

地域住民における高血圧、脂質代謝異常の遺伝要因と生活習慣との関連に関する研究

●上島弘嗣¹⁾ ◆中村保幸²⁾ ◆環慎二³⁾ ◆辻田靖之⁴⁾ ◆喜多義邦¹⁾ ◆岡村智教¹⁾

1)滋賀医科大学社会医学講座(福祉保健医学) 2)京都女子大学生生活福祉学科3)公立甲賀病院内科 4)滋賀医科大学救急・集中治療部

＜研究の目的と進め方＞

高血圧、脂質代謝異常を中心とした動脈硬化促進要因に遺伝要因がどのように関連しているかを、ゲノム解析による遺伝子多型を分析して検討する。例えば高血圧は循環器疾患の危険因子であるが、同じ塩分摂取量や肥満度でも血圧値にはばらつきがあり、アルコールに対する反応も個人差が大きい。このような差の大部分は個人の遺伝子多型に起因していると推測されるが、生活習慣や非薬物療法に焦点をあてて循環器疾患危険因子の遺伝子多型を検討した成績は少ない。

われわれは1991年度より5年間をかけて滋賀県S町の30歳以上の全住民を対象として、100項目に上る生活習慣調査を住民検診(血圧測定、血液化学検査等)とともに実施してきた。この間に、約3800人に上る受診者を得た。現在、これを追跡開始時の成績として、脳卒中、心筋梗塞、がん等による死亡を追跡している。さらに、1999年度のS町住民検診に際して、2900人の受診者の中で男女総計約2400名からインフォームドコンセントを得て採血しDNAを抽出した。また2003年度から愛媛大木教授グループとの共同研究で滋賀県S町の対象に加えて愛媛大学フィールドの対象に関してangiotensinogen M235T多型(AGTM235T)および α -adducin Gly460Trp多型(ADDGly460Trp)遺伝子多型タイピングを行い、多数例での解析を行なった。

＜研究開始時の研究計画＞

1. ACE I/D遺伝子多型と血圧値、経年の血圧変化と遺伝子多型の関連を調べる。
2. ALDH2 Lys487Glu遺伝子多型とアルコール摂取量、血圧の相互関連、ALDH2遺伝子多型とアルコール摂取量、HDL相互関連を調べる。
3. ACE I/D遺伝子多型とALDH2 Lys487Glu遺伝子多型を組み合わせと血圧の関連、経年の血圧変化と遺伝子多型との関連を調べる。
4. Angiotensinogen遺伝子多型(angiotensinogenM235T遺伝子多型)と血圧との関連を調べる。
5. α -adducin Gly460Trp多型(ADDGly460Trp)と血圧との関連、およびangiotensinogenM235T遺伝子多型との組み合わせを調べる。
6. CETP Taq 1 遺伝子多型とHDLコレステロール、および生活習慣の関連を検討する。
7. β 3アドレナリン受容体Trp64Arg多型とメタボリックシンドロームの関連を調べる。

＜研究期間の成果＞

1. ACE I/D遺伝子多型と血圧値、経年の血圧変化と遺伝子多型の関連

多遺伝子変異と高血圧に関して最初に注目されたのはアンジオテンシン変換酵素(ACE)遺伝子I/D多型であろう。ACE遺伝子のDアレルを持つとACE活性が高いことに関してほとんどの研究が一致しているが、ごく一部の

研究しか高血圧との関連については認めていない。最近の白人でのメタ解析でもACE遺伝子多型は高血圧を始めとしてその他の循環器疾患とも関連がないことを示した。またわれわれの約2000例を対象とした研究でも同様にこの遺伝子多型と高血圧の関連性を否定した(表1)(1)。さらに男女別、年齢群別で解析したが、結果は同様であった。また、本遺伝子多型と経年の血圧変化との関連を検討したが、有意な関連は認めなかった(1)。

表1 ACE遺伝子多型と高血圧

	II	ID	DD	P
N (2168)	821	941	406	
男/女	311/510	362/579	146/260	0.68
年齢	56±16	58±16	57±15	0.16
BMI	22.5±3.1	22.6±3.2	22.7±3.0	0.38
SBP	128±19	129±19	129±20	0.57
DBP	76±12	76±12	77±12	0.52
喫煙(%)	31.5	32.9	32.8	0.81
家族歴(%)	30.2	31.7	34.9	0.24
高血圧(%)	30.8	32.5	29.3	0.48

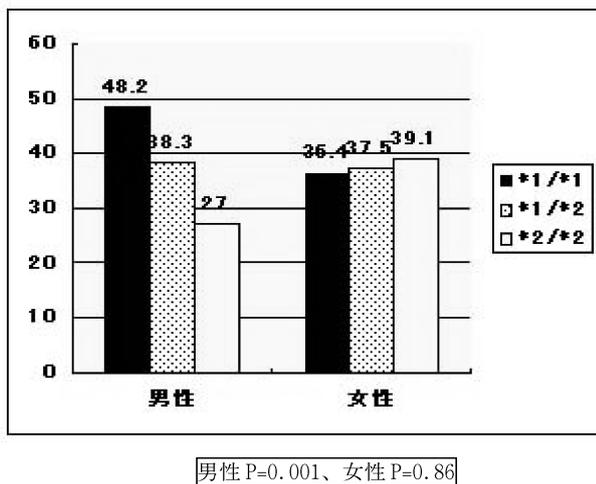
平均±SDで示す。SBP=収縮期血圧(mmHg)、DBP=拡張期血圧(mmHg)

2. ALDH2 Lys487Glu遺伝子多型とアルコール摂取量、血圧の相互関連、ALDH2遺伝子多型とアルコール摂取量、HDL相互関連

飲酒によって体内に入ったエタノールはアルコール脱水素酵素によってアセトアルデヒドに代謝され、さらにアルデヒド脱水素酵素によって速やかに酢酸と水に分解される。ところがアルデヒド脱水素酵素のなかで能力が強いアルデヒド脱水素酵素2(ALDH2)は東アジア人の多くが突然変異による欠損酵素を持っている。滋賀県S町でのわれわれの調査では、約46%がヘテロ接合体欠損型、約8%がホモ接合体欠損型となっていた。ヘテロ接合体欠損はほんの少しのアルコールしか飲めない人がこれに当たり、ホモ接合体欠損型の人では極微量の飲酒でもアセトアルデヒドの分解が遅れて、毒物であるアセトアルデヒドが体内に蓄積して頭痛、吐き気、心悸亢進などの症状が出る。ヘテロ接合体欠損の人は飲酒をしない場合が多いが、中には「訓練」の結果1日1合程度の飲酒習慣がある人も存在する。

ALDH2は本来アルコールの代謝に関係する酵素であるが、われわれの調査で男性に於いて「正常型」ヘテロ接合体欠損型」ホモ接合体欠損型の順に高血圧の頻度が有意に高いことを確認した(2)。ところが女性ではこの関連が全く認められなかった(図1)。

図1 ALDH2 遺伝子多型別高血圧罹患頻度(%)



一方、飲酒量が増えると高血圧になりやすいことはこれまでの疫学調査で明らかである。飲酒量を調べるとやはり正常型 > ヘテロ接合体欠損型 > ホモ接合体欠損型の順にアルコール摂取量が多かった。アルコール摂取量を調整した多変量ロジスティック解析により高血圧独立規定因子を検討するとALDH2遺伝子多型の寄与は男女とも認められなかった(表2)。従って、遺伝型が高血圧を決めるのではなく、遺伝型が飲酒するという環境因子を支配し、環境因子が高血圧を来すという典型的なパターンを示した。おそらく血圧に関するその他の多くの遺伝因子も環境因子と強い相互作用を起こしているものと考えられる。

表2 多変量ロジスティック解析による高血圧独立規定因子

	男性	女性
年齢	P<0.0001	P<0.0001
BMI	<0.0001	P<0.0001
飲酒量	P=0.03	P=0.5
喫煙	P=0.5	P=0.5
ALDH2遺伝子多型 (1*/1*):(1*/2*+2*/2*)	P=0.1	P=0.3

次にALDH2遺伝子多型とアルコール摂取量、HDL相互関連について検討した。欧米人ではアルコール脱水素酵素ADH2遺伝子多型の欠損型は比較的まれであるが、40~50%の欧米人がADH3に変異を有することが知られている。近年、欠損型アルコール脱水素酵素ADH3遺伝子多型を有する適量飲酒男性ではHDLコレステロール値が高く、心筋梗塞の発症率が低いとの報告があった。一方北東アジア人に多いALDH2遺伝子多型とHDLコレステロール値、および飲酒の関係は知られていない。

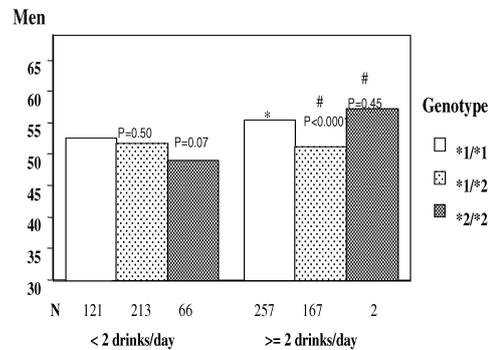
非絶食血液を採血し、血清脂質を精度管理された1研究所で測定した。

1日に2単位以下(飲酒1単位はエタノール換算で11.5g。これは缶ビール350mlに相当する)の飲酒をする男性間では、調整HDLコレステロール値(年齢、喫煙状態、BMI、HbA1cで補正)は3つのALDH2遺伝子多型間で有意な差はなかった。しかし、飲酒量が1日2単位以上の男性ではALDH2*1/*1を有する男性がALDH2*1/*2を有する男性より調整HDLコレステロール値が有意に高かった(56±1 対51±1 mg/dl、平均±SE; P<0.0001)(図2)。これらの相違はALDH2*2/*2遺伝子多型では見られなかった。

1日に2単位以下の飲酒をする男性間では、調整総コレステロール値はALDH2*1/*1を有する男性において

ALDH2*2/*2を有する男性より低かった(181±3 対195±4 mg/dl; P=0.001)。1日に少なくとも2単位飲酒した男性では調整総コレステロール値はALDH2*1/*1を有する男性においてALDH2*1/*2を有する男性より低かった(181±2 対187±3 mg/dl; P=0.031)。

図2 ALDH2 遺伝子多型と飲酒のHDLコレステロール値に対する影響(男性)



図中のP値は同じ飲酒量カテゴリー内でALDH2*1/*1遺伝子多型の例との比較による。一方、同じ遺伝子多型内で飲酒量2単位未満以上で比較した値は* (P<0.05) と# (有意なし) で示す。
Genotype=遺伝子多型

1日飲酒量0.5単位以下の女性では、調整HDLコレステロール値はALDH2*1/*1遺伝子多型を有する群がALDH2*1/*2遺伝子多型を有する群より高かった(60±1 対58±1 mg/dl; P=0.04)。

またALDH2*1/*1遺伝子多型を有する群の調整総コレステロール値が他の群より低かった(194±2 対199±2 対202±3 mg/dl; それぞれ P=0.003、0.01)。女性のALDH2*1/*2遺伝子多型の群では飲酒量を1日平均0.5単位で2分割すると、多い飲酒量群において調整HDLコレステロール値が有意に高値であった(0.5単位未満群: 58±1 対0.5単位以上群: 63±2 mg/dl, P<0.05)し、ALDH2*1/*1遺伝子多型の群では多い飲酒量群において調整総コレステロール値が有意に低値であった(0.5単位未満群: 199±2 対0.5単位以上群: 185±4 mg/dl, P<0.05)。

HDLコレステロール値が80mg/dl以上の場合CETP(コレステロール・エステル転送タンパク)遺伝子変異が想定出来るため、それらの被験者を除外して統計解析を行ったが、解析結果に本質的差違は生じなかった。

3. ACE I/D遺伝子多型とALDH2 Lys487Glu遺伝子多型を組み合わせてと血圧の関連、経年の血圧変化と遺伝子多型との関連

ACE I/D遺伝子多型とALDH2 Lys487Glu遺伝子多型を組み合わせて解析したが、遺伝子多型と血圧の値との間、経年の血圧変化と遺伝子多型との間に有意な関連を認めなかった。

4. Angiotensinogen遺伝子多型

(angiotensinogenM235T遺伝子多型)と血圧との関連

5. α-adducin Gly460Trp多型(ADDGly460Trp)と血圧との関連、およびangiotensinogenM235T遺伝子多型との組み合わせ

滋賀県S町住民の内、降圧薬を服用せず、循環器系疾患の既往がない1,647人の男女を対象に

angiotensinogen M235T多型 (AGTM235T) および α -adducin Gly460Trp多型 (ADD-Gly 460Trp) と血圧、生活習慣の関連を検討した。その結果、AGTM235T および ADD-Gly 460Trp 遺伝子多型は個々には高血圧と関連しなかった。しかし男女を合わせ、生活習慣と AGTM235T および ADD-Gly 460Trp 遺伝子多型の双方が TT 型か否かを加えて多変量 Logistic 解析を行うと、両遺伝子多型が TT であることはオッズ比 (OR) が 1.37 (95% 信頼区間 1.03-1.82) の有意性を持って高血圧 (収縮期血圧 ≥ 140 mmHg または拡張期血圧 ≥ 90 mmHg) である危険性を示した (表 3) (4)。他に高血圧を規定する独立危険因子は年齢、BMI、飲酒量、高血圧家族歴であった。塩辛好きか否か、喫煙本数、性は高血圧に関与しなかった。

一方愛媛大学との共同研究で対象数を 35 歳以上の男女合計 4,729 名に増やして高血圧と AGTM235T および ADD-Gly 460Trp 遺伝子多型再検討した。年齢、body mass index (BMI)、飲酒、地域因子を調整して Logistic 多変量解析にて高血圧 (収縮期血圧 ≥ 140 mmHg、拡張期血圧 ≥ 90 mmHg、降圧薬服用のいずれか) に対する遺伝子多型の寄与を検討したところ、男女とも AGTM235T、

表 3 多変量 Logistic 解析結果

因子	OR (95%CI)	P
AGT T/T+		
ADD 1 T/T		
(両者 TT=1, 他=0)	1.37 (1.03-1.82)	0.031
年齢 (歳)	1.07 (1.06-1.08)	<0.001
BMI (kg/m ²)	1.18 (1.13-1.23)	<0.001
飲酒 (合/日)	1.39 (1.16-1.66)	<0.001
塩辛好き (yes=1, no=0)	1.25 (0.88-1.77)	0.22
高血圧家族歴	1.57 (1.18-2.07)	0.002
喫煙 (本/日)	1.00 (0.99-1.01)	0.481
性 (女性=1)	1.09 (0.81-1.47)	0.481

ADDG460W 多型が高血圧に関与することを認めた。すなわち AGTM235T の MM を 1 としたときの MT, TT 型のオッズ比は男性でそれぞれ 1.75 (95% 信頼区間: 1.23-2.49), 1.76 (1.28-2.43); 女性で 2.24 (1.65-3.04), 2.77 (2.10-3.66) であり、ADD の GG を 1 としたときの GW, WW のオッズ比は男性でそれぞれ 1.19 (0.93-1.53), 1.38 (1.07-1.80); 女性で 1.69 (1.37-2.10), 1.82 (1.45-2.29) であった。

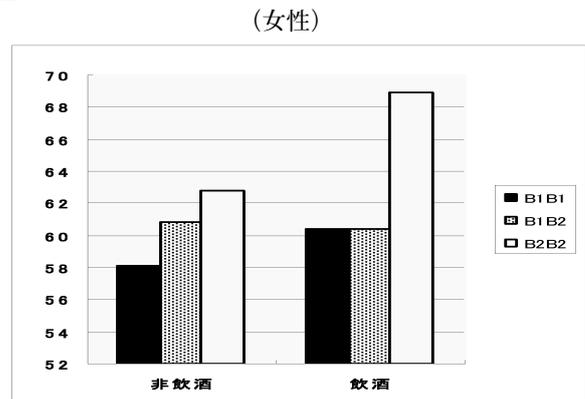
これまでの塩分感受性遺伝子多型と高血圧に関する先行研究が整合性のある結果を提出出来なかったのは、対症例数不足; 降圧薬服用者を除外することによる影響; 重要な交絡因子による調整を行わなかったことなどに起因すると想定出来る。環境因子と同様に遺伝因子が高血圧に関与する例を提示することが出来た。

6. CETP Taq 1 遺伝子多型と HDL コレステロール、および生活習慣 LDL の関連

滋賀県 S 町住民の内、高脂血症治療薬を服用せず、循環器系疾患の既往がない男女 1,729 人 (男性 659 人、女性 1070 人) を対象に CETP Taq 1 遺伝子多型と HDL コレステロール、および生活習慣の関連を検討した。B1 のアレル頻度は男性 59.9% (95% 信頼区間: 57.2-62.5%), 女性 60.0% (58.0-62.0%) で、男女間に差はなかった。1 日平均飲酒量が 2 単位 (前出) 未満の男性では Taq 1 遺伝子多型と HDL 濃度に関連はなかったが、1 日平均飲酒量が 2 単位以上の男性では年齢、喫煙、肥満度で調整した B2B2 型の平均調整 HDL が B1B1 型の平均調整 HDL に比べて高かった (B1B1: 52.7 ± 1.2 , B1B2: 55.4 ± 1.2 , B2B2: 57.4 ± 1.9

mg/dl, 平均 \pm SE; $P=0.042$)。女性では飲酒頻度と平均飲酒量が少ないため、飲酒の有無によって 2 群に分けたが、両群とも B2B2 型の女性は他の遺伝子型の女性に比べて平均調整 HDL が有意に高かった (非飲酒群: B1B1: 58.1 ± 0.8 , B1B2: 60.8 ± 0.8 , B2B2: 62.8 ± 1.2 mg/dl, $P<0.001$; 飲酒群: B1B1: 60.4 ± 1.2 , B1B2: 60.4 ± 1.2 , B2B2: 68.9 ± 2.3 mg/dl, $P<0.001$) (図 3)。HDL に対する遺伝子多型と飲酒の影響の相互作用 (interaction) は男性ではなく ($P=0.17$)、女性では有意であった ($P=0.02$)。

図 3 CETP Taq 1 遺伝子多型、HDL (mg/dL)、飲酒の関連



非飲酒群、飲酒群とも B2B2 型の女性は他の遺伝子型の女性に比べて平均調整 HDL が有意に高かった。

喫煙、肥満度は HDL に対して遺伝子多型との相互関連は無かった。

7. β 3 アドレナリン受容体 Trp64Arg 多型とメタボリックシンドロームの関連

β 3 アドレナリン受容体は体脂肪組織において発現され、脂肪分解、熱代謝、代謝速度の制御に関与するとされている。 β 3 アドレナリン受容体遺伝子 Trp64Arg 多型は糖尿病、腹部肥満、インスリン抵抗性および基礎代謝と関連するとの報告が出されているが、これらを否定する報告もある。

本研究では滋賀県 S 町住民の内 30~79 歳で、高血圧・高脂血症・糖尿病治療薬を服用せず、循環器系疾患の既往がない男女 1,416 人 (男性 537 人、女性 879 人) を対象に β 3 アドレナリン受容体遺伝子 Trp64Arg 多型とメタボリックシンドロームの関連について検討した。メタボリックシンドロームの診断基準は 2005 年提唱のわが国の診断基準を用いた。すなわち男性は腹囲 85 cm 以上、女性は腹囲 90 cm 以上の腹部肥満を必須条件として、さらに高血圧 (収縮期血圧 130 mmHg 以上、または収縮期血圧 85 mmHg 以上)、脂質異常 (トリグリセリド 150 mg/dL 以上、または HDL コレステロール 40 mg/dL 未満)、高血糖 (空腹時血糖値 110 mg/dL 以上) の 3 リスクの内 2 つを満たすものをメタボリックシンドロームとした。メタボリックシンドロームの頻度は男性 16.0%、女性 0.9% であった。Trp64Arg 遺伝子多型の頻度は Trp/Trp, Trp/Arg, Arg/Arg の順に男性で 69, 29, 2%; 女性で 67, 29, 4% であり、頻度に性差を認めなかった。また年齢、BMI、腹囲、飲酒頻度、喫煙率、血圧、トリグリセリド、HDL、血糖値に遺伝子多型により異なることはなかった。さらにリスクの合計数と遺伝子多型に関連はなく、多変量 logistic 解析でも β 3 アドレナリン受容体 Trp64Arg 遺伝子多型はメタボリックシンドロームと関連しなかった (オッズ比: 0.94, 95% 信

頼区間: 0.59-1.49, p=0.78)。

〈国内外での成果の位置づけ〉

従来の遺伝子多型と生活習慣病の関連に関する研究では、栄養調査等を含めた詳細な生活習慣に関する情報を得ての検討は行われていなかった。われわれの研究ではこの点にも留意し、これまで興味ある結果を得た。すなわちアルデヒド脱水素酵素2 (ALDH2) 遺伝子多型にだけ注目するとこの多型は高血圧と関連し、ALDH2*1/*1多型の男性は他の多型の男性より有意に血圧が高かった。このことは女性には当てはまらなかった。一方ALDH2多型は当然のことながら男性での飲酒量と強い関連がある。女性では飲酒習慣を有する例が少ないため、この関連は見られない。飲酒量はまた血圧と強い関連があり、両者は正の相関がある。多変量logistic解析結果による高血圧の独立規定因子は男女とも年齢とBMIが高血圧の独立規定因子であり、飲酒量は、男性において高血圧の独立規定因子であったが、女性ではそうではなかった。ALDH2 遺伝子多型は男性、女性とも高血圧の独立規定因子ではなかった。他の遺伝子多型においてもこのような環境因子との相互関連を示すものが多くあることが知られている。たとえばいわゆる塩分感受性遺伝子と高血圧の関連でも同様のことが存在するはずであるが、多くの研究でこのことは無視されている。

従来の疫学調査の限界は、個々人の遺伝素因に基づいた生活習慣改善の指針を示すことができなかった。しかし、われわれの研究では高血圧や脂質代謝異常、その他の動脈硬化促進因子の発現等の遺伝要因を明らかにできるのみならず、個々の遺伝素因を考慮にいれた生活習慣の改善方法を明らかにすることができる。たとえばALDH2*1/*1多型の男性は飲酒量が適度を超える例が多く、高血圧の頻度も高い。従ってその様な例には節酒の指導が必要となる。また一方ヘテロ欠損のALDH2*1/*2多型の男性の中には習慣から中等度の飲酒に耐えられるように適応している例がある。このような場合は上部消化管腫瘍を発生しやすいとの報告も多いため、やはり節酒指導が必要となる。

ACE I/D 遺伝子多型、AGTM235T 遺伝子多型と高血圧の関係は当初のパイオニア研究の結果と反して、研究における対象人数が増加するにつれ否定的な結果が蓄積されて来ているのが国内外の現状である。しかし血圧に影響を与える可能性のある遺伝子多型は極めて多種あり、それらの組み合わせにも注目すべきである。本研究で食塩感受性遺伝子 AGTM235T 多型と α adducin 遺伝子多型の重積効果を検討し、生活習慣に関する感受性が類似する遺伝子多型が重複すると高血圧との関連が示唆されたことは、今後の解析方針に示唆を与えるものと考えられる。

さらに他施設との共同研究によって対象例数を増やすことによって最近高血圧との関与が疑われ出した遺伝子多型についても有意性が示唆されたことは、今後多くの施設のデータをプールして研究を行うことの重要性を認識させた。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

食塩感受性遺伝子を有する対象は食塩摂取を制限する食習慣を先天的に有している可能性があることが解析課程で示唆された。 β -adducin ではそのような報告が存在する。しかしわれわれが既に実施した生活習慣調査では塩分摂取の趣向を調査しているが、実際の塩分摂取量を推測するデータは採取していない。今後の研究プロジェク

トでは生活習慣調査の他に蓄尿・採尿を行い、塩分摂取量を正確に推測できるデータを採取する必要がある。

新たな高血圧発現遺伝子を同定することが出来なかった。血圧値と少しでも関連する遺伝子を認定しても、古典的な高血圧リスク環境因子を超えるものでは決してなかった。また環境因子を介して血圧値を規定するに過ぎなかった。結局のところ高血圧発現遺伝子など存在しないで、環境因子による高血圧発現の感受性が異なる遺伝子多型が存在するのみである可能性がある。しかしながら、このことを追求することは今後テーラーメイド医療の実施に極めて重要であると認識する。

〈今後の課題〉

1. 生活習慣調査の他に蓄尿・採尿を行い、塩分摂取量を正確に推測できるデータを採取する。食塩感受性遺伝子を有する対象は食塩摂取を制限する食習慣を先天的に有している可能性があるためである。このため遺伝子多型と高血圧の関連の報告に不一致を見たり、否定的結論が発表されたりしている可能性がある。
2. 高血圧関連遺伝子の横断的研究のみに限らず、縦断的研究を加えて高血圧関連遺伝子が脳卒中、心筋梗塞の発症とどう関連するか検討していく必要がある。この際、従来実施されてきた症例-対照研究ではバイアスが入りやすいため、コホート研究で検討する必要がある。このため既存コホートの発症登録のデータを含めて解析することが急務である。
3. 生活習慣と類似の交絡を有する可能性のある遺伝子多型が複数重複することによる効果の検討が AGTM235T 多型と α adducin 多型以外にも行う必要がある。
4. メタボリックシンドロームと遺伝子多型についての検討が必要である。 β 3 アドレナリン受容体遺伝子 Trp64Arg 多型について検討したが、他に関連の可能性のある遺伝子多型が存在する。
5. 多施設共同研究の推進。多数の候補遺伝子について多数症例のデータをプールして生活習慣の交絡因子を考慮に入れて解析する。〈研究期間の成果〉4,5の項で既に述べたように、愛媛大学との共同研究により対象例数が増加したため解析パワーが増して環境要因との交絡因子をより精緻に検討できることを経験している。今後共同研究の推進が益々重要となろう。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 1) 論文/プロシーディング (査読付きのものに限る)
- 1 <305021503> Tamaki S, Nakamura Y, Tsujita Y, et al. Polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and blood pressure in a Japanese general population (the Shigaraki Study). *Hypertens Res* 25: 843-848, 2002.
- 2 <303021509> Amamoto K, Okamura T, Tamaki S, et al. The association of low-Km mitochondrial acetaldehyde dehydrogenase genotypes with blood pressure level and the control of hypertension in a general population. *Hypertens Res* 25: 857-864, 2002.
- 3 <305021448> Nakamura Y, Amamoto K, Tamaki S, et al. Genetic Variation in Aldehyde Dehydrogenase 2 and the Effect of Alcohol Consumption on Cholesterol Levels. *Atherosclerosis* 164: 171-177, 2002.
- 4 Tamaki S, Nakamura Y, Tabara Y, Okamura T, Kita Y, Kadowaki T, Tsujita Y, Horie M, Miki T, Ueshima H. Combined analysis of polymorphisms in

angiotensinogen and adducin genes and their effects on hypertension in a Japanese sample: The Shigaraki Study. *Hypertens Res* 28: 645-650, 2005