

原 著

Pseudocholinesterase の 検 討

第 I 編 日本人における Atypical Cholinesterase の
存在頻度について

前 田 暹

信州大学医学部麻酔学教室 (主任: 清野誠一教授)

Studies on the Pseudocholinesterase

I On the Incidence of Atypical Pseudocholinesterase in Japanese

Noboru MAEDA

The Department of Anesthesiology, Faculty of Medicine,
Shinshu University

(Director: Prof. S. KIYONO)

【I】緒 言

全身麻酔の際に多用される脱分極性筋弛緩剤 Succinylcholine Chloride (以下 S. C. C.) は血漿中に存在する Pseudocholinesterase (Acylcholine Acylhydrazase) によって, Choline と Succinylmono-choline にすみやかに分解され¹⁾²⁾³⁾⁴⁾¹⁵⁾, 後者は, さらに同一酵素により比較的緩徐に, Succinic acid と Choline に分解され不活性化される⁶⁾¹⁶⁾。したがって, 臨床的に, 0.6~0.8 mg/kg の S. C. C. を静脈注射すれば, 通常数分間でその作用は消失する。

Pseudocholinesterase (以下 Pseudo Ch E.) あるいはその前駆酵素は肝臓で生成されると考えられるが⁷⁾, その生理的機能は不明である⁸⁾。肝障害, 重症貧血, その他の消耗性疾患の際, Ch E. 活性値は低下すると報告されている⁹⁾¹⁰⁾¹⁴⁾。しかし, これら原因となる種々の疾患がなくても, 投与後, 30分以上の長時間の遷延性無呼吸がおこった症例が諸外国に多くみられる¹¹⁾¹²⁾¹³⁾。

その原因として種々の因子が考えられたが, 1953年 Forbat ら¹⁶⁾, 1956年 Allot ら¹⁷⁾, また, Lehmann ら¹⁸⁾により, 特異的に Pseudo Ch E. 活性値の低いものが家族的に存在することが報告され, Pseudo Ch E. の先天的質的異常の存在が問題となった。1957年 Kalow ら¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾は, 局所麻酔剤, Dibucaine が正常酵素の活性を約80%抑制するが, この抑制をほとんど受けない Atypical Pseudo Ch E. を報告し, Dibucaine による抑制の程度により, Pseudo Ch E. を分類する方法を発表した。

すなわち, Dibucaine の抑制が70%以上を Usual type, 30%以下を Atypical type とし, この中間の値をしめすものを Intermediate type とし, その百分率を Dibucaine Number (以下 DN) と称することを提唱した²⁴⁾。DN 20前後をしめす Atypical Ch E. は, その活性値が異常に低く, S. C. C. に対して高い感受性をしめす。Kalow は相対するたがいに優性でない一対の遺伝子により, 支配されると考えた²⁷⁾。

1961年, Harris ら²⁸⁾²⁹⁾は, Sodium fluoride により正常酵素にくらべて, 活性阻害をうける程度の少ない別の変異型 Pseudo Ch E. を見つけ, DN にならないうて, Fluoride Number (以下 FN) と称した。すなわち, FN 50以上を正常型, 30以下を変異型とし, その中間に属するものを中間型とした。

1962年 Liddell ら³⁰⁾は, Pseudo Ch E. 活性を全く欠く家族を報告し, これを Silent 遺伝子を有するものとした。

以上のように, 現在までに明らかにされた人間の血漿 Pseudo Ch E. を支配する遺伝子 (E_i) の主なものは, E_i^u (Usual 遺伝子), E_i^a (Atypical 遺伝子), E_i^s (Silent 遺伝子), E_i^f (Fluoride 耐性遺伝子) の4種であり, その組合せは理論的には10種類と考えられる³¹⁾。そのうち, $E_i^u E_i^u$, $E_i^s E_i^s$ の異常同型接合体および $E_i^s E_i^u$ の異型接合体の3種は, S. C. C. に対する感受性もっとも高い。また, $E_i^f E_i^f$, $E_i^a E_i^f$, $E_i^f E_i^s$ も S. C. C. に感受性を示すとされている³¹⁾。

最近, Whittaker ら³⁷⁾により, Sodium chloride による阻害率の差により見いだされる亜型が報告されて

いる。また、n-Butylalcoholを阻害剤とする新しい亜型の存在の報告³²⁾³³⁾もあり、これらはS.C.C.にかなりの感受性をしめすという。我国においてはOmotoら³⁴⁾が250名の日本人の血漿のDNを検討した報告、岩月ら³⁵⁾の320名についておこなったものがあるが、対象が少数であり、日本人にAtypical Ch E.を有するものがどの程度存在するか明らかではない。著者は、日本人の異型血漿 Ch E.の存在頻度を明らかにする目的で、2006人の健康人を対象にDN, FNを測定し、あわせて、血漿 Ch E. 活性値を測定したのでその結果を報告する。

〔II〕 方 法

信州大学附属病院輸血部に供血にきた健康成人(17才~73才)の2006人(男1208人, 女798人)を対象とした。

採血直後、採血管中に残存する血液2mlをヘパリン結晶粉末約0.1mgを入れた小試験管に採取し、氷冷ジャー内に入れて測定室にはこび、ただちに血漿を分離した。分離した血漿は測定まで0°Cに保存し、採血後42時間以内に測定をおこなった。予備実験において、同一人血漿について24時間おきに一週間連続して測定したところ、その値の再現率は±2%の範囲内であった。

DNの測定法はKalowら³⁴⁾の方法に従った。また、FNはHarrisら³⁶⁾の方法に従った。全て溶液はM/15リン酸緩衝液(pH 7.4)を用いた。

Benzoylcholine chloride (Ciba co.)の $2 \times 10^{-4}M$ 溶液を基質液として常に0°Cに保存し、一週間ごとに再調製した。Benzoylcholine chlorideの結晶は硫酸入デシケーター中に0°Cに保存したものを持ちいた。抑制剤Dibucaineは $4 \times 10^{-5}M$ 溶液を保存液とし、弗化ソーダー(FNa)も同濃度溶液を持ちいた。血漿をM/15リン酸緩衝液で100倍に希釈し、これを酵素溶液とした。

基質溶液と抑制剤溶液の等量混合液、基質溶液と緩衝液の等量混合液および緩衝液のみの3種の液を2mlづつ試験管にとり、20分間、26°C恒温槽中に放置し、同様に26°Cにたもった酵素100倍希釈液の2mlを測定直前に3種類の液と混合し、酵素溶液の2倍希釈液を、Optical Blankとして日立分光々度計(UV-VIS 139型)により、240mμにおいて基質分解にともなう吸光度の減少を正確に3分間測定した。日立ジャケット型恒温セル室を分光々度計に附設し、測定中、電子恒温槽より26°Cの水を循環させ、セル室の温度を一定にした。反応開始後、5分間以上の吸光度の減少を

自記分光々度計により記録したものを図1にしめした。

血漿 Ch E. 活性値は、柴田、高橋らのフェノールレッド指示薬比色 pH 測定法によった³⁸⁾。

Pseudo Ch E. 活性値はΔpHでしめされる。

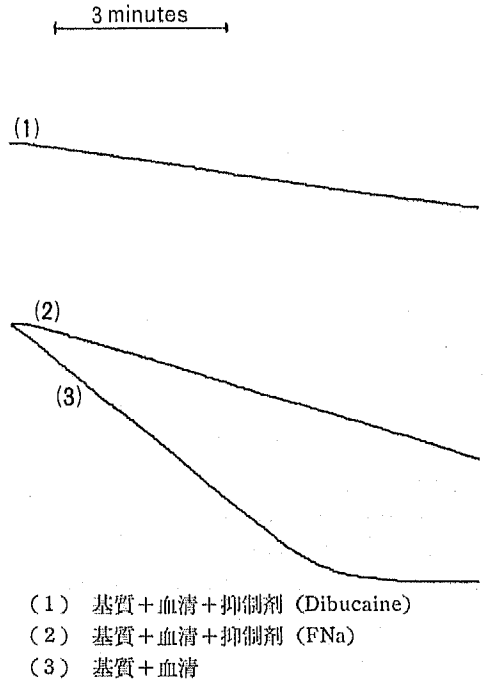


図1. 吸光度曲線

〔III〕 結 果

表1にしめしたように、DNが70以上、すなわち、Usual Pseudo Ch E.をしめしたものが、2006人中1997人で、DNの平均は 82 ± 3 (S.D.)であった。男女別の平均はそれぞれ、 82 ± 3.2 , 82 ± 2.8 であった。DNが70から30の間のもの、すなわち、Intermediate typeをしめしたものは9人で、その平均は 65 ± 3 であった。これは全体の0.4%である。またDNが30以下をしめすAtypical typeのものはみられなかった。

図2はDibucaine Numberのヒストグラムをしめしたものである。

上記の測定と同時にFNを測定したもの、1314人のうち、FNが50以上の正常型をしめしたものが1265人あり、その平均は 61 ± 2 であった。FNが50と30の間の中間型に属するものは46人にみられた。FNが30以下の変異型は3人みられた。図3は、Fluoride Numberのヒストグラムをしめした。

表 1 Dibucaine Number (Kalow) による Pseudocholinesterase の分類

Phenotype	No. of Individuals	Dibucaine Number mean \pm S. D.
Usual	1997	82 \pm 3
Intermediate	9	65 \pm 3
Atypical	0	—

第2表は DN と FN の相関図表であるが、DNが70以上のうち、FN が中間型をしめたものが43人、DN, FN ともに中間型をしめたものが3人、DN が中間型で FN が変異型のもものが3人であった。

表 2 Dibucaine Number と Fluoride Number との相関

Fluoride Number	Dibucaine Number		
	Atypical	30 Intermediate	70 Usual
50	0	0	1265
30	0	3	43
	0	3	0

Ch E. 活性値の測定結果を図4にしめた。その平均値は 0.83 ± 0.19 であった。

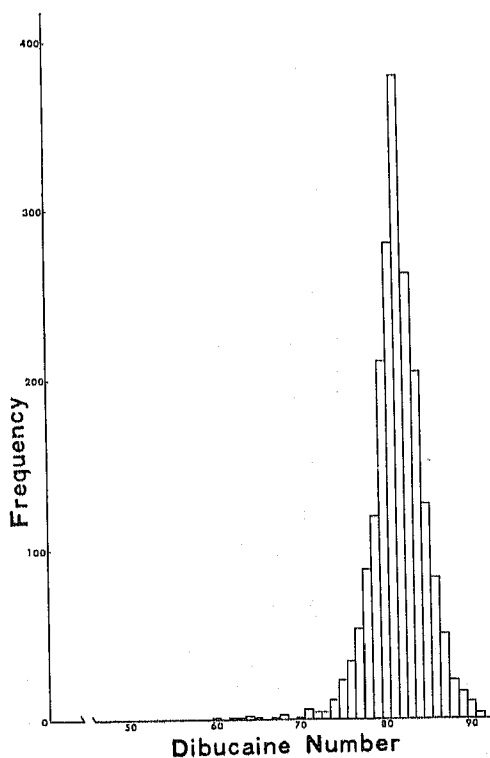


図 2. Dibucaine Number の頻度

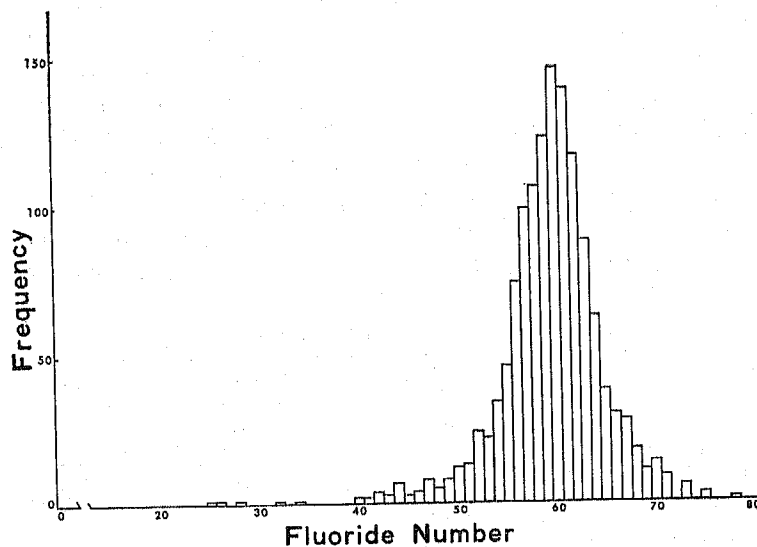


図 3. Fluoride Number の頻度

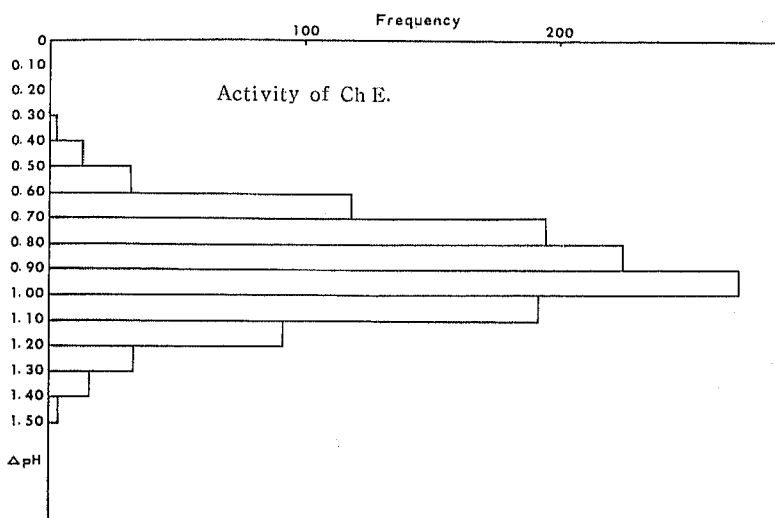


図 4. Ch E. 活性値

【IV】考 按

Kalow ら²⁵⁾が健康なカナダ人2017人について、DNを調べた結果、Intermediate type は74人、全体の3.8%であり、Atypical type は約0.03%であったと報告した。Kattamis ら²⁶⁾は、イギリス人703人中27人にIntermediate typeを見出し、その率は3.8%でKalow らの成績とまったく同率である。その他各国人種についてしらべられた結果を表3に示した。このように白人種は3~4%に中間型がみられる。

Omoto ら³⁴⁾が日本人250人について、測定した結果では、Intermediate type, Atypical type は見られなかったとした。FN では中間型をしめたものが数人みられたと報告している。また、岩月、青葉ら³⁵⁾が320人の患者および健康人について検討したところ、Atypical type はみられなかったが、Intermediate type が11人みられ、これは約3.4%であり欧米諸国の結果とほぼ同率であることから、日本人も約3000人に1人はAtypical type が存在するであろうと推測し

ている。しかし、著者の検討の結果では、2006人中Intermediate type に入ったものは9人のみで全体の約0.44%である。この頻度から Hardy-Weinberg の式に従って推定すれば、約10万人に1人がAtypical Ch E. を有するにすぎない。この結果は欧米諸国のAtypical Ch E. の存在率 3000:1 にくらべて非常に少ないものである。これは、日本人は元来、Atypical 遺伝子の少ない民族であるのか、あるいは、著者の研究対象が、長野県という限られた地域に住む人のみであったためか、またこの結果をそのまま日本人全体の平均的存在率としてよいかは今後検討を要する。

FN について日本人を対象にした研究は、現在までのところ、Omoto ら³⁴⁾の報告があるにすぎない。著者の検討した結果では、中間型と思われるものが全体の3.5%、また、Fluoride 耐性をしめす変異型が0.3%であった。

FN が中間型をしめす46人中、DN が Usual type であったものが43人あり、この遺伝子型を推定すれば、

表 3 The Incidence of Atypical Pseudocholinesterase

Population	No. examined	No. heterozygous	Frequency %
Jews ²⁶⁾	393	25	6.3
Canadian ³⁷⁾	2017	74	3.8
British ²⁶⁾	703	27	3.8
Greek ²⁶⁾	360	13	3.6
Portuguese ²⁶⁾	179	6	3.4
Berber ²⁶⁾	55	2	3.6
Moroccan Jews ²⁶⁾	51	1	2.0
Japanese	2006	9	0.4

$E_1^u E_1^f$ と考えられる。また、DN が Intermediate type の範囲に入ったものが3人あり、遺伝子型は $E_1^u E_1^u$ と思われる。

FN が30前後をしめた3人は $E_1^f E_1^f$ と想像される。これらの家系的検索はおこなっていない。

血漿 Ch E. 活性値においては、Liddell ら³⁰⁾の報告した Silent 遺伝子を有する Pseudo Ch E. 活性値のまったく認められないものには遭遇しなかった。また、血漿 Ch E. 活性値と DN, FN とは相関々係は認められなかった。

【V】 結 論

著者は日本人の Atypical Pseudocholinesterase を有する者の頻度を明らかにするために、2006人の健康成人を対象として DN を検討したところ、欧米諸国の出現頻度より著しく少なく、約10万人に1人の可能性を認めたにすぎなかった。また、同時に FN を検討した結果、日本人にも Fluoride 耐性変異酵素の存在が、欧米人と同様に存在する可能性があることがわかった。また、DN, FN は血漿 Ch E. 活性値と相関々係は少ないことをみとめた。

以上の結果から、日本人で S. C. C. 感受性の著しい症例に遭遇する機会はきわめてまれであると考えられる。

なお、本研究の試料の採血にあたり、ご協力頂いた信州大学附属病院輸血部各位に感謝いたします。

文 献

- 1) Bovet-Nitti, F : Degradazione di Alcune Sostanze Curarizzanti per Azione di Cholinesterasi. *Ist. Super. San.*, 12 : 138, 1949.
- 2) Whittaker, V. P., et al. : The hydrolysis of succinylcholine by cholinesterase. *Biochem. J.*, 52 : 475, 1952.
- 3) Foldes, F. F., et al. : The Fate of succinylcholine in man. *Anesthesiology*, 16:11, 1955.
- 4) Surgenor, D. M. and Ellis, D. : Preparation and properties of serum and plasma proteins: Plasma cholinesterase. *J. Amer. Chem. Soc.*, 76 : 6049, 1954.
- 5) Clitherow, J. W., et al. : The possible biological function of pseudocholinesterase. *Nature (Lond.)*, 199 : 1000, 1963.
- 6) Greenway, R. M. and Quastel, J. H. : Hydrolysis of succinylmonocholine by a liver esterase. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 90 : 72, 1955.
- 7) Lehmann, H. and Simmons, P. H. : Sensitivity to suxamethonium apnea in two brothers. *Lancet*, 981, 1958.
- 8) Maier, E. H. : Serum -Cholinesterase und Leber- Erkrankungen. *Dtsch. Med. Wschr.*, 81 : 1674, 1956.
- 9) Kommerell, B., et al. : Über die Serumcholinesterase-Aktivität bei Lebererkrankungen. *Dtsch. Med. Wschr.*, 81 : 1959, 1956.
- 10) Croff, P. B. : Abnormal responses to muscle relaxants in carcinomatous neuropathy. *Brit. Med. J.*, 1 : 181, 1958.
- 11) Stoddart, J. C. : The suxamethonium-pseudocholinesterase relationship. *Brit. J. Anaesth.*, 32 : 466, 1960.
- 12) Bourne, J. G., et al. : Succinylcholine. Muscle relaxant of short action. *Lancet*, 1 : 1225, 1952.
- 13) Evans, F. T., et al. : Sensitivity to succinylcholine in relation to serum-cholinesterase. *Lancet*, 1 : 1229, 1952.
- 14) Robertson, G. S. : Serum cholinesterase deficiency I : disease and inheritance. *Brit. J. Anaesth.*, 38 : 355, 1966.
- 15) Tsuji, F. F., et al. : The hydrolysis of succinylcholine chloride in human plasma. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 104 : 146, 1955.
- 16) Forbat, A., et al. : Prolonged Apnea following succinylcholine. *Lancet*, 2 : 1067, 1953.
- 17) Allot, E. N. and Thompson, J. C. : The familial incidence of low pseudocholinesterase level. *Lancet*, 2 : 517, 1956.
- 18) Lehmann, H. and Ryan, E. : The familial incidence of low pseudocholinesterase level. *Lancet*, 2 : 124, 1956.
- 19) Kalow, W. : Relationship of plasma cholinesterase to response to clinical doses of succinylcholine. *Canad. Anaesth. Soc. J.*, 3 : 22, 1956.
- 20) Kalow, W. : Familial incidence of low pseudocholinesterase level. *Lancet*, 2 : 576, 1956.
- 21) Kalow, W., et al. : Qualitative variation of serum cholinesterase activity in man as defined by debucaine numbers. *Fed. Proc.*,

- 15 : 444, 1956.
- 22) Kalow, W. and Gunn, D. R. : The relationship between dose of succinylcholine and duration of apnea in man. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 120 : 203, 1957.
- 23) Kalow, W. and Lindsay, H. : Abnormal behavior of human serum cholinesterase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 116 : 34, 1956.
- 24) Kalow, W. and Genest, K. : A method for detection of atypical forms of human serum cholinesterase. Determination of dibucaine numbers. *Canad. J. Biochem.*, 35 : 339, 1957.
- 25) Davies, R. O., et al. : The action of normal and atypical cholinesterase of human serum upon a series of esters of choline. *Canad. J. Biochem.*, 38 : 545, 1960.
- 26) Kattamis, C., et al. : Frequency of atypical pseudocholesterase in British and Mediterranean Populations. *Nature*, 196 : 599, 1962.
- 27) Kalow, W. and Gunn, D. R. : Some statistical data on atypical cholinesterase of human serum. *Ann. Hum. Genet.*, 23 : 239, 1959.
- 28) Harris, H. and Whittaker, M. : Differential inhibition of human serum cholinesterase with fluoride. *Nature (Lond.)*, 191:496, 1961.
- 29) Harris, H., et al. : General studies on a new variant of serum cholinesterase detected by electrophoresis. *Ann. Hum. Genet., Lond.* 26 : 359, 1963.
- 30) Liddell, J., et al. : A silent pseudocholesterase gene. *Nature (Lond.)* 193 : 561, 1962.
- 31) Whittaker, M. : An additional pseudocholesterase phenotype occurring in suxamethonium apnea. *Brit. J. Anaesth.*, 40 : 579, 1968.
- 32) Whittaker, M. : Differential inhibition of human serum cholinesterase with n-butylalcohol. Recognition of new phenotypes. *Acta. Genet., Basel*, 18 : 335, 1968.
- 33) Whittaker, M. : The pseudocholesterase variants. Differentiation by means of alkyl alcohols. *Acta. Genet., Basel*, 18 : 325, 1968.
- 34) Omoto, K. and Goedde, H. W. : Pseudocholesterase variants in Japan. *Nature (Lond.)*, 205 : 726, 1965.
- 35) 岩月賢一・他 : Atypical cholinesterase の検討. *麻醉*, 16 : 766, 1967.
- 36) Szeinberg, A., et al. : Atypical pseudocholesterase and sensitivity to suxamethonium in Jewish subjects. *Israel. M. J.*, 22 : 137, 1963.
- 37) Whittaker, M. : The pseudocholesterase variants. Differentiation by means of sodium chloride. *Acta. Genet., Basel*, 18 : 556, 1968.
- 38) 高橋 浩・柴田 進 : 臨床検査に使用できる簡単な血清ヒヨリンエステラーゼ定量法, *医学と生物学*, 20 : 96, 1951.

(昭和44年12月15日 受付)