACE and angiotensinogen gene genotypes and left ventricular mass in athletes. *Eur J Clin Invest.* 2001;31:836-842.
 - 23) Montgomery H, Clarkson P, Barnard M, Bell J, Brynes A, Dollery C, Hajnal J, Hemingway H, Mercer D, Jarman P, Marshall R, Prasad K, Rayson M, Saeed N, Talmud P, Thomas L, Jubb M, World M and Humphries S. Angiotensin-converting-enzyme gene insertion/deletion polymorphism and response to physical training. *Lancet.* 1999;353:541-545.
 - 24) Williams AG, Rayson MP, Jubb M, World M, Woods DR, Hayward M, Martin J, Humphries SE and Montgomery HE. The ACE gene and muscle performance. *Nature.* 2000;403:614.
 - 25) Rankinen T, Wolfarth B, Simoneau JA, Maier-Lenz D, Rauramaa R, Rivera MA, Boulay MR, Chagnon YC, Perusse L, Keul J and Bouchard C. No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. *J Appl Physiol.* 2000;88:1571-1575.