

氏名(本籍) 星 邦彦

学位の種類 医学博士

学位記番号 医第2221号

学位授与年月日 平成2年2月28日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

最終学歴 昭和56年3月  
東北大学医学部医学科卒業

学位論文題目 高速液体クロマトグラフィーによる血中サクシニルコリンの測定

(主査)  
論文審査委員 教授 橋本保彦 教授 石森章  
教授 水柿道直

## 論 文 内 容 要 旨

脱分極性筋弛緩薬であるサクシニルコリン (succinylcholine ; SCh) は、麻酔臨床では広く用いられているが、血漿コリンエステラーゼ (cholinesterase ; ChE) により速やかに加水分解されるため、生体に於ける SCh の分布・分解および排泄などの体内動態については不明な点が多い。本研究では、高速液体クロマトグラフィー (Hyper Performed Liquid Chromatography ; HPLC) を用いた SCh の測定系を初めて開発したので、臨床例で SCh の血中濃度を測定し薬物動態学的検討を行った。

対象は予定手術患者16名で、チオペンタールにて入眠後 SCh 1mg/kg (n=9) または SCh 2 mg/kg (n=7) を静注し、SCh 投与後30秒間隔にて5分後まで動脈血 1 ml ずつ採取し、直ちに 0.2 N 過塩素酸 1 ml と混和して除蛋白を行った。内部標準物質としてのブチリルコリン 50  $\mu$ g (0.1 ml) を混和後、4 $^{\circ}$ Cにて4000 rpm 20分間遠心し、上清 1 ml に 5M の炭酸カリウムを滴定して pH を 6 から 7 の間に調整した。これを 4 $^{\circ}$ C、400 rpm で 20分間遠心した後、上清 0.8 ml を BAS 社製 MF-1 マイクロフィルターを用いて遠心濾過 (4 $^{\circ}$ C、400 rpm、20分間) し、この濾過液 50  $\mu$ l を HPLC 装置 (BAS 社製 BAS 400A アナライザー) に注入して SCh の血中濃度の測定を行い、1分画モデルにて解析を行った。移動相の組成は、1 mM エチレンジアミン四酢酸 2 ナトリウムと 0.07 mM オクチル硫酸ナトリウムを含有した pH 8.4 の 0.05 M リン酸水素 2 ナトリウム  $\cdot$  12 H<sub>2</sub>O 溶液を用い、流速を 0.8 ml/分に設定した。カラム構成は、サクシニルコリン分離カラム、コリンエステラーゼ固定化酵素カラムとコリンンオキシダーゼ固定化酵素カラムで、カラム温を 35 $^{\circ}$ C にして測定を行なった。検出器は、電解セルと LC-4 B 型アンプより成り、電解セルにはデュアル白金作用電極および比較電極としての銀-塩化銀電極を使用した。設定印加電圧は +500 mV とし、検出器の感度を 20 nA に設定した。レコーダは日立社製 D-2500 形クロマトデータ処理装置を用いた。また、8例については、麻酔導入前の血漿コリンエステラーゼ (ChE) 活性値を Behringer Mannheim 社のコリンエステラーゼカラー「BMY」キットで求め、SCh の血中半減期との相関を求めた。

SCh 投与 30、60、90 および 120 秒後の平均 SCh 血中濃度は、1 mg/kg 投与群でそれぞれ 71.1  $\pm$  37.1、16.3  $\pm$  10.0、7.1  $\pm$  4.4 および 4.5  $\pm$  3.3  $\mu$ g/ml であり、2 mg/kg 投与群でそれぞれ 289.6  $\pm$  199.2、32.4  $\pm$  21.9、15.1  $\pm$  9.0 および 14.4  $\pm$  10.9  $\mu$ g/ml であった。いずれの投与量でも 150 秒以降は SCh は測定されなかった。1分画モデルによる解析では、SCh 1 mg/kg と 2 mg/kg 投与群では、分布容積の平均は 21.0  $\pm$  7.0 および 17.8  $\pm$  12.4 ml/kg、血中半減期の平均は 16.2  $\pm$  1.7 および 13.8  $\pm$  0.7 秒、またクリアランスの平均は 3.4  $\pm$  1.3 および 1.6  $\pm$  0.8 l/分であった。

血漿 ChE 活性値と SCh の血中半減期との間には相関関係が認められなかった。

本研究での測定原理は、HPLC 装置に注入された SCh は SCh 分離カラムにて分離され、固定化酵素カラム内で SCh とコリンエステラーゼとが反応しコリンオキシダーゼにて過酸化水素が放出され、その過酸化水素を白金電極にて検出する感度特異性のすぐれた方法である。

本研究での SCh の血中半減期は、SCh 1 mg/kg 投与群で平均 16.2 秒、SCh 2 mg/kg 投与群で平均 13.8 秒と非常に短かく、投与 150 秒後には血中の SCh を検出し得なかった。また、正常な血漿 ChE 活性をもつヒトに体重あたりの投与量を一定にしても各測定時点において標準誤差が大きく、酵素活性よりも他の因子特に循環時期などが大きな影響を与えているものと思われた。CL も SCh 両投与群でそれぞれ 3.4 および 1.6 ℓ/分と大きい値を示した。また、血漿 ChE 活性値と SCh の半減期の間には相関関係が認められなかったことより、SCh の急激な血中濃度の低下は、SCh の血漿 ChE による分解・代謝よりも、SCh の血管外への拡散による因子の寄与が大きいものと思われた。

## 審査結果の要旨

脱分極性筋弛緩薬であるサクシニルコリン (SCh) は、麻酔臨床では広く用いられているが、血漿コリンエステラーゼ (ChE) により速やかに加水分解されるため、生体に於けるSChの分布・分解、および排泄などの体内動態については不明な点が多い。本研究では高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いたSChの測定系を開発し、臨床例でSChの血中濃度を測定し薬物動態学的検討を行っている。

本研究での測定原理は、HPLC装置に注入されたSChがSCh分離カラムで分離され、固定化酵素カラム内でSChからコリンが発生し、さらにコリンオキシダーゼより過酸化水素が放出され、その過酸化水素を白金電極にて検出するものである。

16名の手術患者を対象に、麻酔導入時にSCh 1 mg/kg (n=9) またはSCh 2 mg/kg (n=7) を静注し、SCh投与後30秒間隔にて5分後まで動脈血 1 mlずつを採取し、直ちに過塩素酸で除蛋白を行い前処理を行ったのち、HPLC装置にてSChの血中濃度を測定し、1分画モデルにて解析を行った。なお8例については、麻酔導入前の血漿ChE活性値を求め、SChの血中半減期との相関を求めた。

HPLCを用いたSCh測定の信頼性を検討したところ、SChと対照として用いたブチリルコリンのクロマトグラム上の面積比と既知のSCh濃度との間にはよい相関関係が得られた。測定感度は10  $\mu$ g/ml、処理過程による損失率は6%で、臨床患者での測定に使用し得るものと考えられた。

SCh投与30, 60, 90および120秒後の平均SCh血中濃度は、1 mg/kg投与群でそれぞれ71.1, 16.3, 7.1および4.5  $\mu$ g/mlであり、2 mg/kg投与群でそれぞれ289.6, 32.4, 15.1および14.4  $\mu$ g/mlであった。いずれの投与量でも150秒以降はSChは測定されなかった。1分画モデルによる解析では、SCh 1mg/kgと2 mg/kg投与群では、分布容積の平均は21.0および17.8ml/kg、血中半減期の平均は16.2および13.8秒、またクリアランスの平均は3.4および1.6l/分であった。血漿ChE活性値とSChの血中半減期との間には相関関係が認められなかった。

血漿ChE活性値とSChの半減期の間には相関関係が認められなかったことより、SChの急激な血中濃度の低下は、SChの血漿ChEによる分解・代謝よりも、SChの血管外への拡散による因子の寄与が大きいものと思われた。

本研究は、従来その測定法が複雑であったり、不確実であったりしたため事実上不可能であったSCh濃度の測定を、HPLCを使用した測定系を開発することにより可能にし、血中SChの消長を臨床的に解析したもので、学位の授与に値する重要な研究であると認められる。