〔原 著〕

健康人における血清コリンエステラーゼ C₅変異の推定頻度

内山克己*・須藤加代子*

池田清子**・井川幸雄*

SUMMARY

We examined the distribution of C₅ variant among 310 sera from healthy individuals. The frequency of the C₅ variant was 2.3 % and was similar to that in all Negro and Korea samples. The ChE activity for the C₅ variant among healthy individuals was from 458 to 710U/l. Three cases of them showed lower ChE activity than 573U/l (mean+1SD of C₅-individuals). These results suggest that we must try to detect the C₅ variant not only in high ChE activity sera but also in low ChE activity sera. We calculated the ratio of ChE activity to Alb (ChE/Alb) and then tried to detect the existence of C₅ variant among the samples. However, it was difficult to detect the existence of the C₅ variant completely. At present, our simple ChE activity staining method following PAG electrophoresis is most useful for detecting the C₅ variant.

Key words : serum cholinesterase, genetic variants, pharmacogenetics, cholinesterase variant

はじめに

血清コリンエステラーゼ (ChE; EC 3.1.1.8) は肝臓で合成されることから、肝機能検査特に肝での蛋白合成能の指標として広く用いられている。また、本酵素は筋弛緩剤などの薬物代謝に携わることから、薬理遺伝病という観点で遺伝的変異が知られている¹⁾。染色体3番の長腕に存在する E₁ locus には、正常遺伝子 (Usual) に対し、Atypical gene (A 型)²⁾、Fluoride resistant gene (F 型)³⁾、Silent gene (S 型)⁴⁾の3種の対立遺伝子の存在が報告されている。1962年、Harris⁵⁾

は血清の2次元電気泳動を行い、通常陽極より C₁C₂C₃ および C₄ の4個の ChE アイソザイム (1~4 量体) を分画するが、まれに C₄ よりも陰極側に5番目の band が分画することを見出した。C₅ 変異は E₂ locus に存在し、non allelic に支配されている。この C₅ 変異は高 ChE 血症であり、抗 ChE 剤に抵抗するといわれている⁶⁾。著者らは、患者血清を用いて ChE 変異のスクリーニングを行い報告した⁷⁾。ChE 変異をより正確に把握し個人の正常域という観点から、今回慈恵医大病院献血者310名の血清を用い、健康人における ChE の C₅ 変異について検討した。

Incidence of serum cholinesterase C₅ variant among healthy individuals.

Katsumi Uchiyama*, Kayoko Sudo*, Kiyoko Ikeda** and Sachio Ikawa*

*東京慈恵会医科大学臨床検査医学; Department of Laboratory Medicine, school of Medicine Jikei University

**同上 附属病院中央検査部: Central Clinical Laboratories, Jikei University Hospital

Correspondence address: Katsumi Uchiyama, Department of Laboratory Medicine, School of Medicine Jikei University, Minato-ku, Tokyo 105, Japan.

(受付 1987年8月7日, 受理 1987年9月1日)

方 法

1. ChE 活性測定

o-toluoetylcholine を基質とした方法 (デタミナー ChE-S: 協和醸酵) で, ザ, パラレル (日本モニター) 自動分析機を用いて 37°C で測定した。

2. Alb の測定

Albumin Buffered Dye Kit (日本モニター) の bromocresol green 法で, ザ, パラレル自動分析機を用いて測定した。

3. Polyacrylamide gel (PAG) 電気泳動による C_s変異検出

7.5% PAG 1mm 平板を支持体とし, スラブディスク電気泳動装置 (SJ-1060・SDH 型: アトー) を用い, 4°C にて電気泳動した。泳動後の ChE 活性染色は, 前川らの方法⁹⁾を用いた。染色時間は, 約 30 分行い, 脱色は 2~3% 酢酸で行った。

結 果

1. C_s変異検出とその活性

健常人における C_s変異は 310 例中 7 例にみられ, その検出率は 2.3% であった。310 例の ChE 活性ヒストグ

ラムを Fig. 1 に示した。左側のヒストグラムは C_s変異ではない 303 例について, 右側のヒストグラムは C_s変異であった 7 例についてそれぞれ示した。C_s変異 7 例の ChE 活性は 458~710 U/l であった。また, C_s変異ではない 303 例の mean $\pm$ 2SD は 306~662 U/l であり, 573 U/l (mean + 1SD) 以上の ChE 活性をもつ C_s変異例は 4 例 (57.1%) であった。同じく 662 U/l (mean + 2SD) 以上の ChE 活性をもつ C_s変異例は 2 例 (28.6%) であった (Table 1)。

2. ChE/Alb による C_s変異検出

310 例の ChE/Alb のヒストグラムを Fig. 2 に示した。C_s変異ではない 303 例の mean $\pm$ 2SD は, 64~136 であった。Table 1 に示したように, C_s変異ではない例の 118 (mean + 1SD) 以上には, 5 例の C_s変異が存在しその検出率は 9.6% であった。また, 136 (mean + 2SD) 以上には, 2 例の C_s変異が存在しその検出率は 16.7% であった。

考 察

健常人 310 例中 C_s変異は 7 例であり, 出現率は 2.3% であった。ChE 変異の頻度には, 地理的あるいは人種の差がみられる⁹⁾。C_s変異出現率 2.3% は, 黒人の 2.2%, 韓国人の 2.1% に類似し, 欧米の白人の 8.1% にく

Fig. 1. Histograms of ChE activity among 310 healthy individuals

□ : C_s- individuals (n=303)
 ▨ : C_s+ individuals (n=7)

らべると低い。松田¹⁰⁾および著者ら⁷⁾が報告した患者血清での C_s変異スクリーニングでは、それぞれ24.4%、6.8%と高値を示した。患者と健常人での頻度が異なることは、C_s変異の存在と疾病とが無関係でないと思われ、C_s変異の検出がより臨床評価に重要であると思われた。C_s変異の多くは、高 ChE 活性を示すとい

われている^{5,6)}。しかし、著者らは患者血清を用いた検索で、C_s変異例の50%が正常域あるいは低活性にあると報告した⁷⁾。今回検索した健常人の血清では、ChE 活性が 662U/l (C_s変異ではない例の mean+2SD) 以下の C_s変異例は 5 例であり、健常人においても高活性のみでない C_s変異の検出は重要であることが示された。

Table 1. Incidence and sensitivity of ChE C_s variant

$$\text{Incidence (\%)} = \frac{\text{detected C}_s + \text{individuals}}{\text{detected C}_s + \text{and C}_s - \text{individuals}} \times 100$$

$$\text{Sensitivity (\%)} = \frac{\text{detected C}_s + \text{individuals}}{\text{all C}_s + \text{individuals}} \times 100$$

	C5+ and C5- individuals	C5+ individuals	Incidence %	Sensitivity %
Total	310	7	2.3	100
573U/l < ChE	52	4	7.7	57.1
662U/l < ChE	9	2	22.2	28.6
118 < ChE/Alb	52	5	9.6	71.4
136 < ChE/Alb	12	2	16.7	28.6

Fig. 2. Histograms of ChE/Alb activity among 310 healthy individuals

□ : C_s- individuals (n=303)
 ▨ : C_s+ individuals (n=7)

泉ら¹¹⁾は、検査データの矛盾の解析という観点より、Alb/ChE によるスクリーニング法が C_s変異の検出に有効であると報告している。健常人の検索では、ChE/Alb が136 (C_s変異ではない例の mean+2SD) 以上における C_s変異出現頻度は16.7%であり、全 C_s変異例中28.6%の検出感度であった。出現頻度は、泉らの結果よりも低かった。C_s変異の検出には、現在のところ PAG 電気泳動後の ChE 活性染色による方法が最も有効であると考えられるが、スクリーニングとしては操作がやや煩雑であり検体処理能力が低い。近年、ChE probe が報告されており¹²⁾、遺伝子レベルの ChE 変異の研究が可能となってきた。今後、より簡便な C_s変異の検出法の開発が期待される。臨床検査の正しい把握および個人の筋弛緩剤の投与量の決定などにおいて、C_s変異の検出は重要であるが、健常人における ChE 変異の検索により、ChE 測定の臨床評価の重要性がより明らかになったと思われる。

まとめ

慈恵医大病院献血者310名の血清を用いて、健常人における血清 ChE の C_s変異の頻度について検討した。C_s変異例は310例中7例 (2, 3%) に見い出され、黒人や韓国人の頻度に類似し、欧米の白人のそれにくらべ低かった。また、患者における頻度よりも低く、C_s変異の存在と疾病とが無関係でないと推定された。C_s変異の ChE 活性は、高値を示すといわれている。健常人の C_s変異7例中3例は、ChE 活性が573U/l (C_s変異ではない例の mean+1SD) 以下であり、必ずしも C_s変異例は高 ChE 活性のみでないことが明らかとなった。今回は ChE/Alb によるスクリーニング法で C_s変異の

検出を試みたが、その出現頻度は低く、現在では PAG 電気泳動後 ChE 活性染色をするという方法が最良であることがわかった。しかし、スクリーニングとしては操作がやや煩雑であり、今後より簡便な C_s変異の検出法の開発が期待される。健常人における C_s変異の検索により、ChE 測定の臨床評価がより重要であると思われる。

本論文の要旨は、XIV World Congress of Anatomic and Clinical Pathology (Washington, DC, USA, 1987)において発表した。また、研究費の一部は科学研究費補助金 (奨励研究 A : 62771990) によった。

文 献

- 1) Evans, F. T. et al. : Lancet, 1 : 1229, 1952.
- 2) Kalow, W. and Genest, K. : Canad. J. Biochem. Physiol., 35 : 339, 1961.
- 3) Harris, H. and Whittaker, M. : Nature, 191 : 496, 1961.
- 4) Liddle, J. et al. : Nature, 193 : 561, 1962.
- 5) Harris, H. et al. : Nature, 196 : 1296, 1962.
- 6) Neitlich, H. W. : J. Clin. Invest., 45 : 380, 1966.
- 7) 内山克己, 他 : 臨床病理, 35 : 774, 1987.
- 8) Masato, M. et al. : Clin. Chem. Acta, 164 : 241, 1987.
- 9) Steegmüller, H. : Humangenetik, 26 : 167, 1975.
- 10) 松田信義 : 臨床病理, 32 : 376, 1984.
- 11) 泉 正和, 他 : 臨床病理, 29 : 90, 1981.
- 12) Ladu, B. and Lockridge, O. : Fed. Proceed. 45 : 2965, 1986.