

사상체질집단의 ADPRT gene 3'UTR region의 단일염기다형성 연구

이수경* · 이성진** · 송일병*

Abstract

Genetic Polymorphism of ADPRT Gene 3'UTR Region and Sasang Constitution

Lee Su-kyung* · Lee Sung-jin** · Song Il-byung*

*Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang Univ.
Coll of Medical, Ulsan Univ.

Sasang Constitutional Medicine is based on the diversity of human being and medically developed the variation of response to diseases and medicines. The diversity is categorized as four groups Taeyangin, Taeumin, Soyangin, Soeumin according to morphology, physiology, pathology, and pharmacology. The phenotypes of Sasang constitutions represent that constitutions may be possessed of the different genetic backgrounds.

To clarify the genetic difference among the Sasang constitutions, we performed a genetic analysis with the 3'-UTR polymorphism of ADPRT (rs=8679) as a pooled DNA sequencing method. ADPRT modulates various nuclear proteins by poly(ADP-ribosylation) and is involved in the regulation of various cellular processes such as differentiation, proliferation, and tumor transformation. This gene is also involved in the recovery of cell from DNA damage and the brain infarction.

The allele frequencies of [T/C] polymorphism of ADPRT of Soeumin and Soyangin groups were (T: 0.94/C: 0.06) and that of Taeumin and Taeyangin groups were (T: 1.00/C: 0.00). The allele frequency was not showed the difference between constitution groups. This result represented that the [T/C] polymorphism of ADPRT 3' UTR region was not suitable to classify the constitutions. However, this study is the first trial of Sasang classification according to genetic polymorphism and further analysis will be necessarily to classify the genetic difference of Sasang constitution.

Key Words : Sasang Constitution, Polymorphism, ADPRT, SNP

* 경희대학교 한의과대학 사상체질과

교신저자 : 이수경 (주소) 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희의료원 사상체질과 전화) 02-958-9233

** 울산대학교 의과대학

*** 이 연구는 2001년도 경희대학교 연구비 지원에 의한 결과임

I. 서 론

사상체질의학은 사람을 태양인, 태음인, 소양인, 소음인으로 구분하여 질병 치료를 달리 하는 의학¹⁾으로 현재까지 100여 년 이상 한국인을 대상으로 임상적으로 활용되어 다양한 질환에서 치료 효과가 유의하게 나타나고 있다. 사상의학에서의 체질은 한 개체가 지니는 모든 특성을 포괄하는 용어로 사상의학에서의 체질은 생리, 병리적 대사의 특성, 개체의 성격과 장단점, 다른 사람 및 사회와의 관계, 약물 반응과 질환 이환율의 차이를 모두 포함한다.

사상체질의학에서의 체질 진단은 심성, 체형과 용모, 체질증과 체질병증 등의 여러 기준이 종합되어야 진단될 수 있으며 주관적인 정보들을 대상으로 진단하게 된다. 체질 진단을 객관화하기 위해서는 주관적 정보들을 객관화된 정보로 변환할 수 있으며 사람의 여러 가지 정보가 포함된 것을 중심으로 체질의 단서를 찾는 연구가 필요하다. 체질의 근거를 밝히는 것은 사상체질의학을 현대 과학의 범주에서 해석하고 규명하는 연구의 가장 기초적인 작업이다. 그러므로 체질 근거를 찾기 위해 개체의 모든 정보를 지니며 인간의 몸에서 기능하고 있는 것, 즉 유전자를 중심으로 연구하는 것은 필연적이다²⁾.

그간의 사상체질의 유전체 특성에 대한 연구는 한국한의학연구원에서 1996년에 DNA fingerprinting을 이용한 사상체질의 유전적 분석 연구³⁾, 1997년에 Amp-FLP를 이용한

사상체질의 유전적 분석 연구⁴⁾, 1998년에 4가지의 STR loci를 통한 유전적 분석⁵⁾ 등이 진행되었으나 체질집단에서의 뚜렷한 유전적 특징을 찾지는 못하였다. 그 외에 ACE (Angiotensin I-converting enzyme)의 유전자형과 체질집단의 상관성을 살펴 Type II는 소음인, Type DD는 태음인과 관련된 것으로 보고⁶⁾되기도 하였으나 뇌경색환자들을 대상으로 분석한 결과 체질집단과의 상관성은 없었다⁷⁾. 또한 HLA(Human Leukocyte Antigen)의 Type과 체질집단과의 상관성을 살펴보는 연구가 진행되어 HLA-A*31은 소양인에게는 발현이 잘 되지 않으며 HLA-Cw*04은 태음인, HLA-Cw*07은 소양인, HLA-Cw*14은 소음인에게서 발현되는 경향이 있었다⁸⁾. 최근 Human Genome Project에 의해 인간 유전체 전모가 드러나면서 높은 빈도로 발견되는 유전자 다형성을 이용하여 개체간의 차이를 해석해 보고자 하는 시도들이 활발히 이뤄지고 있다. 그 중에서도 단일 염기 다형성(single nucleotide polymorphisms : SNPs)은 1000 bp 마다 한번 꼴로 나타나는 유전적 다형성으로 매우 안정적이며 대량 분석이 가능하여 개체간에 보이는 약물에 대한 반응성이나 질병에 대한 민감성, 유해환경에 대한 저항성을 비롯하여 당뇨병, 암, 정신질환과 같은 복합유전 질환의 유전적인 소인을 밝히고자 하는 연구에 이용되고 있다. 이처럼 민족간, 개체간에 빈도의 차이를 보이는 SNP를 이용하여 사상체질에 의해 분류되는 태양인, 태음인, 소양인, 소음인 집단간에 SNP 빈도에서 차

1) 이재마, 동의수세보원, 행림출판사, 서울, 1986

2) 조동욱 이창수 고병희 조형성, 유전자 지문법을 이용한 사상체질의 유전적 분석 연구, 사상의학회지, 1996;8(2):151-164

3) 조동욱 이창수 고병희 조형성, 유전자 지문법을 이용한 사상체질의 유전적 분석 연구, 사상의학회지, 1996;8(2):151-164

4) 조동욱 안선경 김도균 김대원 지상은 이의주 홍석철 고병희 조형성, Amp-FLP를 이용한 사상체질의 유전적 분석 연구, 사상의학회지, 1997;9(2):163-174

5) 김민희 김경석 지상은 최선미 조동욱, 유전적 분석법에 의한 사상체질의 연구, 사상의학회지, 1999;11(1):169-183

6) 최승훈 임용빈 이준우 김홍열 강철훈, 사상체질유형과 ACE 유전자 Type과의 상관관계, 사상의학회지, 1998;10(2):283-290

7) 주종천 배영춘 권덕윤 김경요 김일환, 뇌경색 환자의 안지오텐신 전환 효소 유전자 다형성과 사상체질, 사상체질의학회지, 2002;14(1):132-139

8) 하만수 고병희 송일병, 사상체질과 HLA type과의 상관성에 관한 연구, 사상체질의학회지, 2002;14(1):90-99

이를 보이는 지를 연구하고자 한다.

각 체질 집단에서 염색체 1q41-q42 부위에 존재하는 ADPRT (ADP-ribosyltransferase: poly(ADP-ribose) polymerase) 유전자의 3'UTR (untranslational region)에 존재하는 SNP를 대상으로 집단별 SNP 빈도차이 여부를 확인하고자 하였다. ADPRT 유전자는 핵 속에 존재하며 DNA 가닥이 손상되었을 때 발현이 유도되어 다양한 핵단백질들을 poly(ADP-ribosyl)ation 시키므로써 DNA 복구에 관여하는 하는 것으로 알려져 있다. 이외에도 세포의 분화(differentiation), 증식(proliferation), 암세포로의 전이(transformation) 등에 관여하는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 또한 ADPRT의 유전자다형성과 관련된 연구로, Lyn 등¹⁰⁾은 ADPRT의 processed pseudogene인 PADPRT의 193-bp polymorphism이 흑인의 multiple myeloma, prostate cancer, colon cancer와 유관함을 밝혔다.

본 연구에서는 ADPRT 유전자의 3'UTR 부위의 NCBI(National Center for Biotechnology Information) SNP Data Bank의 rs867911) [t/c] Polymorphism의 빈도가 사상체질 집단에서 유의한 차이를 보이는 지를 살펴보았다.

II. 연구 방법

체질적 특성이 전형적인 체질 집단의 Genomic DNA를 대상으로 ADPRT의 3'UTR 부위의 [t/c] Polymorphism을 분석하여 체질 집단에 따라 유의한 통계적 차이를 보이는지 조사하였다.

(1) 체질 집단의 유전자 확보

사상체질의 유전적 다형성 연구의 가장 기

본은 정확한 체질 진단에 근거한 대상군의 설정이다. 경희대학교 사상체질과에서 체질이 전형적인 것으로 진단되고 다른 질환을 지니고 있지 않은 건강인을 태음인, 소양인, 소음인 각 체질별로 24명, 태양인 4명을 대상으로 하였다. 그들에게서 실험의 취지와 방법을 설명하는 동의서에 서명을 받은 다음 혈액을 5ml 채취하였다.

(2) DNA 추출

체질 진단된 사람의 혈액을 5 ml 채취하여 2X sucrose 용액법으로 임파구만을 분리하였다. 분리한 임파구는 Nuclei lysis buffer(400 mM NaCl, 10 mM Tris.Cl, 2 mM EDTA) 2ml에 녹인 후 50 ug/ml의 proteinase K, 0.5 % SDS를 처리하여 50-55 °C에서 2시간에서 임파구가 완전히 녹을 때까지 충분히 반응시킨다. Proteinase K 처리된 용액을 동량의 phenol용액을 첨가하여 추출한 후 phenol/chloroform, chloroform 용액을 다시 차례로 넣고 추출하여 에탄올용액에 침전시킨다. DNA는 500 ul의 TE용액에 녹인 후 260/280 nm에서 O.D.를 측정하였다. Genomic DNA 농도를 10ng/ul로 맞추고 0.7% agarose gel에서 electrophoresis하여 농도를 확인하였다. 태음인 소양인 소음인 각 24명 태양인 4명에서 genomic DNA pool을 만들기 위하여 동일한 농도의 genomic DNA를 만들고 각 개인 DNA를 동량 취하여 체질 집단별 DNA Pool을 만들었다.

(3) DNA 증폭

PCR 반응은 DNA template 20 ng, PCR primer 5 pmole/ul를 각각 1 ul씩 사용하고 10 mmol/L Tris-HCl(pH 8.3), 50 mmol/L potassium chloride, 1.5 mmol/L

9) Hecceg Z, Wang ZQ. Related Articles, Functions of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) in DNA repair, genomic integrity and cell death., Mutar Res. 2001;Jun 2:477(1-2):97-110

10) Lyn D, Cherney BW, Lalande M, Berenson JR, Lichtenstein A, Lupold S, Bharia KG, Smulson M. A duplicated region is responsible for the poly(ADP-ribose) polymerase polymorphism, on chromosome 13, associated with a predisposition to cancer. Am J Hum Genet. 1993;52(1):124-34

11) 관련 URL(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=rs8679)

(5) Genomic DNA pool 에서 대립형질의 발현 빈도 계산

Pooled DNA sequencing 방법으로 먼저 SNP의 빈도를 구한다. 개인 3명과 21명 pooled DNA를 이용하여 sequencing한다.

염기의 발현빈도를 확인한 결과 아래 표 2와 같은 결과를 얻었다.

표 2. 체질집단별 ADPRT의 3'UTR [t/c] 다형성 발현의 빈도

Gene	Description	locus	Polymorphism	소음인 (24명)	소양인 (24명)	태음인 (24명)	태양인 (4명)	Allele frequency from DB*
ADPRT	ADP-ribosyltransferase (NAD ⁺ ; poly (ADP-ribose) polymerase)	1q41-q42	t/c	t: 0.94	t: 0.94	t: 1.00	t: 1.00	t: 0.847
				c: 0.06	c: 0.06	c: 0.00	c: 0.00	c: 0.153

* NCBI의 Reference SNP Cluster Report (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?searchType=adhoc_search&type=rs&rs=8679)

IV. 고찰 및 결론

Genomic DNA 염기 서열에서 단일염기다형성(single nucleotide polymorphisms: SNPs)은 개개인의 특성을 나타내는 표지자로 질병 이환과 약물 반응 차이를 유발할 수 있는 다형성의 기초적 인자로 밝혀지고 있다. 사상 체질 집단을 구별할 수 있는 유용한 유전적 표지자를 찾고자 ADPRT 유전자의 SNP를 대상으로 사상체질군에 따른 발현 빈도를 조사하였다.

ADPRT 유전자는 chromosome 1q42에 위치하는 43 kb의 유전자¹³⁾로서 116-kD의 poly(ADP-ribose) polymerase 단백질을 만들며, ADPRT 단백질은 NAD를 기질로 ssDNA

를 cosubstrate로 하여 60-80개의 ADP-ribose를 핵단백질로 옮기는 반응을 촉매한다. 그 결과 histone H1, HMG, topoisomerase I, II 등은 poly(ADP-ribosyl)ation 된다. Grube 등¹⁴⁾은 핵단백질의 poly(ADP-ribosyl)ation과 수명연장이 높은 상관관계에 있음을 발견하고 poly(ADP-ribosyl)ation이 genome의 보호에 기여할 것이라고 제시하였다. 한편 Yu 등¹⁵⁾은 poly(ADP-ribose) polymerase 1의 활성화는 미토콘드리아에서 apoptosis-inducing factor (AIF)가 방출되도록 하며 그 결과 caspase와는 상관 없는 경로로 apoptosis를 유발한다고 제시하였다.

ADPRT 유전자는 1992년에 in situ hybridization 기법에 의해 1q42에 위치하는 것으로 확인되었으며 13q34, 14q24에서도 hybridization 됨에 따라 발견자인 Baumgartner는 이들을 pseudogene으로 제시하였다¹⁶⁾. Lyn 등¹⁷⁾은 multiple myeloma, prostate cancer, colon cancer 등에 이환된 환자의 gerline DNA에서 13q34의 193-bp polymorphism (duplication/-) 중 duplication이 없는 형질의 발현빈도가 증가됨을 발견하였다.

본 연구에서는 태음인, 소양인, 소음인 24명과 태양인 4명으로 체질 집단별 Genomic DNA pool을 만들어 ADPRT Gene 3'UTR 부위의 [t/c] Polymorphism의 빈도가 체질 집단에서 유의한 차이가 있는지를 확인해 보았다. ADPRT Gene 3'UTR의 [t/c]

- 13) Auer B., Nagl U., Herzog H., Schneider R., Schweiger M., Human nuclear NAD⁺ ADP-ribosyltransferase(polymerizing): organization of the gene., DNA, 1989;8:575-580
- 14) Grube K, Burklee A. Poly(ADP-ribose) polymerase activity in mononuclear leukocytes of 13 mammalian species correlates with species-specific life span. Proc Natl Acad Sci USA. 1992;89(24):11759-63.
- 15) Yu SW, Wang H, Poiras MF, Coombs C, Bowers WJ, Federoff HJ, Poirier GG, Dawson TM, Dawson VL. Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor. Science. 2002;297(5579):259-63.
- 16) Baumgartner M, Schneider R, Auer B, Herzog H, Schweiger M, Hirsch-Kauffmann M. Fluorescence in situ mapping of the human nuclear NAD⁺ ADP-ribosyltransferase gene (ADPRT) and two secondary sites to human chromosomal bands 1q42, 13q34, and 14q24. Cytogenet Cell Genet. 1992;61(3):172-4.
- 17) Lyn D, Cherney BW, Lalande M, Berenson JR, Lichtenstein A, Lupold S, Bharia KG, Smulson M. A duplicated region is responsible for the poly(ADP-ribose) polymerase polymorphism, on chromosome 13, associated with a predisposition to cancer. Am J Hum Genet. 1993;52(1):124-34.

Polymorphism의 빈도는 소음인과 소양인의 집단에서 T의 발현 빈도가 0.94로 동일하게 나타나고 태음인과 태양인의 집단에서 T의 발현 빈도는 1.00으로 나타났으며 대립인자의 발현 빈도는 평균 0.04로 나타났다.

이는 SNP Data Bank에서 제시하는 대립인자 평균 발현 빈도 (T: 0.847/C: 0.153)와 비교할 때 사상체질군에서 ADPRT Gene 3'UTR 부위의 [t/c] Polymorphism에 유의한 차이가 없는 것으로 판단되며 사상체질 집단을 구별할 수 있는 유용한 SNP이 아닌 것으로 판단된다.

태소음양인에서 각 체질별 병증과 약물에 대한 반응 양태를 고찰하면 소양인의 경우는 『東醫壽世保元』의 「少陽人腎受熱表熱病論」에서 '少陽人病 以火熱爲證 故 變動甚速 初證不可輕易視之也'라 하였듯이 병증의 진행이 비교적 빠른 경향이 있으며 그에 반해 소음인에서는 병증의 진행이 비교적 느린 경향이 있다. 물론 병증의 진행과 약물 반응에 대한 반응의 차이를 살펴보면 단정적으로 표현할 수는 없으나 체질별 반응 양태의 차이를 추정할 수 있을 것이다. 즉, 인체의 전반적인 기능과 세포에서의 Cell Cycle 등과도 연계하여 추정할 수는 있을 것이다. 이는 Cell death에 관여하는 ADPRT의 기능과도 관련하여 살펴볼 수 있는 근거가 될 수도 있을 것이다. 최근에 ADPRT가 허혈로 인한 뇌신경세포 괴사에 관여한다는 연구 결과들이 보고되고 있다. Pieper AA등¹⁸⁾은 ADPRT inhibitors

와 Gene Deletion으로 조직 손상을 막을 수 있을 것이라 하였으며 Love S등¹⁹⁾은 허혈로 인한 뇌경색환자의 뇌신경세포 손상과 관련하여 ADPRT, CASP3, DNA-PKCS등이 관여된 생화학적으로 프로그램화 세포 손상과정을 나타낸다고 하였으며 Kato N등²⁰⁾은 Stroke 환자들에게서 ADPRT Gene의 polymorphism을 살펴보기도 하였으나 유의한 결과는 얻지 못하였다.

사상체질집단에서 Stroke의 유병률이 태음인과 소양인이 비교적 높고 소음인과 태양인의 유병률이 상대적으로 낮음²¹⁾²²⁾을 고려해볼 때 사상체질집단에서의 ADPRT 유전자의 다른 부위에 있는 SNP을 연구해 볼 필요가 있으며, 본 연구에서 사용된 정상인 시료가 24명으로 비교적 적은 수이므로 연구대상을 늘려 연구해 볼 필요가 있다. 그러나 '체질별 병증과 약물에 대한 반응 양태의 차이를 체내의 유전자와 Cell 내에서 어떻게 연결 지을 것인가' 하는 문제는 많은 논리적 비약이 있는 것이 사실이며 이를 증명하기 위해서는 많은 기반 연구가 진행이 되어야 할 것이다. 그러므로 체질간에 나타나는 생리, 병리적 특이성을 구별하는데 활용할 수 있는 물질과 유전자를 효과적으로 찾는 것이 주요하며 이를 바탕으로 다방면에서 연구가 진행이 되어야 태소음양인의 체질을 진단할 수 있는 유용한 SNP을 발굴할 수 있을 것으로 생각되며 향후 체질의 특성에 대한 물질적 근거에 대한 더욱 많은 연구들이 진행되어야 할 것이다.

18) Pieper AA, Verma A, Zhang J, Snyder SH., Poly (ADP-ribose) polymerase, nitric oxide and cell death., Trends Pharmacol Sci. 1999;20(4):171-81.

19) Love S, Barber R, Wilcock GK. Related Articles, Neuronal death in brain infarcts in man., Neuropathol Appl Neurobiol. 2000;26(1):55-66.

20) Kato N, Morita H, Sugiyama T, Kurihara H, Tsubaki S, Nabika T, Kitamura K, Yamori Y, Yazaki Y., Evaluation of the poly (ADP-ribose) polymerase gene in human stroke., Atherosclerosis. 2000;148(2):345-52

21) 최재영 박성식, 사상의학적 증풍 치험 157예에 대한 임상적 연구, 사상의학회지, 1998;10(2):431-454

22) 김종원, 뇌졸중에 대한 한방치료법 연구 및 한방, 양방, 한양방 협진 치료 효과에 관한 연구, 사상의학회지, 1998;10(2):351-430

參 考 文 獻

1. 김민희 김경석 지상은 최선미 조동욱, 유전적 분석법에 의한 사상체질의 연구, 사상학회지, 1999:11(1):169-183
2. 김종원, 뇌졸중에 대한 한방치료법 연구 및 한방, 양방, 한양방 협진 치료 효과에 관한 연구, 사상학회지, 1998:10(2):351-430
3. 이제마, 동의수세보원, 행림출판사, 서울, 1986
4. 조동욱 이창수 고병희 조황성, 유전자 지문법을 이용한 사상체질의 유전적 분석 연구, 사상학회지, 1996:8(2):151-164
5. 조동욱 안선경 김도균 김대원 지상은 이의주 홍석철 고병희 조황성, Amp-FLP을 이용한 사상체질의 유전적 분석 연구, 사상학회지, 1978:9(2):163-174
6. 주종천 배영춘 권덕운 김경요 김일환, 뇌경색 환자의 안지오텐신 전환 효소 유전자 다형성과 사상체질, 사상체질의학회지, 2002:14(1):132-139
7. 최승훈 임용빈 이준우 김홍열 강철훈, 사상체질유형과 ACE 유전자 Type과의 상관관계, 사상학회지, 1998:10(2):283-290
8. 최재영 박성식, 사상학학적 중풍 치험 157예에 대한 임상적 연구, 사상학회지, 1998:10(2):431-454
9. 하만수 고병희 송일병, 사상체질과 HLA type과의 상관성에 관한 연구, 사상체질의학회지, 2002:14(1):90-99
10. Herceg Z, Wang ZQ. Related Articles, Functions of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) in DNA repair, genomic integrity and cell death., Mutat Res. 2001:Jun 2:477(1-2):97-110
11. Lyn D, Cherney BW, Lalande M, Berenson JR, Lichtenstein A, Lupold S, Bhatia KG, Smulson M. A duplicated region is responsible for the poly(ADP-ribose) polymerase polymorphism, on chromosome 13, associated with a predisposition to cancer. Am J Hum Genet. 1993:52(1):124-34
12. Pui-Yan Kwok, Christopher Carlson, Thomas D.Yager, Wendy Ankener, and Deborah A.Nickerson. Comparative Analysis of Human DNA Variations by Fluorescence-Based Sequencing of PCR Products. Genomics. 1994:23:138-144.
13. Auer B., Nagl U., Herzog H., Schneider R., Schweiger M., Human nuclear NAD+ ADP-ribosyltransferase(polymerizing): organization of the gene., DNA, 1989:8:575-580
14. Grube K, Burkle A. Poly(ADP-ribose) polymerase activity in mononuclear leukocytes of 13 mammalian species correlates with species-specific life span. Proc Natl Acad Sci USA. 1992:89(24):11759-63.
15. Yu SW, Wang H, Poitras MF, Coombs C, Bowers WJ, Federoff HJ, Poirier GG, Dawson TM, Dawson VL. Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor. Scienc
16. Baumgartner M, Schneider R, Auer B, Herzog H, Schweiger M, Hirsch-Kauffmann M. Fluorescence in situ mapping of the human nuclear NAD+ ADP-ribosyltransferase gene (ADPRT) and two secondary sites to human chromosomal bands 1q42, 13q34, and 14q24. Cytogenet Cell Genet. 1992:61(3):172-4.
17. Lyn D, Cherney BW, Lalande M,

- Berenson JR, Lichtenstein A, Lupold S, Bhatia KG, Smulson M. A duplicated region is responsible for the poly(ADP-ribose) polymerase polymorphism, on chromosome 13, associated with a predisposition to cancer. *Am J Hum Genet.* 1993;52(1):124-34.
18. Pieper AA, Verma A, Zhang J, Snyder SH., Poly (ADP-ribose) polymerase, nitric oxide and cell death., *Trends Pharmacol Sci.* 1999;20(4):171-81.
19. Love S, Barber R, Wilcock GK. Related Articles, Neuronal death in brain infarcts in man., *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2000;26(1):55-66.
20. Kato N, Morita H, Sugiyama T, Kurihara H, Tsubaki S, Nabika T, Kitamura K, Yamori Y, Yazaki Y., Evaluation of the poly(ADP-ribose) polymerase gene in human stroke., *Atherosclerosis.* 2000;148(2):345-52