原 著

透析アミロイド骨関節症における関節滑液からのアプローチ

橋本 寛文 寺尾 尚民 山中 正人 片岡 真一
 竹 中 章 湯浅 健司 谷村 正信* 降幡 睦夫**
 大舘 祐治** 横田 欣也*** 横田 武彦*** 香川 征****
 高知高須病院泌尿器科 高知医科大学泌尿器科* 同第2病理**
 大樹会回生病院泌尿器科*** 徳島大学泌尿器科****

key words : synovial fluid, β_2 -microglobulin amyloidosis, dialysis osteo-arthropathy

〈要旨〉

長期透析患者が増加するにつれ、透析アミロイド骨関節障害は重大な合併症となっている。今回、膝関節炎にて関節滑液の貯留する維持透析患者8例(男性2例, 女性6例, 平均年齢65.9歳, 平均透析歴106か月)の関節滑液中アミロイドの存在について検討し、滑液および血清 β_2 -M 濃度についてもあわせて検討した。コントロールとして腎機能正常者の関節滑液についても同様の検討を行った。アミロイド染色において、コントロール群ではアミロイドは証明されなかったが、維持透析患者群では8例中6例にアミロイドが証明された。6例の平均透析歴は132.0か月で、うち4例では手根管症候群を合併し、典型的な synovial amyloidosis と考えられたが、61か月と比較的短い透析歴の患者でもアミロイドが証明された。この事実は透析導入後比較的早期に関節滑膜へアミロイド沈着が発生することを示唆しており、この患者では、現在膝関節以外の臨床症状はないものの、透析歴が長くなれば他の部分症の顕性化が予想される。次に、維持透析患者群における滑液中 β_2 -M 濃度 $18.3 \pm 4.9 \text{ mg/l}$ は血清濃度 $31.5 \pm 7.6 \text{ mg/l}$ に比し有意に低く、この理由として、コントロール群で両者間に有意差のないことより、維持透析患者の関節炎時の関節滑液中には蛋白分解酵素の存在が推察されるが、アミロイドが関節滑膜に多量に沈着している症例では血管やリンパ管の循環不全による組織液の移送障害からくる希釈なども推察される。また、維持透析患者群、コントロール群の両群において血清および関節滑液中 β_2 -M 濃度の間には有意な正の相関が認められた。

Clinical study of synovial fluid in dialysis amyloid osteoarthropathy patients

Hirofumi Hashimoto, Naotami Terao, Masahito Yamanaka, Shinichi Kataoka, Akira Takenaka, Kenji Yuasa, Masanobu Tanimura*, Mutsuo Furihata**, Yuji Ohtsuki**, Kinya Yokota***, Takehiko Yokota***, Susumu Kagawa****

Department of Urology, Kochi Takasu Hospital ; Department of Urology, Kochi Medical School*, Department of Second Pathology, Kochi Medical School** ; Department of Urology, Daijukai Kaisei Hospital*** ; Department of Urology, Tokushima University****

With the increase in the number of long-term hemodialysis patients, dialysis amyloid osteoarthropathy has attracted attention as a serious complication. We evaluated the presence of amyloid in the synovial fluid of 8 patients on maintenance hemodialysis showing retention of synovial fluid due to gonarthrosis (2 males and 6 females ; mean age, 65.9 years ; mean duration of hemodialysis, 106 months). In addition, the β_2 -microglobulin concentrations in the synovial fluid and serum were measured. Similar examinations were performed on the synovial fluid in controls with normal renal function. Staining for amyloid showed the absence of amyloid in the control group while it was present in 6 of the 8 patients on maintenance hemodialysis. The mean duration of hemodialysis in the 6 patients was 132.0 months. Carpal tunnel syndrome as a complication was observed in 4 of the 6 patients, suggesting typical synovial amyloidosis. However, amyloid was also detected in a patient with

a short duration of dialysis (61 months). This finding suggests that amyloid deposition in the articular synovium occurs in a relatively early stage after introduction of hemodialysis. In this patient, no clinical symptoms except gonarthrosis are observable at present, but other symptoms are expected to develop with prolongation of the duration of hemodialysis. In the maintenance hemodialysis patients, the β_2 -microglobulin concentration in the synovial fluid (18.3 ± 4.9 mg/l) was significantly lower than the serum β_2 -microglobulin concentration (31.5 ± 7.6 mg/l). In the control group, no significant difference was observed between the synovial and serum concentrations. These findings suggest the presence of proteinase in the synovial fluid in maintenance hemodialysis patients showing arthritis. However, in patients showing deposition of a large amount of amyloid in the articular synovium, dilution due to impaired transfer by tissue fluid caused by circulation failure in the blood and lymphatic vessels is also possible. A significant positive correlation was observed between the serum and synovial β_2 -microglobulin concentration in both control and dialysis patient groups.

長期透析患者が増加するにつれ、腎不全アミロイドーシスは合併症としての位置を明確にしてきた¹⁻⁴⁾。とりわけ、その部分症である骨関節障害は種々の病態を惹起し、重症例では整形外科的処置を要することもしばしば経験する⁵⁾。すでに報告しているように^{6,7)}、骨へのアミロイド沈着が慢性腎不全の保存療法期において存在する症例のあることから、これらの合併症への対応が急務であると思われる。維持透析患者において、関節炎による関節滑液貯留のある症例は臨床上よく経験するが、関節滑液の特性から滑液貯留の原因となる病態を検討した報告は少ない。今回、我々は膝関節炎にて関節腔に滑液の貯留する維持透析患者より滑液を採取し、滑液中アミロイドの存在とその意義について検討した。また、滑液中の β_2 -microglobulin (β_2 -M) 濃度を測定したが、腎機能正常者の膝関節滑液についてもアミロイド染色、 β_2 -M 濃度の測定を行ったのであわせて報告する。

対象・方法

対象は膝関節炎にて膝関節腔に滑液の貯留する維持透析患者 8 例(男性 2 例, 女性 6 例)で平均年齢は 65.9 歳, 平均透析歴は 106 か月, 平均血清 β_2 -M 濃度は 31.5 mg/l である。また、コントロール群は整形外科を受診し膝関節滑液を採取された腎機能正常者 8 例(男性 4 例, 女性

4 例)とした。コントロール群の平均年齢は 71.9 歳, 平均血清クレアチニン濃度は 0.79 mg/dl, 平均血清 β_2 -M 濃度は 1.9 mg/l である(表 1)。維持透析患者群に使用している透析膜は全例 high flux membrane であり, 8 例中 4 例は手根管症候群を合併し, いずれも手術時得られた手根管滑膜にアミロイドの沈着を認めた。方法はこれらの維持透析患者群およびコントロール群の膝関節より採取した滑液をただちに 3,000 rpm, 10 分間遠心し, 上清にて β_2 -M 濃度を測定する。得られた沈渣を生理食塩水で混合洗浄し, 再度 1,500 rpm, 5 分間遠心の後, その沈渣に 20%緩衝ホルマリンをゆっくり重層, 4°C24 時間固定する。次いでパラフィン包埋し, アルカリコンゴ赤染色および偏光顕微鏡による観察を行った。また, 抗 β_2 -M 抗体 (DAKO Japan) を使用した ABC 法による免疫組織化学的染色もあわせて行った(図 1)。

また、関節滑液中 β_2 -M 濃度は前述のごとく最初の遠心後の上清にて測定し、維持透析患者の血清値は関節滑液採取日の透析前の血清にて測定した。

結果

1. 関節滑液アミロイド染色(表 2)

コントロール群ではアミロイドは証明されなかったが、維持透析患者群では 8 例中 6 例にアミロイドが証明

表 1 Patients with persistent swelling and effusion in the knee joint (maintenance hemodialysis patients and control subjects)

1) Maintenance hemodialysis patients	
Sex	male 2 female 6
Average age	65.9 $\pm$ 12.1 years (42~77)
Average duration of hemodialysis	106.0 $\pm$ 65.1 months (12~216)
Average level of serum β_2 -microglobulin	31.5 $\pm$ 7.6 mg/l (24.6~52.9)
2) Control subjects	
Sex	male 4 female 4
Average age	71.9 $\pm$ 10.3 years (52~84)
Average level of serum creatinine	0.79 $\pm$ 0.20 mg/dl (0.5~1.0)
Average level of serum β_2 -microglobulin	1.9 $\pm$ 0.6 mg/l (1.3~3.1)

表 2 Clinical features of maintenance hemodialysis patients with persistent swelling and effusion (contained results of amyloid staining)

Patients No	Sex	Age	Duration of dialysis	CTS	CRL	Amyloid staining	
						ACR	IHC (ABC method)
1	F	42	216	bilateral	G2	2+	+
2	F	77	154	bilateral	G4	+	+
3	F	71	118	unilateral	G3	+	+
4	F	69	114	bilateral	G4	2+	+
5	F	77	128	(-)	G3	+	+
6	M	65	61	(-)	G1	+	+
7	M	54	45	(-)	G3	-	-
8	F	72	12	(-)	G1	-	-

ACR : Alkaline congo red staining IHC : Immunohistochemical staining

された。関節滑液沈渣のアルカリコンゴ赤染色における陽性部位 (図 2) は偏光顕微鏡にて緑色偏光 (図 3) を示し、免疫組織化学的染色においても同部位に陽性所見を得た (図 4)。6 例の透析歴は 61 ないし 216 か月で平均 132.0 か月であった。透析歴の短い 2 例ではアミロイドは陰性であった。また、アミロイド陽性の 6 例のうち、手根骨 cystic radiolucency の分類³⁾における grade 4 は 2 例に認められた。

2. 関節滑液 β_2 -M 濃度

維持透析患者群では関節滑液中 β_2 -M 濃度は $18.3 \pm 4.9 \text{ mg/l}$ と血清濃度の $31.5 \pm 7.6 \text{ mg/l}$ に比し有意に低下 ($P < 0.001$) していたが、コントロール群では有意差はないが、滑液中濃度が高値の傾向を示した (図 5)。また、維持透析患者群、コントロール群の両群において、血清および関節滑液中 β_2 -M 濃度の間には有意な正の相関が得られた (図 6, 7)。

考案

腎不全アミロイドーシスは維持透析患者の systemic な合併症であり、その部分症は多岐にわたる。アミロイドが滑膜に親和性のあることを考えれば、人体最大の滑膜を有する膝関節が絶好の沈着部位であることは言を待たない。今回、維持透析患者の膝関節滑液中アミロイドの存在を検討したが、過去に同様の報告は少なく、1985 年 Gómez ら⁹⁾が平均透析歴 8.6 年 (103.2 か月) の 6 例中 5 例に、1986 年 Sethi ら⁹⁾が平均透析歴 10.1 年 (121.2 か月) の 7 例中 4 例に、1989 年本間ら¹⁰⁾が平均透析歴 12.4 年 (148.8 か月) の 7 例中 5 例に滑液中アミロイドの存在を認めたとするのみである。我々の結果では、8 例中 6 例にアミロイドが証明された。固定染色方法については、Gómez ら、Sethi らの報告には詳しい記載がなく、本間らは凍結保存の関節滑液を解凍後に処理している。我々は関節滑液を採取後ただちに遠心し、4℃24 時間固定し、パラフィン包埋の後、染色を行った。アミロ

図 1 Fixation and staining method of synovial fluid sediments (after centrifugation)

イドが陰性の 2 例も関節滑液中 β_2 -M 濃度はアミロイド陽性の 6 例と同様に高値を示したことより、低温処理に伴う β_2 -M の aggregation によるアミロイド形成は否定できると思われる。なお、今後、常温での処理も検討する必要があると考えられる。アミロイド陽性の 6 例中 4 例は手根管症候群を合併し、synovial amyloidosis の典型例と考えられた。他の報告¹⁰⁾と同様に、透析歴の短い 2 例ではアミロイドは認められなかったが、アミロイド陽性の 6 例中 1 例では、透析歴が 61 か月と比較的短いにもかかわらず、アミロイドが証明されたことより、この症例では現在膝関節以外の臨床症状はないものの、将来透析歴が長くなれば、腎不全アミロイドーシスの他の部分症の顕性化が予想される。Gómez ら⁹⁾も透析歴 5 年の患者の膝関節滑液中にアミロイドを認め、滑膜組織へもアミロイド沈着を認めたとしている。この事実は透析導

図 2 Positive reactions with alkaline congo red staining in synovial fluid sediments

図 4 Positive reactions in similar sites with immunohistochemical staining using anti- β_2 microglobulin antibodies

図 3 Positive reactions in similar sites with birefringence under polarized light

図 5 Serum and synovial fluid levels of β_2 -microglobulin

入後、比較的早期に関節滑膜へのアミロイド沈着が始まっていることを示唆しており、臨床で、維持透析患者の骨関節障害を診療する上で注意を要する。

また、維持透析患者の滑液中 β_2 -M 濃度は血清 β_2 -M 濃度に比し有意に低く、この理由として、コントロール群での両者に差のないことから、維持透析患者群の関節炎時の関節滑液中には蛋白分解酵素の存在も予想され

る¹⁰⁾が、現在のところ、文献的に特定されるものではなく、今後の研究課題だと思われる。また、アミロイドが関節滑膜に多量に沈着しているような症例では血管やリンパ管の循環不全による組織液の移送障害からくる希釈なども推察されるが断定はできない。次に、血清および滑液中 β_2 -M 濃度の関係をみると、維持透析患者群では有意な正の相関が得られた。これは Sethi ら⁹⁾の報告と同様で

図 6 Relation of synovial fluid and serum levels of β_2 -microglobulin (β_2 -M) in patients undergoing maintenance hemodialysis

図 7 Relation of synovial fluid and serum levels of β_2 -microglobulin (β_2 -M) in normal subjects

あるが、本間ら¹⁰⁾の報告とは異なる。しかし、これらの報告はいずれも症例数が少なく、結論は出し得ないと考えられる。また、コントロール群においても有意な正の相関が得られた。今後、滑液中の他の蛋白濃度の測定や維持透析患者の剖検時に関節炎のない正常滑液についても検討する必要があると思われる。

結論

膝関節炎にて関節滑液の貯留する維持透析患者において滑液中アミロイドの存在および滑液中 β_2 -M 濃度について検討した。8 例中 6 例にアミロイドが証明され、うち 4 例では手根管症候群を合併する典型的な synovial amyloidosis であった。6 例の平均透析歴は 132.0 か月であり、うち 1 例の透析歴は 61 か月と比較的短く、この症例では将来、透析歴が長くなれば腎不全アミロイドーシスの他の部分症の顕性化が予想される。また、維持透析透析患者における滑液中 β_2 -M 濃度は血清 β_2 -M 濃度に比し有意に低く、滑液中 β_2 -M 濃度と血清 β_2 -M 濃度の間には有意な正の相関が認められた。

本論文の要旨は第 38 回日本透析療法学会総会（1993 年幕張）において発表した。

文献

- 1) Hashimoto H, Terao N, Yamanaka M, Takenaka A, Yuasa K, Furihata M, Ohtsuki Y, Kuwahara M, Fujisaki N, Numata A, Kagawa S : Carpal tunnel syndrome in patients undergoing maintenance hemodialysis : Amyloid deposits and cystic radiolucency ; Blood puri. 投稿中
- 2) Gejyo F, Yamada T, Odani S, Nakagawa Y, Arakawa M, Kunitomo T, Kataoka H, Suzuki M, Hirasawa Y, Shirahama T, Cohen AS, Schmid K : A new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis was identified as β_2 -microglobulin Biochem. Biophys Res Commun 129 : 701-706, 1985
- 3) 宮本忠幸, 小松文都, 橋本寛文, 竹中 章, 寺尾尚民, 桑原和則, 山本博司 : 透析アミロイドーシスと手根骨の cystic radio lucency (CRL) に関する検討。透析会誌 22 : 1183-1188, 1989
- 4) 橋本寛文, 湯浅健司, 寺尾尚民 : ワークショップ 3 透析アミロイドーシスの病態と対策 ; 腎不全アミロイドーシス一骨病変からの検討。透析会誌 25 : 247-248, 1992
- 5) 楊 鴻生 : ワークショップ 3 透析アミロイドーシスの病態と対策 ; 透析アミロイドーシスに対する整形外科的治療法および対策について。透析会誌 25 : 259-261, 1992
- 6) 桑原守正, 西谷真明, 松下和弘, 中村晃二, 藤崎伸太, 橋本寛文, 降幡睦夫, 大肚祐治, 香川 征 : 慢性腎不全患者の保存療法期における骨組織の検討。透析会誌 26 : 651-656, 1993
- 7) 橋本寛文, 小松文都, 宮本忠幸, 竹中 章, 寺尾尚民, 桑原和則, 大肚祐治 : 透析導入患者骨組織の臨床病理学的検討。透析会誌 22 : 709-714, 1989
- 8) Muñoz-Gómez J, Bergadá-Barado E, Gómez-Pérez R, Llopart-Buisán E, Subías-Sobrevía E, Rotés-Querol R, Solé-Arqués M : Amyloid arthropathy in patients undergoing haemodialysis for chronic renal failure : a new complication. Ann Rheum Dis 44 : 729-733, 1985
- 9) Sethi D, Gower PE : Synovial-fluid β_2 -microg-

lobulin levels in dialysis arthropathy. N Engl J
Med 27 : 1419-1420, 1986

者の関節内アミロイド物質と関節液 β_2 -microg-
lobulin 濃度の検討. 腎と骨代謝 2 : 403-407, 1989

10) 本間則行, 丸山弘樹, 下条文武, 荒川正昭：透析患