

韓國人 血清 Cholinesterase에 關한 研究

Study on the Pseudocholinesterase in Korean

서울大學校 醫科大學 藥理學教室

林 定 圭 · 金 明 石 · 朴 贊 雄

緒 論

全身麻酔와 더불어 外科의 手術時에 骨 骼筋弛緩劑로서 널리 利用되고 있는 Succinylcholine은 血清內의 Cholinesterase에 依하여 加水分解되어 Succinylmonocholine과 Choline을 生成한다. Succinylmonocholine은 이어서 같은 過程으로 加水分解되어 Succinic acid와 Choline을 生成하게 되는 것이다(Whittaker, V.P. and Wijesundra, S 1952). 이같은 Succinylcholine의 加水分解에 關與하는 血清內 Cholinesterase는 Pseudocholinesterase라고 하며 이는 Choline ester와 noncholine carboxylic ester 들을 加水分解하는 Cholinesterase의 一種이다. 血清 Pseudocholinesterase의 活性이 낮으므로 해서 Succinylcholine을 使用한 患者에서 遲延性 無呼吸을 일으키게 되는 것은 오래前부터 알려진 事實이다(Bourne, J. G. et al., 1952, Evans, F. T. et al., 1952).

Kalow等(1956, 1957)은 Succinylcholine을 使用하였던 患者中 遲延性無呼吸을 보인 경우들을 檢索하여 非定型 Cholinesterase가 存在함을 알게 되었다. 非定型 Cholinesterase는 定量的인 差異뿐 아니라 定性的인 差異도 있어서 Pseudocholinesterase의 抑制劑인 Dibucaine 또는 Sodium fluoride에 對한 抑制制度의 差異를 보인다고 한다(Kalow, W. 1959). 血清 Pseudocholinesterase의 Dibucaine에 依한 抑制程度를 Dibucaine number(DN)라고 하며 Sodium fluoride에 依한 抑制程度는 Fluoride number(FN)라고 하는데 이들 DN과 FN의 分布는 不連續性인 三頂曲線型의 分布를 나타내며 이는 遺傳的인 세가지 表現型으로서 正常型, 中間型, 非定型으로 區別된다고 한다. 이와같은 非定型 Pseudocholinesterase는 世界的으로 分布되어 있어서 表現型의 出現 頻度로부터 Hardy-Weinberg의 法則에 따라 推算하면

非定型을 決定지워주는 遺傳因子의 頻度는 全人口의 約 2%程度가 될 것이라고 한다(Lehman, H., and Liddell, J. 1964).

이에 著者들은 서울大學校 醫科大學 附屬病院에 來院한 患者들을 對象으로 Pseudocholinesterase의 非定型 出現率과 그 分布를 알아보고자하여 本實驗을 施行하여 얻은 結果를 報告하는 바이다.

實 驗 方 法

1) 實驗對象

1977年 4月부터 1978年 3月까지 滿 1年間 서울大學校 醫科大學 附屬病院에 來院한 患者 1,284名을 疾病에 關係없이 無作爲로 擇하였다.

2) 血清 Pseudocholinesterase 活性測定

Esterase 活性은 Benzoylcholine을 基質로 하여 240nm에서 ultraviolet spectrophotometry로 Hitachi-Perkin-Elmer spectrophotometer를 使用하여 測定하였다.

모든 實驗은 正確하게 26°C로 유지되도록 하였으며 photometer의 absorption cell compartment도 26°C를 유지하도록 Constant temperature circulating pump 로 溫度를 調節하였다.

基質液은 1/15M phosphate buffer(pH 7.4)로 Benzoylcholine 10^{-4} M이 되도록 만들었으며 酵素液은 血清을 1:100으로 희석하여 만들었다. 基質液 2ml와 酵素液 10ml를 재빨리 混合하고 正確히 40秒後부터 吸光度測定을 시작하여 4分間의 變化를 記錄裝置에 記錄하고 Esterase의 活性은 1/15M phosphate buffer 2ml에 酵素液 10ml를 加한 것을 對照로 Benzoylcholine의 加水分解 程度를 算出하였다. 血清 Cholinesterase 活性單位는 3分間에 加水分解된 Benzoylcholine의 量으로부터 Kalow와 Lindsay(1955)의 方法으로 算出하여 μ mole/ml serum/hr로 表示하였다.

3) DN과 FN 測定

<本 研究은 1977年度 文敎部 研究造成費에 依하여 이루어 졌음>

DN의 測定은 Kalow와 Genest(1957)의 方法에 따라 上記한 標準 Cholinesterase 活性測定에서 $10^{-5}M$ 의 Dibucaine에 依하여抑制되는 Cholinesterase活性도를 百分率로 表示하였다. 即 Dibucaine number= $\%$ inhibition= $100 \times [1 - (\text{decrease of absorbance in the presence of Dibucaine} / \text{uninhibited decrease of absorbance})]$

FN은 DN을 測定할 때와 똑같은 方法으로 $10^{-5}M$ 의 Dibucaine 대신 $5 \times 10^{-5} M$ 의 Sodium fluoride를 代置하였을 때 抑制되는 Cholinesterase活性을 百分率로 表示하였다(H. Harris, and M. Whittaker, 1961).

結 果

서울대학病院에 來院한 患者 1284名을 對象으로 血清 Cholinesterase活性과 DN 및 FN의 分布를 보면 그림 1, 2와 같으며 DN으로 볼 때 正常 Cholinesterase인 경우가 1248名으로 97.2%를 차지하고 있으며, 平均 DN은 82.89 ± 6.63 이었고 中間型이라고 볼 수 있는 DN 31~60사이의 경우는 28名으로 2.18%였다. 그리고 非定型 Cholinesterase를 가졌다고 볼 수 있는 DN 30以下인 사람은 8名으로 0.62%이었다.

한편 FN을 볼때 正常이라고 認定되는 FN 50以上인 患者는 1228名으로 95.64%이었으며, 中間型은 46名으로, 3.58%, 그리고 非定型인 경우는 10名으로 0.78%이었다(표 1).

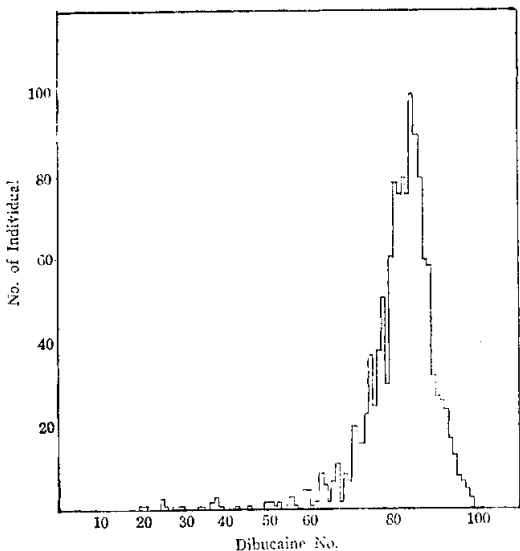


Fig. 1 Frequency distribution of DN's in randomly selected 1,284 patients.

Table 1. Observed distribution of DN and FN in 1284 patients

	No. of Case(%)	F.N.±S.D
10-30	10(0.78)	17.90±6.15
31-50	46(3.58)	42.46±5.51
50<	1228(95.64)	73.53±8.46
	No. of Case(%)	D.N.±S.D
10-30	8(0.62)	25.50±3.59
31-60	28(2.18)	49.36±8.97
60<	1248(97.20)	82.89±6.63

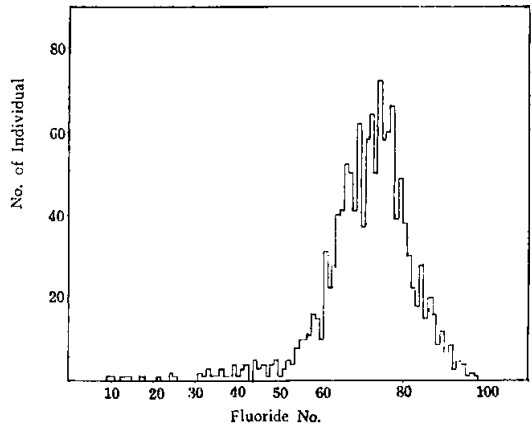


Fig. 2. Frequency distribution of FN's in 1,284 patients.

DN과 FN이 모두 正常인 사람은 全體의 94.7%인 1,216名으로서 平均 Cholinesterase活性은 $128.96 \pm 55.15 \mu\text{mole/ml serum/hr}$ 이었다.

考 察

生體에는 加水分解 酵素로서 여러가지 Esterase가 存在하며 이중 가장 잘 알려져 있는 것이 Cholinesterase이다. 포유류 및 대부분의 척추동물에서는 Cholinesterase를 크게 두 가지로 나눌 수 있어서 Acetylcholinesterase와 Pseudocholinesterase라고 하는데 一般적으로 Cholinesterase라고 하면 Pseudocholinesterase를 말하게 된다.

Mendel과 Rudney(1943)는 처음으로 Cholinesterase는 Benzoylcholine을 加水分解하나 Methacholine은 加水分解하지 못함을 기술한 바 있다. 사람 血清內 Cholinesterase는 Butyrylcholine을 가수분해하는 速度가 가장 빠르고 이는 Acetylcholine을 加水分解하는 速度

보다 빠르다고 한다(Whittaker, 1951).

Cholinesterase는 Succinylcholine을加水分解할 뿐 아니라(Glick, 1941), Procaine과 그 關聯 局所麻酔劑들을加水分解한다(Kalow, 1952).

사람 血清內 Cholinesterase는 出生時부터 發見되며(Lehmann, et al., 1957) 出生後 急速하게 上昇하여 思春期에 最高에 達한다고 한다.

血清 Cholinesterase 性活은 Nephrosis 때에는 높고 肝細胞 손상이나 營養不足時에는 낮다고 한다. 이는 肝에서의 Cholinesterase 生成이 減少된데 起因하는 것으로 생각되고 있다(Vorhaus and Kark, 1953).

Evans等(1953)은 Cholinesterase活性이 낮은 患者들에게 筋肉弛緩劑로 Succinylcholine을 投與하였을 경우 期待했던 것보다 筋肉마비가 오래 持續되는 것을 관찰하였으며 Lehmann과 Ryan(1956)은 이와같은 낮은 Cholinesterase活性은 一部 患者에서 疾病狀態와는 關係없이 오히려 遺傳的因子가 關與함을 지적하였다. 이어서 Kalow(1956)는 이와 비슷한 結果를 관찰하고 Cholinesterase活性이 낮은 뿐 아니라 性質의 變化도 있음을 보았으며 이같은 變化는 효소자체의 遺傳的인 變化에 起因할 것이라고 생각하였으며 그 變化된 酵素를 非定型(atypical) Cholinesterase라고 하였다.

血清 Cholinesterase는 Tetramethyl ammonium, Decamethonium, 有機磷化合物 等에 依하여 活性의 抑制를 보이며 그 抑制程度는 正常 Cholinesterase와 非定型間에 差異가 있어서 非定型 Cholinesterase를 가려내는 方法으로서 여러가지 抑制劑들이 檢討되어 Kalow와 Staron(1957)는 Dibucaine이 兩者를 구별하는데 가장 適合한 抑制劑이며 그 억제정도의 百分率을 Dibucaine number(DN)라고 하여 그 分布를 檢討한 結果 正常 Cholinesterase는 DN이 71.0以上을 보였고 非定型 Cholinesterase는 DN이 낮아서 30以下였으며 30~70 사이의 中間型이 나타남을 관찰하였다. 한편 Harris와 Whittaker(1961)는 Sodium fluoride를 使用하여 또 다른 性質을 갖은 非定型 Cholinesterase가 있음을 發見하고 Dibucaine에 依한 抑制程度를 관찰하는 것과 같은 方法으로 Fluoride number(FN)에 依하여 그 分布를 檢討하고 이것은 DN을 나타내는 遺傳因子와 또 다른 因子에 依하여 支配될 것이라고 하였다. 또 이들 遺傳因子는 같은 遺傳子座를 갖는 對立遺傳子임이 밝혀졌다.

本 실험에서 관찰된 結果에서 Hardy-Weinberg의 法則에 依하여 DN에 對한 遺傳子 頻度を 算出하면 0.0257을 나타내어 Kalow와 Gunn(1959)이 캐나다人 2,017名을 對象으로 DN에 對한 非定型 Cholinesterase의 遺傳

子 頻度を 0.0188이라고 한 것보다 약간 높은 數値를 보여 家族調査를 시행하기 어려운 實情이어서 확실한 遺傳子型의 分布相을 알 수는 없으나, 우리나라에서도 非定型 Cholinesterase를 갖은 사람들이 상당수가 있을 것으로 사료된다.

要 約

韓國人의 血清 Cholinesterase에 있어 非定型 Cholinesterase의 分布像을 알아보기 위하여 1977年 4月부터 1978年 3月까지 1年間에 걸쳐 서울大學病院에 來院한 患者 1,284名을 無作爲로 選擇하여 血清 Cholinesterase 活性과 Dibucaine number 및 Fluoride number를 測定하여 그 分布를 보았다.

1. 正常 Cholinesterase를 가졌다고 생각되는 1,216名의 患者 Cholinesterase活性의 平均値는 128.96±55.15 μmole/ml serum/hr이었다.

2. Dibucaine number의 分布는 正常人이 95.64%, 中間型이 3.58%, 非定型이 0.78%였고 Fluoride number는 正常人이 97.20%, 中間型이 2.18%, 非定型이 0.62%였다.

3. Hardy-Weinberg Law에 따라 遺傳因子頻度を 計算하면 Dibucaine에 對한 非定型因子 頻度は 0.0257이었다.

〈本 研究에 協助하여 주신 本大學 內科學教室에 感謝드립니다〉

—ABSTRACT—

Study of the Pseudocholinesterase in Korean

Jung Kyoo Lim, Myung Suk Kim

Chan Woong Park

Department of Pharmacology, College of Medicine,
Seoul National University

Serum cholinesterase activities using benzoylcholine as substrate have been measured in 1,284 patients admitted at Seoul National University Hospital during May, 1977 to March, 1978.

Dibucaine numbers and fluoride numbers have been determined in all cases.

Total serum cholinesterase activities in 1,216 patients who have normal DN and FN showed 128.96±55.15 μmole/ml serum/hr. Phenotypic distribution of

DNs was found to be normal=95.64%, intermediate =3.5%, atypical=0.78% and FNs was found to be normal 97.20%, intermediate=2.18%, atypical=0.62%.

The frequency of the atypical gene of DN as calculated from these data by applying Hardy-Weinberg Law was 0.0257.

REFERENCES

- Bourne, J. G., Collier, H. O. J., and Somers, G. F.: *Succinylcholine(succinylcholine), muscle relaxant of short duration, Lancet* 1:1225, 1952.
- Evans, F. T., Gray, P. W. S., Lehmann, H., and Silk, E.: *Sensitivity to succinylcholine in relation to serum cholinesterase, Lancet* 1:1229, 1952.
- Glick, D.: *Some additional observation on the specificity of cholinesterase, J. Biol. Chem.* 137:357, 1941.
- Harris, H. and Whittaker, M.: *Differential inhibition of human serum cholinesterase with fluoride, Recognition of two new phenotypes, Nature*, 191:496, 1961.
- Kalow, W.: *Hydrolysis of local anesthetics by human serum cholinesterase, J. Pharmacol. Exper. Ther.* 104:122, 1952.
- Kalow, W. and Lindsay, H.A.: *A comparison of optical and manometric methods for the assay of human serum cholinesterase, Canad. J. Biochem. Physiol.* 33:568, 1955.
- Kalow, W., Genest, K., and Staron, N.: *Qualitative variation of serum cholinesterase activity in man as defined by dibucaine numbers, Fed. Proc.* 15, 444, 1956.
- Kalow, W.: *Familial incidence of low pseudocholinesterase level, Lancet* 2:576, 1956.
- Kalow, W. and Genest, K.: *A method for the detection of atypical forms of human serum cholinesterase. Determination of dibucaine number, Canad. J. Biochem. Physiol.* 35:339, 1957.
- 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.
- Kalow, W., and Staron, N.: *On distribution and inheritance of atypical forms of human serum cholinesterase, as indicated by dibucaine number, Canad. J. Biochem. Physiol.* 35:1305, 1957.
- Kalow, W., and Davies, R.O.: *The activity of various esterase inhibitors towards atypical human serum cholinesterase, Biochem. Pharmacol.* 1:183, 1959.
- Kalow, W. and Gunn, D. R.: *Some statistical data on atypical cholinesterase of human serum, Ann. Human Genet.* 23:239, 1959.
- Lehmann, H., and Ryan, E.: *The familial incidence of low pseudocholinesterase level. Lancet* 2:124, 1956.
- Lehman, H., Cook, J., and Ryan, E.: *Pseudocholinesterase in early infancy. Proc. Roy. Soc. Med.* 50:147, 1957.
- Lehmann, H., and Liddell, J.: *Genetical variants of human serum pseudocholinesterase, Progress in Med. Genet.* 3:75, 1964.
- Mendol, B., and Rudney, H.: *Studies on cholinesterase, I. Cholinesterase and pseudocholinesterase, Biochem. J.* 37:59, 1943.
- Vorhaus, L.J., and Kark, R.M.: *Serum cholinesterase in health and disease. Am. J. Med.* 14:707, 1953.
- Whittaker, V.P., and Wijesundra, S.: *The hydrolysis of succinylcholine by cholinesterase, Biochem. J.* 52:475, 1952.