

〔原 著〕

低コリンエステラーゼ血症例における変異遺伝子の解析

前川真人*・須藤加代子**・Dilip Chandra Dey*・小谷一夫*

石川仁子*・泉 正和*・白田多佳志***・菅野剛史*

SUMMARY

Fourteen individuals with low serum cholinesterase activity were examined by genetic analysis. All of these were considered to be due to silent gene because their dibucaine number and fluoride number were similar to reference values. PCR-SSCP analysis and following direct DNA sequencing analysis disclosed five missense or nonsense mutations in 11 individuals: 2 individuals with C to T mutation at codon 24 (Thr to Met), 2 individuals with G to C mutation at codon 365 (Gly to Arg), 3 individuals with T to A mutation at codon 330 (Leu to Ile), 1 individual with C to T mutation at codon 119 (Gln to stop) and 3 individuals with C to T mutation at codon 515 (Arg to Cys). For *K* variant, 3 homozygous individuals and 8 heterozygous individuals were determined. All of 14 individuals with low serum cholinesterase activity revealed genetic mutation in cholinesterase gene. Therefore, we should be aware of the existence of genetic mutations causing hypocholinesterasemia in laboratory diagnosis.

Key words: polymerase chain reaction (PCR), single strand conformation polymorphism (SSCP), genetic mutation, serum cholinesterase.

はじめに

血清コリンエステラーゼ (CHE) は、わが国では肝臓の蛋白合成能を反映する肝機能検査として臨床検査に広く用いられている。また、サクシンなどの筋弛緩剤の代謝に関与するため、本酵素の遺伝性変異が麻酔時の遷延性無呼吸をひきおこす危険性があり、薬理遺伝病として認識されている。遺伝性変異としては、ディブカイン耐性 (atypical; A)、フルオライド耐性 (fluoride resistant; F) サイレント (S) 遺伝子をはじめとして、J, K,

H などが報告されている¹⁾。われわれは以前、CHE 活性がほとんどゼロである S 型ホモ接合体例の解析結果を報告した^{2,3)}。その家系検索時に、CHE 活性が正常参照域の下限值もしくは軽度低下している個体の中に、S 型ヘテロ接合体が隠れていることを認識した。これらの中には肝機能障害と診断されている例もあった。そこで、いわゆる低 CHE 活性例の中に S 型ヘテロ接合体もしくは他の遺伝性変異が必ず存在するはずであると考え、検出を試みた。その際、酵素の性状など表現型からは検出が困難であるため、遺伝子から解析を進めることにした。

Genetic analysis of mutations in individuals with low serum cholinesterase activity.

* Masato Maekawa, Dilip Chandra Dey, Kazuo Kotani, Jinko Ishikawa, Masakazu Izumi, Takashi Kanno; 浜松医科大学臨床検査医学

** Kayoko Sudo; 東京慈恵会医科大学第三病院臨床検査医学

*** Takashi Usuda; 聖隷健康診断センター

Correspondence address: Masato Maekawa, Department of Laboratory Medicine, Hamamatsu University School of Medicine Handa-cho 3600, Hamamatsu 431-31, Japan.

略号一覧: PCR, polymerase chain reaction; SSCP, single strand conformation polymorphism; CHE, serum cholinesterase; SDS, sodium dodecyl sulfate; EDTA, ethylene diamine tetra-acetate; DN, dibucaine number; FN, fluoride number.

(受付 1993年9月22日, 受理 1993年10月29日)

対象および方法

1) 聖隷健康診断センターの人間ドック受診者の中から CHE 活性 0.6 ΔpH 以下 (正常参照値: 0.8~1.2) を示した 14 例を低 CHE 血症として今回の研究の対象とした。

2) 表現型の解析 (生化学的性状)

ヨウ化ブチリルチオコリンを基質とした和光純薬の CHE 活性測定試薬を用い, 日立 736 生化学自動分析機で測定した。また, ヨウ化プロピオニルチオコリン (Aldrich) を基質として⁴⁾, CHE 活性およびディブカイン (Sigma), フッ化ソーダ (関東化学) による阻害率, すなわちディブカインナンバー (dibucaine number; DN), フルオライドナンバー (fluoride number; FN) を島津 CL-7200 生化学自動分析機を用いて測定, 算出した。

3) 遺伝型の解析

検査済みの EDTA 採血の全血から高分子 DNA を調整し, 以下われわれの実施しているフローチャート⁵⁾に従い分析を進めた。CHE 遺伝子を九つの断片として PCR 増幅し^{6,7)} (Table 1), いずれの DNA 断片に変異が存在するかを, われわれの報告した全自動電気泳動装置ファストシステム (ファルマシア) を用いて銀染色で検出する single strand conformation polymorphism (SSCP) 法によりスクリーニングし⁸⁻¹⁰⁾, 変異の疑われ

た断片の塩基配列を決定した。判明した各遺伝子変異について, 簡易同定法を考案, 確立した。また, CHE 活性が低下するとされる遺伝性多型, Kバリエント (コドン 539, GCA (Ala)→ACA (Thr))¹¹⁾ について, CHE 遺伝子エクソン 4 の SSCP およびミスマッチ PCR¹²⁾ で検討した。

4) SSCP 分析の諸条件による遺伝子変異の検出

判明した遺伝子変異の SSCP パターンについて, 12.5 % homogeneous gel を用いて native, SDS 含有 (以下 SDS) のバッファー条件, 泳動温度 (5°, 10°, 15°, 20°C) を変化させ¹³⁾, 種々の条件で検討した。

結 果

今回検討した 14 人の低 CHE 血症例は表現型の解析により, 3 例 (case no. 1, 9, 14) を除いて DN および FN がいずれも参照値内にあり, 3 例もわずかに低値であるにすぎず A 型・F 型のヘテロ接合体を示すデータではなかった (Table 2)。したがって, A 型遺伝子, F 型遺伝子の関与は否定的であり, S 型 (ヘテロ接合体) もしくは Kバリエントなどの CHE 活性低下を示す遺伝子の関与が疑われた。

われわれの開発したファストシステムを用いた SSCP 法で, native, SDS のバッファー条件を活用した結果, 種々の異常パターンが検出された (Fig. 1)。今回泳動パ

Table 1. Primer sequences used for amplification of cholinesterase gene.

Primer	Nucleotide location ^a	Sequence (5' to 3')	Amplified region ^b
AP 3'	-145 to -124	TAATATGCTATATGCAGAAGGC) exon 2, locus 1
C2-1	106 to 127	ATCGAAGTCTACCAAGAGGTGG	
M-6 ^c	-6 to 15	ACATACTGAAGATGACATACATA) exon 2, locus 2
M-115 ^d	366 to 345	TGTTCCAGTTTGAAAACCA	
C2-2	284 to 305	TAAATGTATGGATTCCAGCACC) exon 2, locus 3
C2-4	607 to 586	AAGCTGCTCCTGCACTTTCTCC	
C2-3	514 to 535	CAGTTGGCTCTTCAGTGGGTTC) exon 2, locus 4
C2-5	823 to 802	TCAGAAGAATTTCTTGGGGATC	
M-243 ^e	706 to 727	CTTTATGAAGCTAGGAACAGAA) exon 2, locus 5
C2-7	991 to 970	CTAAAAAAGCTGTCCCTTCATC	
C2-6	910 to 931	GACATATTACTTGAACCTGGAC) exon 2, locus 6
C2-9	1248 to 1227	GGCATTATTTCCCCATTCTGAG	
C2-8	1188 to 1209	TAATTTTCATATGCCCTGCCTTG) exon 2, locus 7
AP 4'	1480 to 1457	ACGGATCAAACCAAGCCAGAGAAC	
AP 11 ^f	Intron 2	GCTCTGTGAACAGTGTTAGAAAACAATATTCTTTTAAATC) exon 3
AP 12 ^f	Intron 3	CCGTGCCTTGGAGAGTATACTTCATCCCTTTTTTACATAACC	
AP 5 ^f	Intron 3	CGAAATTATTTTTCAGTTAATGAAACAGATAAAAAATTT) exon 4
AP 6 ^f	1797 to 1759	GTGTAAAAAAGCTCCTGATATTTTGCCTTGATCTAAAG	

a : Position +1 is the first nucleotide of codon sequence for the mature protein.

b : Locus numbers are tentatively designed for separate amplification.

c, d, e : The three primers are designed for mismatched PCR to detect previously identified point mutations.

f : The four primers are already published (reference no.7).

Table 2. Summary of the phenotypic and genotypic properties of the subjects.

Case	CHE (Δ pH)	DN (%)	FN (%)	K-variant	Other mutation*
1	0.51	82.4	75.7	nor/var	330 TTA (Leu)→ATA (Ile)
2	0.52	83.8	78.5	var/var	119 CAA (Gln)→TAA (Ter)
3	0.52	84.4	78.8	nor/var	24 ACG (Thr)→ATG (Met)
4	0.47	84.1	78.9	nor/nor	515 CGT (Arg)→TGT (Cys)
5	0.54	84.9	79.3	nor/var	not detected
6	0.46	84.2	78.3	nor/var	365 GGA (Gly)→CGA (Arg)
7	0.49	83.8	78.4	nor/var	515 CGT (Arg)→TGT (Cys)
8	0.47	84.1	78.4	nor/nor	24 ACG (Thr)→ATG (Met)
9	0.56	82.2	75.3	nor/var	330 TTA (Leu)→ATA (Ile)
10	0.48	nd	nd	nor/var	not detected
11	0.46	83.7	79.0	var/var	515 CGT (Arg)→TGT (Cys)
12	0.59	84.2	79.2	var/var	not detected
13	0.44	84.5	79.4	nor/var	365 GGA (Gly)→CGA (Arg)
14	0.58	83.5	76.2	nor/nor	330 TTA (Leu)→ATA (Ile)
Reference values 0.80~1.20 83.4~86.0 77.9~79.8					

* Other mutation means genomic mutation other than the K-variant. These mutations were suggested to result in hypocholinesterasemia (putative silent gene).

ターンに異常を示した変異のうち、エクソン2のローカス1, 3, 6はnativeのほうが検出しやすいと考えられ、エクソン2のローカス2, 4, エクソン4はSDS, エクソン3はnative, SDSともに同等に判別できた。これらSSCP分析で異常のみられた症例の中で、未知の互いに同じ変異と考えられた症例1, 9, 14のローカス6, 症例6, 13のローカス6 (Fig. 1D), 症例3, 8のローカス1, 2 (Fig. 1A, B)については直接塩基配列決定を行った。また本稿では示さないが、並行して分析していたS型変異のホモ接合体で検出された遺伝子変異¹³⁾と同じ異常SSCPパターンを示した症例2のローカス3 (Fig. 1C), 症例4, 7, 11のエクソン3 (Fig. 1E)については、簡便な同定法を作成した。

直接塩基配列決定した3種類の変異は、それぞれ症例3のコドン24でCからT, 症例6のコドン365でGからC, 症例1のコドン330でTからAのミスセンス変異であることが判明した (Fig. 2)。

今回検出されたミスセンス変異の簡便な同定法の典型例をFig. 3に示した。コドン24のCからG, コドン119のCからT, コドン365のGからC, コドン515のCからTの4種類の点変異については、いずれもそれぞれNlaⅢ, MseⅠ, TaqⅠ, BsaAⅠという制限酵素の認識配列に変化を及ぼすため、PCR増幅産物を制限酵素処理後、アガロースゲル電気泳動をすることによって同定可能であった。一方、コドン330のTからA, コドン539のGからA (Kバリエント)への点変異については適当な制限酵素が市販されていないため、ミスマッ

チPCRによって制限酵素認識部位を導入し消化後アガロースゲル電気泳動により同定した。

Kバリエントについて、PCR-SSCPおよびミスマッチPCRで検出したところ、ホモ接合体が3人、ヘテロ接合体が8人、正常が3人という内訳であった。Kバリエント以外のミスセンスおよびナンセンス変異は計5種類、11症例に見いだされた (Table 2)。コドン24が2例、コドン119が1例、コドン330が3例、コドン365が2例、コドン515が3例であった。残りの3例はいずれもKバリエントのヘテロ接合体、ホモ接合体であったが、それ以外の遺伝子異常は判明しなかった。

CHE遺伝子の点変異のSSCPパターンは、LDHの遺伝子異常で検討したように、native, SDSのバッファー条件、温度に依存し、それぞれの変異で検出の至適条件が異なっていた (Table 3, Fig. 4)。まず泳動温度は、LDHで検討した結果と同様、低温で検出率がよく、とくにnativeでは、5°C, 10°Cでパターンの異常の程度が大きいのと思われる。SDSでは検出率は10°Cで最も大きかったが、それぞれの変異による泳動パターンの変化は個々異なっており、一概にいずれがよいとは決定できなかった。温度によって個々の移動度が逆転する現象も観察された (nativeでのR4650など)。

考 察

CHEの遺伝性変異のうち、現在までにA⁷⁾, F¹⁵⁾, S¹⁶⁻¹⁸⁾, J¹⁹⁾, K²⁰⁾の原因遺伝子が報告されている。本研究の対象とした14例の低CHE血症は、いずれも

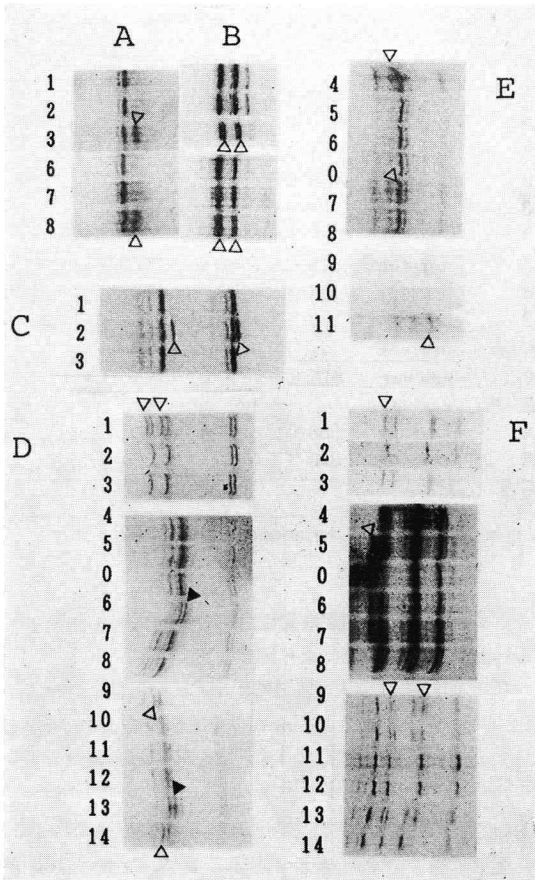


Fig. 1. Abnormal patterns analyzed by PCR-SSCP.

Nine fragments of the CHE gene were amplified from total genomic DNA of 14 cases with low CHE activity. One microliter of amplified products was denatured, electrophoresed in 12.5% homogeneous gel, by using native or SDS-contained buffer condition, and detected by silver staining. Abnormal bands are marked by triangles (Panel D; Since two abnormal patterns were observed in locus 6 of exon 2, open triangle and closed triangle are used to differentiate the two abnormal patterns. Lane numbers are the same as case numbers in Table 2. 0 means normal individual.

A. Locus 1 of exon 2 (native), B. Locus 2 of exon 2 (SDS), C. Locus 3 of exon 2 (native), D. Locus 6 of exon 2 (native), E. exon 3 (native), F. exon 4 (SDS).

DN, FN がほぼ正常であるためS型遺伝子か J, K, H のような CHE 活性を低下させる変異遺伝子の関与が考えられた. また, DN, FN がわずかに低値を示した3例 (症例 1, 9, 14) も基本的には同様の変異遺伝子の関与が

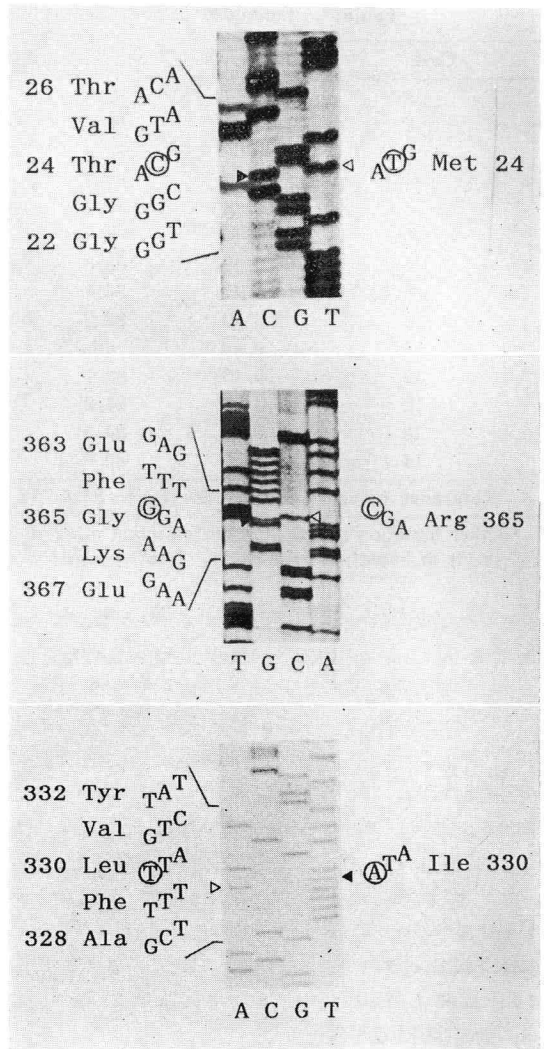


Fig. 2. Sequencing analysis of the CHE gene.

A. Locus 2 of exon 2 from case 3. Heterozygous missense mutation at codon 24 (ACG to ATG; T 24 M). B. Locus 6 of exon 2 from case 6. Heterozygous missense mutation at codon 365 (GGA to CGA; G 365 R). C. Locus 6 of exon 2 from case 1. Heterozygous missense mutation at codon 330 (TTA to ATA; L 330 I). Circles and triangles show the mutation position. Closed triangle shows normal sequence and open triangle shows mutant sequence.

考えられるが, 遺伝子解析の結果, いずれも同じコドン 330 のミスセンス変異であった. すなわち, このミスセンス変異は活性を低下させるだけでなく, DN, FN にもわずかなではあるが影響を与える可能性が示された. Kバ

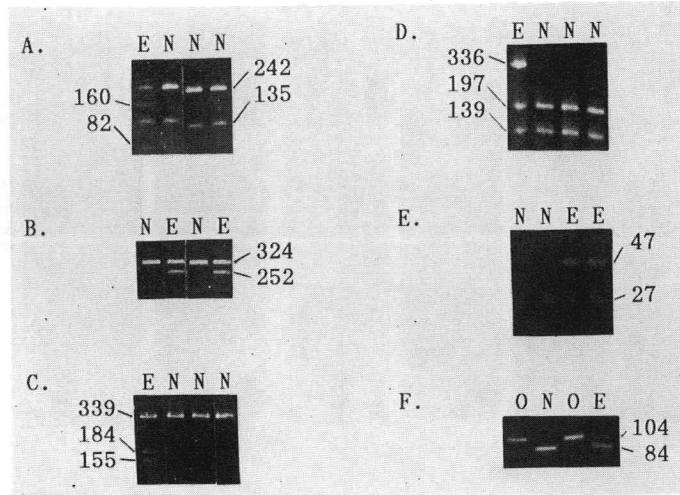


Fig. 3. Simple identification method (agarose gel electrophoresis after restriction endonuclease digestion with or without mismatched PCR).

Numbers in the figures are fragment length (bp). Upper alphabets of each panel mean as follows: N, E and O are normal, heterozygote and homozygote, respectively.

A. Identification of the missense mutation from ACG to ATG at codon 24 by *Nla* III (recognition site: CATG) digestion of locus 2 of the exon 2. For normal sequence (CACG), amplified locus 2 (377 bp) was digested by *Nla* III to 242 bp and 135 bp. For mutant sequence (CATG), 242 bp was moreover digested to 160 bp and 82 bp. B. Identification of the nonsense mutation from CAA to TAA at codon 119 by *Mse* I (recognition site: TTAA) digestion of locus 3 of the exon 2. Amplified locus 3 (324 bp) was digested by *Mse* I to 252 bp and 72 bp for mutant sequence (TTAA). C. Identification of the missense mutation from GGA to CGA at codon 365 by *Taq* I (recognition site: TCGA) digestion of locus 6 of the exon 2. Amplified locus 6 (339 bp) was digested by *Taq* I to 184 bp and 155 bp for mutant sequence (TCGA). D. Identification of the missense mutation from CGT to TGT at codon 515 by *Bsa* AI (recognition site: PyACGTPu) digestion of the exon 3. Amplified exon 3 (336 bp) was digested by *Bsa* AI to 197 bp and 139 bp for normal sequence (TACGTG). E. Identification of the missense mutation from TTA to ATA at codon 330 by *Mse* I digestion after mismatched PCR. Amplified DNA by mismatched PCR (98 bp) was digested by *Mse* I to 47 bp, 27 bp and 27 bp for mutant sequence (ATAA), while for normal sequence (TTAA) 47 bp was moreover digested to 26 bp and 21 bp. When mutant allele was present, 47 bp band was remained. F. Identification of the missense mutation from GCA to ACA at codon 539 by *Alu* I digestion after mismatched PCR. Amplified DNA by mismatched PCR (104 bp) was digested by *Alu* I to 84 bp and 20 bp for normal sequence (AGCT), while for mutant sequence (AACT) 104 bp was not digested.

Table 3. Effect of electrophoretic temperature on detection sensitivity of genetic mutations.

Mutation	Gene, Exon	Native				SDS			
		5°C	10°C	15°C	20°C	5°C	10°C	15°C	20°C
T 24M (ACG→ATG)	CHE 2-1 (271 bp)	+	+	+	+	—	—	—	—
T 24M (ACG→ATG)	CHE 2-2 (377 bp)	+	+	+	—	+	+	+	+
L 330 I (TTA→ATA)	CHE 2-6 (339 bp)	+	+	—	—	+	+	—	—
G 365R (GGA→CGA)	CHE 2-6 (339 bp)	+	+	+	—	+	+	—	—
T 250P (ACT→CCT)	CHE 2-4 (311 bp)	—	—	+	—	+	+	+	+
F 418 S (TTC→TCC)	CHE 2-7 (293 bp)	+	+	+	+	+	+	+	+
R 465O (AGA→TGA)	CHE 2-7 (293 bp)	—	—	—	—	+	+	+	+
R 515C (CGT→TGT)	CHE 3 (336 bp)	+	+	+	—	—	+	+	+
Detection numbers		6	6	6	2	6	7	5	5

+ : means detectable mutation.

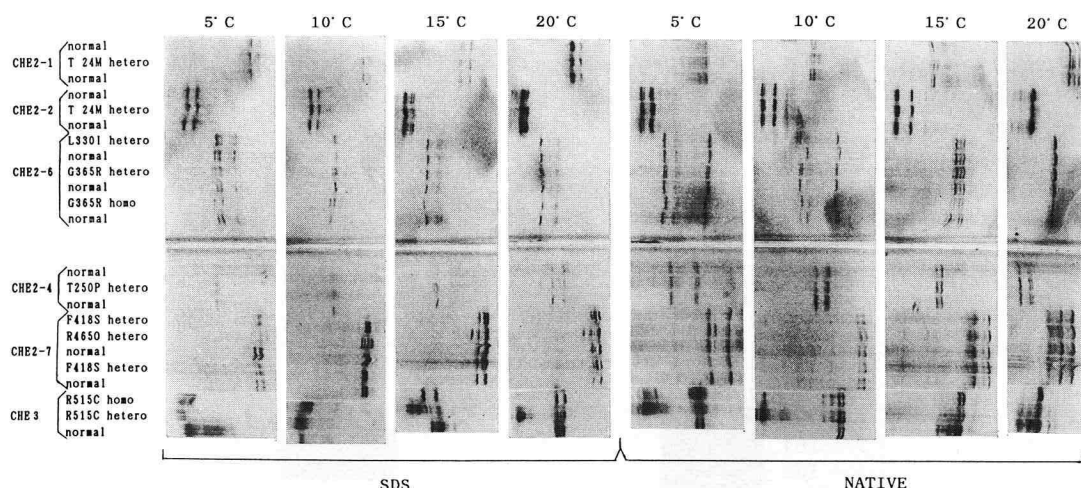


Fig. 4. Effect of different temperature and different buffer conditions on SSCP pattern.

PCR products with each type of point mutations were subjected to SSCP analysis using 12.5% homogeneous gel, and SDS-contained or native buffer condition. The left lanes indicate amplified fragments (for example, CHE 2-1 means cholinesterase gene exon 2, locus 1). Electrophoretic temperature was set to 5, 10, 15 or 20°C by Phast System programming. Anode is to the right.

リアントは多数見いだされたが、Jバリエントはみられず、H型はまだ明らかではないため、今回同定された5種の点変異はS型もしくはそれに準ずる遺伝子と考えられる。またわれわれは、並行して解析を進めているS型低CHE血症のホモ接合体例の中に¹⁴⁾、今回同定された5種のうち、コドン 365, 515, 119の3種の点変異を見いだしている。このうち、S型遺伝子としてコドン 365のミスセンス変異が、本邦の他施設からも報告されている^{18,21)}。一方、今回複数例に見いだされた遺伝子異常のうち、ローカス1のコドン 24の変異、ローカス6のコドン 330, 365の変異、エクソン3のコドン 515の変異について、その頻度を当院健診試料を用いてSSCP分析もしくは簡便同定法で検討したところ、コドン 24は24人中0人、コドン 330, 365では48人中0人、コドン 515では51人中1人のヘテロ接合体が認められた。唯一見いだされた1例のヘテロ接合体のCHE活性は0.74と低値であり、この遺伝子変異を有するための比較的低活性であると考えられた。これらから今回同定したミスセンス、およびナンセンス変異は単なる遺伝子多型ではなく、S型遺伝子に属するものと考えられる。なお、Noguieraら¹⁶⁾の報告したS型の原因遺伝子（フレームシフトの変異）は見いだされなかった。

5種のアミノ酸置換を起こす点変異は、そのうちの4種が制限酵素認識配列に影響を及ぼしたため、簡単に同定が可能となった。コドン 330のミスセンス変異につい

てもミスマッチPCRにより制限酵素認識配列を導入することができ、やはり簡便に同定が可能となった。これらの同定法によって、SSCP分析で類似の泳動パターンを示した症例はすべて同じ変異であると判明したので、SSCP分析のみで遺伝子変異の推定がおおむね可能であると考えられた。そして、変異の確定のためにも家系検索にも開発した簡易同定法は有用であると考えられた。

SSCPの泳動条件は、すでにLDH遺伝子変異でも検討したが¹³⁾、CHE遺伝子においても一つの泳動条件のみで異常の有無をスクリーニングすることは危険であると考えられた。nativeで検出しにくい遺伝子異常、SDSで検出しにくい遺伝子異常がそれぞれ存在するため、泳動条件として、SDSから一つ、nativeの5~15°Cから一つを選択するのが良いと考えられた。

低CHE血症14例におけるKバリエントの頻度は、遺伝子を有する個体として79%、遺伝子座位として50%であった。われわれが当院健康診断試料によって検討した一般的な頻度は遺伝子を有する個体として32.9%、遺伝子座位として17.5%であるので¹²⁾、Kバリエントの頻度は低CHE血症として選択した群の中では有意に高かった。また、Kバリエントの保因者群は非保因者群に比べ、CHE活性が約20%低い¹²⁾。以上より、KバリエントもCHE活性低下の一因であると考えられた。

今回遺伝子解析を施行した14例のうち、11例(79%)にミスセンス変異、もしくはナンセンス変異が見いださ

れ、S型変異による低 CHE 血症と考えられた。また、残りの3例はKバリエントの関与が証明され、それによる低 CHE 血症として説明可能であると考えられた。この頻度はきわめて高いと考えるに価する。なぜなら、当ドックの検査結果から CHE 活性を拾い集めてみると、1,458名のドック受診者の CHE 活性はほぼ正規分布を示しているが、0.6未満を示したのは19人(1.3%)であった。当然ながらこの中には肝障害など二次的な要因によるものも存在するが、その1.3%のうち79%が遺伝性変異(S型)であるということは、およそ100人に1人、S型遺伝子のヘテロ接合体が存在するという計算になる。これは、欧米の150~200人に1人¹⁾より高頻度であり、われわれがすでに推定した欧米と同等の頻度²⁾より以上の結果であった。

結論として、14例の低 CHE 血症例の中で、Kバリエントも含めると全例にミスセンス変異の関与がみられたため、遺伝性変異は低 CHE 血症の原因として重要なものであり、検査データの判読にあたって、遺伝性変異の存在を深く認識する必要があると考えられた。

本研究の一部は、第44回電気泳動学会総会で報告した。

本研究の一部は、科学研究費(No. 05671920, No. 05454583)によった。

文 献

- 1) Lockridge O. Genetic variants of human serum cholinesterase influence metabolism of the muscle relaxant succinylcholine. *Pharmacol Ther* 1990; 47: 35-60.
- 2) 前川真人, 遠山隆子, 須藤加代子, 菅野剛史. 遺伝性低コリンエステラーゼ(サイレント型, タイプII)の一家系. *臨床病理* 1986; 34: 1395-400.
- 3) 前川真人, 須藤加代子, 菅野剛史. サイレント型コリンエステラーゼ変異の多様性. *生物物理化学* 1987; 31: 15-8.
- 4) Dietz AA, Rubinstein HM, Lubrano T. Colorimetric determination of serum cholinesterase and its genetic variants by the propionylthiocholine-dithiobis (nitrobenzoic acid) procedure. In: Cooper GR, and King JS, editors. *Selected methods for the small clinical chemistry laboratory* Vol. 8. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry 1977: 41-46.
- 5) 前川真人. PCR による LDH サブユニット欠損の解析. *生物物理化学* 1992; 36: 367-71.
- 6) 須藤加代子, 秋月摂子, 鳥海 純, 前川真人, 菅

野剛史, 後藤はるみ, 小泉博史. DNA 解析により判明した血清コリンエステラーゼK-variantの1例. *生物物理化学* 1993; 37: 85.

- 7) McGuire MC, Nogueira CP, Bartels CF, Lightstone H, Hajra A, van der Spek AFL, Lockridge O, La Du BN. Identification of the structural mutation responsible for the dibucaine-resistant (atypical) variant form of human serum cholinesterase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 953-7.
- 8) Maekawa M, Sudo K, Li SS-L, Kanno T. Analysis of genetic mutations in human lactate dehydrogenase-A (M) deficiency using DNA conformation polymorphism in combination with polyacrylamide gradient gel and silver staining. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 180: 1083-90.
- 9) Maekawa M, Sudo K, Kitajima M, Matsuura Y, Li SS-L, Kanno T. Detection and characterization of new genetic mutations in individuals heterozygous for lactate dehydrogenase-B (H) deficiency using DNA conformation polymorphism analysis and silver staining. *Hum Genet* 1993; 91: 163-8.
- 10) Maekawa M, Sudo K, Kitajima M, Matsuura Y, Li SS-L, Kanno T. Analysis of a genetic mutation in an electrophoretic variant of the human lactate dehydrogenase-B (H) subunit. *Hum Genet* 1993; 91: 423-6.
- 11) Bartels CF, Jensen FS, Lockridge O, van der Spek AFL, Rubinstein HM, Lubrano T, La Du BN. DNA mutation associated with the human butyrylcholinesterase K-variant and its linkage to the atypical variant mutation and other polymorphic sites. *Am J Hum Genet* 1992; 50: 1086-103.
- 12) 泉 正和, 前川真人, 菅野剛史. 血清コリンエステラーゼの遺伝性多型K-バリエントについて. *臨床病理* 1993; 41(補): 87.
- 13) 前川真人, 須藤加代子, Dey DC, 小谷一夫, 菅野剛史. Single strand conformation polymorphism (SSCP) パターンに及ぼす泳動条件の影響. *生物物理化学* 1994; 38: 95-101.
- 14) 須藤加代子, 秋月摂子, 真柄直郎, 前川真人, 菅野剛史. 2種のサイレント型コリンエステラーゼ血症(ホモ接合体)の遺伝子解析. *生物物理化学* 1993; 37: 289.
- 15) Nogueira CP, Bartels CF, McGuire MC, Adkins S, Lubrano T, Rubinstein HM, Lightstone H, van der Spek AFL, Lockridge O, La Du BN. Identification of two different point mutations associated with the fluoride-resistant phenotype for human butyrylcholinesterase. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 821-8.

- 16) Nogueira CP, McGuire MC, Graeser C, Bartels CF, Arpagaus M, van der Spek AFL, Lightstone H, Lockridge O, La Du BN. Identification of a frameshift mutation responsible for the silent phenotype of human serum cholinesterase, Gly 117 (GGT→GGAG). *Am J Hum Genet* 1990; 46: 934-42.
- 17) Muratani K, Hada T, Yamamoto Y, Kaneko T, Shigeto Y, Ohue T, Furuyama J, Higashino K. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 11315-9.
- 18) 日高和夫, 井内岩夫, 山崎壽子, 大原昌樹, 正田孝明, La Du BN. 日本人家系にみられたヒト silent 型血清コリンエステラーゼの遺伝子変異の 2 型. *臨床病理* 1992; 40: 535-40.
- 19) Bartels CF, James K, La Du BN. DNA mutations associated with the human butyrylcholinesterase J-variant. *Am J Hum Genet* 1992; 50: 1104-14.
- 20) Bartels CF, Jensen FS, Lockridge O, van der Spek AFL, Rubinstein HM, Lubrano T, La Du BN. DNA mutation associated with the human butyrylcholinesterase K-variant and its linkage to the atypical variant mutation and other polymorphic sites. *Am J Hum Genet* 1992; 50: 1086-103.
- 21) Hada T, Muratani K, Ohue T, Imanishi H, Moriwaki Y, Itoh M, Amuro Y, Higashino K.

A variant serum cholinesterase and a confirmed point mutation at Gly-365 to Arg found in a patient with liver cirrhosis. *Intern Med* 1992; 31: 357-62.

要 旨

14 人の血清コリンエステラーゼ (CHE) 活性の低値例の遺伝子異常について検索した。これらの症例は, DN, FN がいずれも正常対照とほぼ同等であったので, サイレント型遺伝子を有する可能性が示唆された。PCR-SSCP, 塩基配列決定を行った結果, コドン 24 の C から T (Thr から Met) が 2 例, コドン 365 の G から C (Gly から Arg) が 2 例, コドン 330 の T から A (Leu から Ile) が 3 例, コドン 119 の C から T (Gln から Stop) が 1 例, コドン 515 の C から T (Arg から Cys) が 3 例の計 11 例に 5 種のミスセンスもしくはナンセンス変異が見いだされた。また K バリエントについてはホモ接合体が 3 人, ヘテロ接合体が 8 人見いだされた。14 例の低 CHE 血症例の中で, K バリエントも含めると全例に遺伝性変異の関与がみられたため, 遺伝性変異は低 CHE 血症の原因として重要なものであり, 検査データの判読にあたって, 遺伝性変異の存在を深く認識する必要があると考えられた。