

図1 RA患者の罹病年数に伴う関節破壊の進行。I群は少関節破壊型、II群は多関節破壊型、III群はムチランス型病型。

のことであるが、診断基準は感度と危険率を前提にしたものであり、絶対的なものではないので、観察は続けなくてはならない。

診断基準が満たされた後に、患者の不自由度が長期経過でどのようになっていくかを調べようとしたのが以下の研究である。患者の不自由度あるいは、整形外科医が重症だなあと感じる指標を種々検討して、結局は全身の関節の単純 X 線像で破壊を認める関節数(破壊関節数; 後述)が最も的確と結論して研究を進めた。

B. RA患者の関節破壊の広がり と病型

RA と診断された患者の関節破壊が将来どのように進行していくのか、10年以上の経過でどのようになっていくのかを調べた。大阪大学附属病院および関連施設において罹病早期より10年以上の経過を観察できたRA患者を対象に、関節破壊進行の自然経過を解析した^{7),9)}。代表的な30例の全身の68関節中の破壊関節数(number of joints with erosion; NJE)の経年的な変化を図1に示す。縦軸の破壊関節数は全身68関節のX線写真よりerosion以上の変化を示す関節数で、RAによる関節破壊の広がり を示す。横軸はRAの罹病年数を示す。罹病5年ぐらいいまでは徐々にNJEが増すが10年以後はほとんど変わらないI群、罹病早期よりNJEは急激に増し10年以内にほとんどの関節が侵され、それ以後はほとんど変わらないIII群、およびI群とIII群の間のII群である。IIおよびIII群を重症RAと呼べる

が、われわれの調べた母集団全体の中では約30%を占めた。図1に示されるように、NJEの群間の相違は10年以上で明瞭になるので、罹病10-15年の240例の成人発症RA患者を無作為に集め、全身関節の単純 X 線像よりNJEを評価してその分布を調べた。

その結果、独立したポアソン分布を示す3つのピークが見られた。罹病10-15年でのRA患者は関節破壊の広がり の程度によって3群に分かれたわけである。それぞれのグループが10-15年でのどの程度の関節破壊に陥っているかの平均NJEは10.9(SD=0.5), 32.2(SD=4.8), 53.5(SD=4.8)であった。統計学的に3群が示されおのおのをとりあえず少関節破壊型病型(least erosive subset; LES), 多関節破壊型病型(more erosive subset; MES), ムチランス型病型(mutilating disease; MUD)とよぶ¹⁰⁾。

C. 関節破壊の病型別特徴

1. 破壊関節部位の予後の概略

各病型を関節破壊の広がり で分類したが、侵される関節にも特徴がないかを調べた。図2は各病型の罹病10年以上での関節破壊部位を、X線上erosion以上に侵された関節の頻度で調べた^{7),9)}のものである。LESでは手関節(72%), 手足の指MP関節(22-29%)などの末梢小関節の破壊が主体で機能障害も軽度である。MESでは末梢小関節はもとより、さらに膝関節(76%)や股関節(37%)などの大関節も侵され機能障害は重度であるが、合併症が軽度で再建手術で十分の機能を回復できる。MUDではほぼ全関節が高度に破壊され、合併症も重度で再建手術も効果は少なく、寝たきりになることも多い。

2. 各関節破壊進行の病型別特徴

関節破壊の広がり と部位の予後は上記のようなものである。同じ関節の破壊でも、その程度は病型によって大きく異なる。概して言えば、LESは増殖性滑膜炎による関節のerosionが主体である。MUDでは靭帯の高度な変性による弛みに起因する不安定な動きにより、高度な骨粗鬆症に陥った骨が圧壊されるのが主体である。MESではLESとMUDの移行型で、炎症の程度によってLES寄り、またはMUD寄りになっている。以下に各関節に見られる破壊の概略を述べる。

a. 手の症状

ほとんどの例で手の腫脹、疼痛、可動域制限が認められるが、予後は病型により異なる。LES症例の場合には70%以上の頻度で手関節のX線的变化を認め、しばしば橈尺関節の亜脱臼も見られる。しかし、罹病10

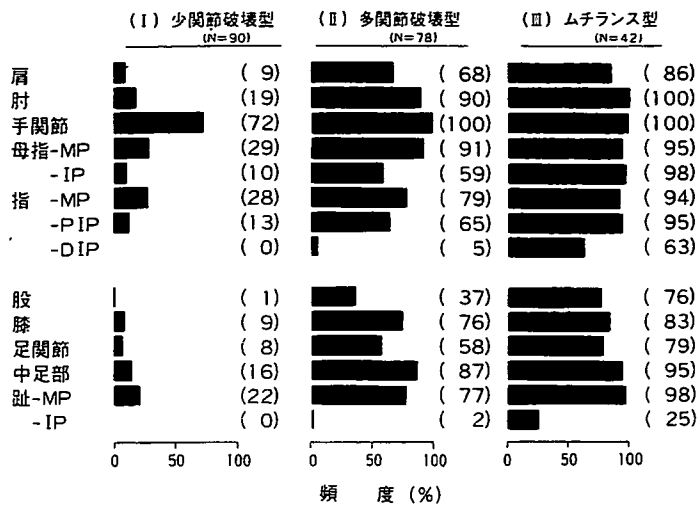


図2 罹病10-15年の各病型のRA患者の破壊関節部位。破壊の確率を%表示した。

年以上経っても X 線像(図3)では近位手根骨列の靡爛(erosion)による関節裂隙の狭小化(図3-A), または橈骨と手根骨の一部が癒合する(partial fusion: 図3-B)程度である。亜脱臼変形は少なく, 握力もよく保たれる。MESやMUDの重症RAの場合には, ほぼ全例で進行した手関節破壊が認められる(図4)。罹病10年経ったMUDの場合には, 手関節は掌尺側へ高度な亜脱臼を起こす(図4-C)か, 比較的炎症反応の軽度の症例では, 関節が骨化により固定(図4-A)されてしまう。MES症例では経過中の炎症反応値と関連して, 上記のLESに認められる軽度の破壊に終わるものから, MUDに認められる高度な破壊までさまざまなものが認められる。しかし通常はMESに認められる関節裂隙の狭小化(図4-B)は, 手根骨の近位手根骨列の中程度以上の破壊を伴う。手関節の掌尺側への亜脱臼が進み, 変形と脱力が進行する。

LES, MESともに通常は指関節の罹患も伴うが, MESの方が高度である。中手指節間(MP)関節の慢性的腫脹が続き屈曲拘縮が起きると, いわゆるスワンネック変形になりやすい。また近位指節間(PIP)関節の場合にはボタンホール変形になりやすい。MUDでは通常は手指関節部の骨の壊滅により, 関節は緊張を失いブラブラになり, いわゆるオペラグラス変形に陥る。総指伸筋腱や長母指伸筋腱などの腱断裂もしばしば見られる。

b. 足の症状

いずれの病型でも, 足趾のMP関節炎に伴う足底(MP部の)痛, 前足部の開張, 外反母趾, 足趾変形拘

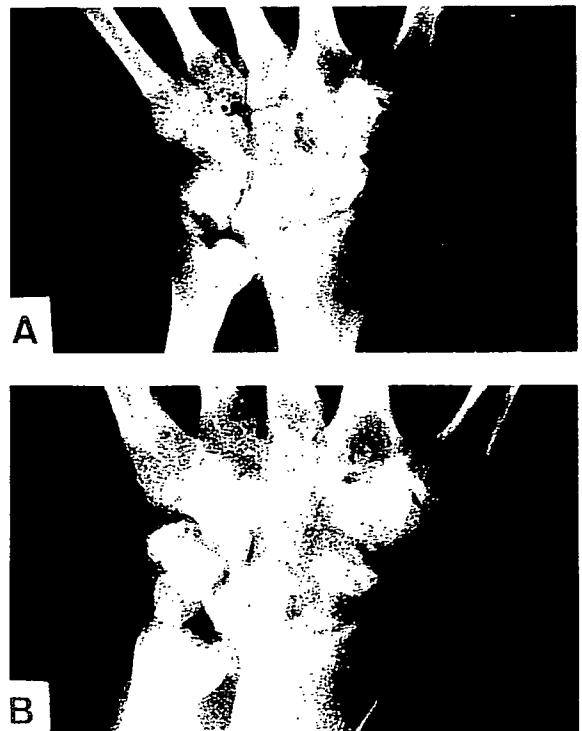


図3 LES群の罹病10年以上での手関節の X 線的予後像。

縮(hammer toe)などの変形を起こす。中足部距舟関節炎は高頻度で見られ, 特にでこぼこ道での足痛を訴える。LESでは距舟関節の狭小化にとどまる。

MESやMUDの重症RAの中足部では, 距舟関節の亜脱臼が進むことが多い。その場合には足の縦軸アーチが崩れて扁平足変形が進むとともに, 後足部では距

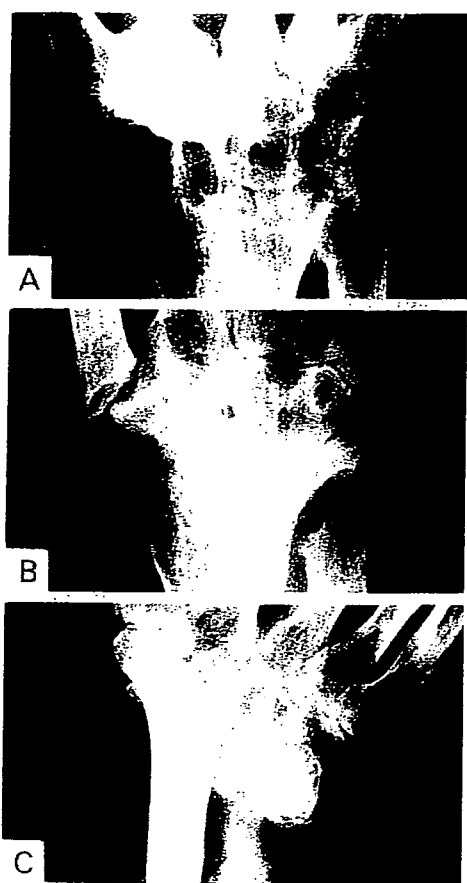


図4 MESおよびMUD群の罹病10年以上での手関節のX線的前後像。

踵関節での外反変形が進行して典型的な外反扁平足になり、強い疼痛を伴う歩行障害に陥る。

c. 脊椎の症状

頸椎変化も高頻度に認められる。読書やテレビを見たり頸椎の前屈位を続けていて後頭部痛や頸肩痛を訴えるときには、頸椎の罹患を考慮して頸椎側面の運動像のX線を撮るべきである。環軸椎(C1/2)亜脱臼は、LESでも高頻度で見られるが、5mmまでの程度でとどまる。

MESやMUD例になると環軸椎亜脱臼も高度になり、10mmを越える例もしばしばであり、固定手術の適応となる。特にMUDでは、進行とともに軸椎が頭蓋内に陥入(vertical invagination)していく。高度な変形が進むと四肢麻痺に陥るので、それ以前の固定手術が必要になる。また頸椎に限らず胸腰椎にも、高度の骨粗鬆症と靭帯の弛みにより、椎体が力学的に耐ええず圧壊が進行し、脊髄圧迫症状を呈することもある。

d. 肩関節の症状

肩に起きるRA症状は肩関節周囲炎症状に始まり、関節破壊へと進んでいく。LES症例では関節面の靡爛を伴いながら滑液囊癒着による拘縮の程度で止まる。挙上運動は肩甲骨での可動域が主になる。

MESやMUDの場合には、関節軟骨の変性による関節裂隙狭小化が進む。さらに腱板変性あるいは断裂に起因する上方亜脱臼、関節支持組織全般の弛みによる下方亜脱臼などを伴う。特にMUDでは、亜脱臼位での接触面で骨の圧壊が起き、本来の関節構造を失って不安定で高度な関節破壊に陥っていく。

e. 肘関節の症状

肘の罹患の初期には、運動痛と屈曲拘縮がまず起きる。橈尺関節部に炎症が及ぶと、前腕の回内外運動の制限が起きる。LESの例の場合にはこの段階でとどまるのが通常である。

MESやMUDの場合には、肘関節は関節面の圧壊により前後方向への亜脱臼が進み、強い運動時痛とともに筋力や可動域は著減する。不安定肘に伴って尺骨神経への緊張がかけられ、種々の程度の尺骨神経麻痺がしばしば見られる。

f. 膝関節の症状

LESの場合には、膝の関節炎は起きててもX線的な病変にまで進むことは少ない。しばしば関節周囲の滑液囊炎(ペーカー嚢腫など)を伴い、破裂すると下腿の著明な腫れと痛みが持続する。

膝に非可逆的な破壊が起きるのはMESとMUDである。MUDでは膝は靭帯の著明な弛みにより不安定になり、胫骨が後方、側方に亜脱臼し、高度な骨粗鬆症に陥った骨が接触面で圧壊されながら屈曲内(外)反拘縮に陥っていく(図11)。MESでは顕著な滑膜炎による関節面のerosionと、MUDより軽度であるが靭帯の弛みと骨の圧壊も起きて、屈曲または内外反拘縮が進行して歩行困難に陥る。

g. 股関節の症状

LESでは股関節破壊は少ない。しかし、ステロイドを連用した例では、大腿骨頭壊死様の機序が加わって起きたのではないかと疑われる症例にしばしば遭遇する。

股関節破壊は通常はMES、MUDなどの重症RAで見られる。関節痛と可動域制限で歩行障害に陥り気づく。MUDではしだいに大腿骨頭とともに臼蓋側も高度な骨破壊が進行して、いわゆる中心性脱臼に陥っていく。

表1 各病型の患者の早期診断の指標

指 標	各 病 型 の 特 徴		
	LES	MES	MUD
破壊関節数 (罹病 10 年以上)	10.9(SD=0.5)	32.2(SD=4.8)	53.5(SD=4.8)
血中 Clq 値($\mu\text{g/ml}$) (罹病 5 年以内)	<200 $\mu\text{g/ml}$	250 $\mu\text{g/ml}$ <	250 $\mu\text{g/ml}$ <
CHR の減少($\times 10^{-2}/\text{年}$) (罹病 3 年以内)	0.6(SD=0.3)	2.3(SD=0.7)	9.3(SD=4.8)
血中 CRP 値(mg/dl) (罹病 5 年以内)	低値の持続	(+)または 4 mg/dl 以上の持続	(+)または 4 mg/dl 以上の持続
腸骨骨髓中の HLADR(+)CD 8(+) T細胞	有意の増加	有意の増加	増加傾向(有意差なし)
腸骨骨髓中の CD 15(+)CD 16(-)細胞	正常範囲	有意の増加	有意の増加
罹患関節部骨髓中の MY 4(+)MXGA(+)	認めず	存在	存在

h. 関節外症状

炎症関節近傍のリンパ腺腫大, 手根管症候群に見られる正中神経麻痺症状のように絞扼性神経疾患, 瀰漫性間質性肺線維症による呼吸容積の減少, 結膜や角膜の障害により Sjögren syndrome や自己限局性の上強膜炎, そしてリウマチ結節などは LES にでも認められる関節外症状である。

MES や MUD ではさらに重篤な症状が加わる。軽度の内膜肥厚から壊死性動脈炎まで種々の血管炎, 無症状に進行していることが多いが, 心膜炎は剖検例の約 40% に認められると言われている。リウマチ結節が肺内にできて肺癌と区別の困難なこともある。眼症状でも MUD では, 強膜炎が進行して穿孔性強膜軟化症に至ることもある。

II. 各病型の早期診断の手がかり^{7),9)}

罹病早期に病型診断を可能にする指標を並べる(表 1)。RA の進行を止める治療法がない現在において, 早期の病型診断はそのまま早期の予後診断となる。以下に病型診断の指標を述べる。

A. 血清中の Clq 蛋白量

補体の第一垂成分である Clq 値は LES と重症病型(MES と MUD)とを早期に鑑別する指標となる。測定方法は特異抗血清を用いての single radial immunodiffusion 法によった。ポリクロナル抗体ではうまくいくがモノクロナル抗体ではうまくいかないことがしばしばなので, 注意していただきたい。健常人の平均値である 136.5 $\mu\text{g/ml}$ に比べ RA 患者は 211.9 $\mu\text{g/ml}$ と統

計的にも明らかな高値をとる。Clq 蛋白量は罹病 5 年以内では RA 患者おのおのの個人で安定した一定値を示し, 病型診断の有力な指標になる。図 5 に示すように, LES 症例では全期間を通じて Clq 値が 250 $\mu\text{g/ml}$ を越えることはない。MES および MUD 症例の Clq 値はいずれも罹病 5 年以内では 250 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示し, MUD 症例では, とりわけ高値を示した。いずれも罹病 10 年以上になると徐々に正常化傾向を示す。この値の変動を見ていると軽症に経過する LES と, 重症に経過する MES または MUD とは罹病早期より明確に一定の自然経過が決まっていることを感じる。

B. 手根骨破壊の速さ

手関節破壊の程度を第 3 中手骨長に対する手根骨長(carpal height ratio ; CHR ; Youm, et al.¹⁹⁾; 図 6)で評価し, 手関節破壊の速さはその 1 年当りの減少率(Δ CHR)で評価した⁹⁾。罹病 3 年以内で手関節破壊が始まっている罹患手関節を対象に比較検討した。骨破壊の速さは罹病早期から各病型で明らかに異なり, Δ CHR は各病型により高度の有意差を示した。この評価は約 1 年の経過を見ての判断指標である。

C. CRP 反応

ルーチンで行われている臨床検査値としては CRP 反応は RA の自然経過を最も反映している。罹病 5 年以内の CRP 反応は MES, MUD とともに何度調べても強陽性(2+または 4 mg/dl 以上)を示す。それに対して LES では 88% の例で常時またはときどきにでも陰性を示している。低い値での CRP 値の変動は LES である確率が高く, 予後診断の指標になる。いずれの病型の症例

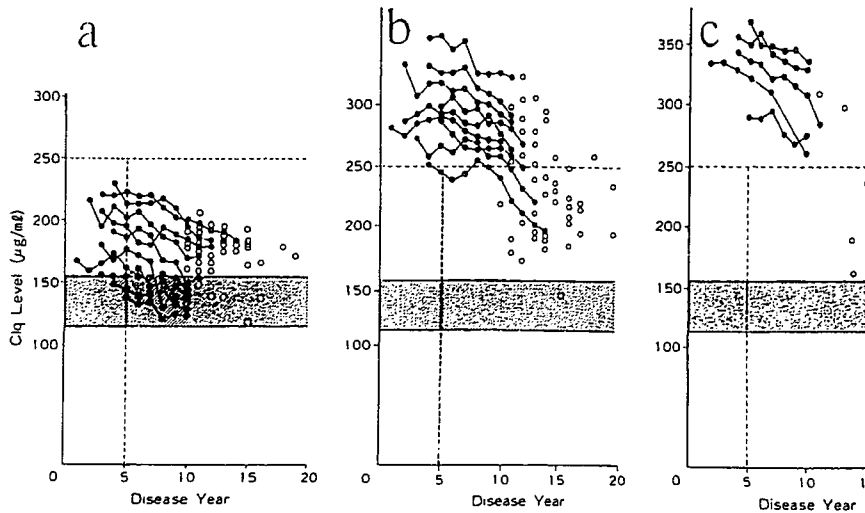


図5 RA患者の各病型別にみた血中C1q値の経年的変動. aはLES, bはMES, cはMUD. 横軸は罹病年数, 縦軸は血中C1q値(µg/ml)を示す. 斜線部位は正常値の範囲を示す.

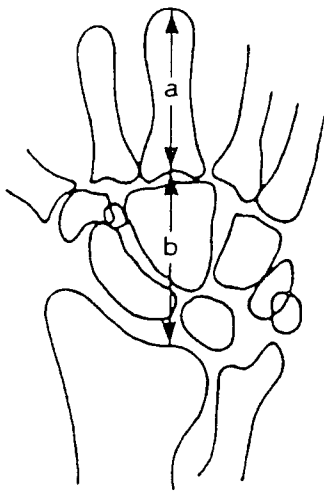


図6 Calpal height ratio (CHR); Youmら¹⁹⁾. 第3中手骨長(a)に対する手根骨長(b)の比を言う(b/a).

も罹病年数が10年を越すと陰性の率が増し, 炎症の鎮静化の傾向を示した.

D. 関節破壊の特徴

高齢発症RAでは, 軽症の経過をとる例でも, あらかじめ変形性関節症変化のあった膝や股関節に骨破壊が進行することはよく認められる¹¹⁾. また成人発症RAでは, 軽症例でもステロイド使用例などで大腿骨頭無腐性壊死が起きることがある. しかし, 成人発症RAで軽症病型(LES)では一般に, 膝や股関節にはX線で認めるほどの骨変化を認めることは少ない. 成人発症RAで多関節のerosionが進み, 膝や股関節にもerosionが

認められ始めるとMESかMUDの可能性が高い. 特に膝関節などerosionというよりも, 顕著な靭帯の弛緩と骨粗鬆症による関節の不安定性と骨の圧壊が認められるとMUDの可能性が高い.

E. 骨髓単核球分画の病態的相違

動物実験系において多発関節炎発症の病巣が滑膜のみでなく, 骨髓にもあるらしいことが示唆された^{2)-5),11)}. そこで, RA患者でも骨髓に異常が起きていないかを検討した. 特に前記の3病型が本当に“病型”と言えるものなら, 病態的相違が明確でなければならない. これを滑膜病態では明らかにできなかった. 病態的検討を骨髓細胞のレベルで検討した. 骨髓としては, 全身性の骨髓細胞を示す腸骨骨髓細胞と関節部の長骨骨端部骨髓として胫骨骨髓細胞^{9),14),15)}を対象とした. 厚生省の慢性関節リウマチの調査研究事業の病態解明に関する研究班において, RA患者の骨髓が調べられているので報告¹²⁾をご参照いただきたいが, 本稿ではわれわれの研究室での研究結果のなかの本論旨に必要な部分として, 腸骨骨髓細胞単核球分画の変化についてのみ述べる.

健常成人において造血系の細胞は胸骨, 腸骨, 椎骨などの骨髓中に存在することが知られている. 造血系組織における細胞の変化を知るためには, 検体採取の比較的容易な腸骨から手術時に骨髓血を採取し調べた. RA患者の腸骨骨髓血より単核球分画の細胞数の変化を調べた. 平均細胞数(SD)/mm³は健常人では1245(823)に対してLES: 2640(1649), MES:

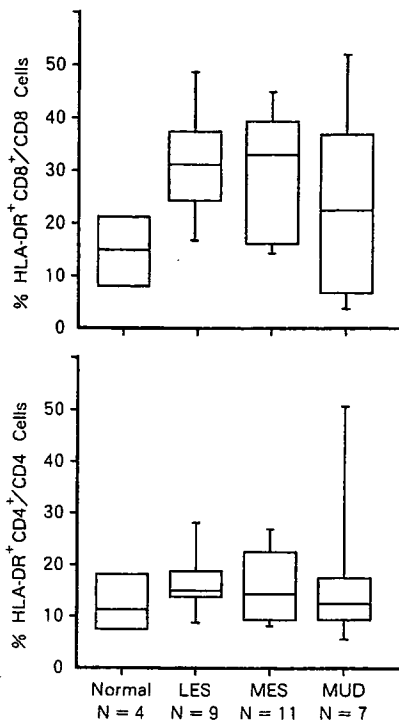


図7 腸骨骨髓単核細胞中の CD 8(+)細胞の総数に対する活性型の HLA-DR(+)の CD 8(+)細胞の比率(上)と CD 4(+)細胞の総数に対する活性型の HLA-DR(+)の CD 4(+)細胞の比率(下). 左から非 RA 対照, LES, MES, MUD.

3843(3340), MUD: 3465(1721)と RA 全般に顕著な増加を認めた. しかし, 胫骨骨髓での単核球分画の平均細胞数(SD)/mm³は健常人で 952(276)に対して RA 患者では 1625(1322)と有意の増加を示さなかった. 末梢血の単核細胞数でも健常人と RA 患者の間に有意差は認めなかったが, このことは単核細胞が盛んに造られて急速に破壊されていることを示唆している.

腸骨での細胞の表面抗原マーカーのモノクロナル抗体を細胞膜と反応させ, フローサイトメトリーにより解析した. 腸骨骨髓単核細胞中で有意差が認められたのは, CD 8(+)細胞の総数に対する活性型の HLA-DR(+)の CD 8(+)細胞の比率の上昇(図 7 上)と, 骨髓球系細胞の絶対数の上昇(図 8)とであった. HLA-DR(+)CD 8(+)細胞の総 CD 8(+)細胞に対する平均構成比率(SD)は健常人の 14.1(8.3)%に対して, 末梢小関節破壊に終わる予後良好軽症 RA(LES)では 30.5(12.4)%, 大関節にも破壊が及ぶ病型(MES)では 39.1(16.4)%と, いずれも有意の高値を示した. しかもこの 2 病型間には差を認めず, 滑膜増殖を伴う RA としては基本的病態と思われた. 全身性に高度の組織破

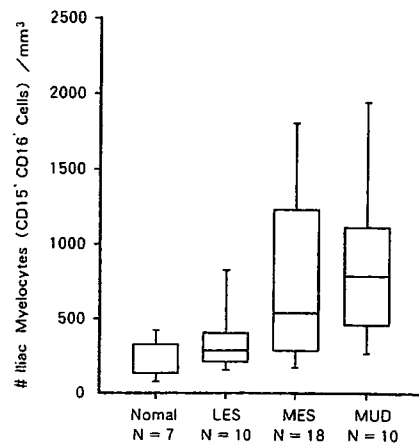


図8 腸骨骨髓中の骨髓球系細胞[CD 15+CD 16-]の絶対数[(SD)/mm³]. 左から非 RA 対照, LES, MES, MUD.

壊が進むムチランス病型(MUD)では, なぜか低値の例が含まれ 27.4(16.3)%で健常人との有意差を認めなかった.

骨髓球系細胞[CD 15+CD 16-]の腸骨骨髓中での絶対数(SD)/mm³(図 8)は健常例; 208(137)に比べ, LES では 631(773)と有意差(p<0.05)は少ないが, 重症 RA の 2 病型群では MES; 1171(1835), MUD; 1230(1179)と有意に増加し(p<0.01), 他の細胞分画と同様に増殖の亢進が認められた. 当然のことながら, 末梢血では骨髓球を認めず, facs の値は background の値を示した.

もう少し詳細に重症 RA 患者の腸骨の骨髓球分画を調べてみると, 図 9-B のように MXGA(+)MY 4(+)と MXGA(+)MY 4(-)の 2 つの細胞集団が見られた. MXGA(+)MY 4(-)は図 9-C に示される正常の骨髓球系細胞の膜抗原の特徴を示している. しかし, MXGA(+)MY 4(+)は通常は骨髓球系細胞に認められない膜抗原であり, またこの細胞群は悪性腫瘍細胞膜の特異抗原と考えられている糖鎖膜抗原(difucosylated type 2 chain)を持つことでも特異的であった. 驚いたことに, 重症 RA 患者の腸骨において MY 4(-)の骨髓球から MY 4(+)の骨髓球が産生されていることが分かった. MXGA(+)MY 4(+)の細胞を sorting して, やはり骨髓球系細胞であることは確認した. 意外にも図 9-A に示されるように, 異常な MXGA(+)MY 4(+)の骨髓球が罹患関節部骨髓に集積していたのであった.

HLA-DR(+)CD 8(+)細胞の結果と併せて考えると,

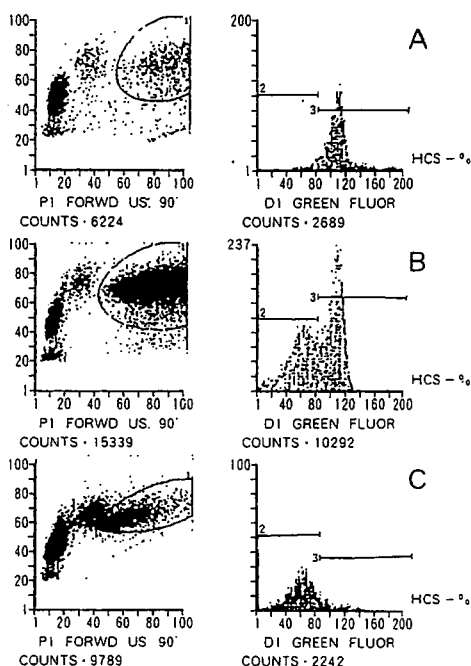


図9 骨髄球系細胞[MXGA(+) $CD\ 16(-)$]を対象にMY 4抗体を用いてのsingle colorでの解析。A：重症RA患者脛骨の骨髄球分画，B：重症RA患者脛骨の骨髄球分画，C：健康人対照の脛骨の正常の骨髄球。

腸骨骨髓中の細胞の変化は関節破壊の広がり、自然経過によって異なった特徴を示した(図10)。骨髄細胞病態だけで言うならば、HLA-DR(+) $CD\ 8(+)$ のT cellの増加が見られる状態が多発性の滑膜増殖を伴うRAの一般型(LES)であり、ここに異常な骨髄球系細胞の誘発が加わればMESになるのではないかと。異常な骨髄球系の反応は靭帯や骨の高度の変性変化を導くもので、MUDの病像はその典型ではないかと。MESでは異常な骨髄球系の分化が、活性化されたT細胞によってむしろ抑えられて¹²⁾、MUDほどの極端な組織破壊を示さないのではないかと。また視点を変えれば、RAの病型あるいは予後診断の手がかりは、腸骨の単核細胞分画を調べることによって可能である(表1)と考えられた。骨髄の細胞の病態の詳細については本稿では割愛させていただきます。

III. 治療方針

RAに対する基本的な治療¹³⁾は、精神的なことも含めての日常生活上の配慮と薬物療法であることは言うまでもない。RAであれば抗リウマチ剤(DMARDs)という考えを改めるべきと考えている。たとえば、骨髄病態のみで考察してみよう。図7に示したように

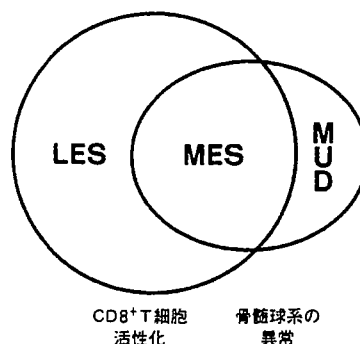


図10 腸骨骨髓単核球分画の変化とRA病型。

$CD\ 8(+)$ T細胞の活性化がLESとMESに特徴的病態であり、異常な(癌特異抗原をもった)骨髄球系細胞の分化がMESとMUDで特徴的である。単純に考えても、LESにはDMARDを、MESにはDMARDと免疫抑制剤の併用を、MUDには強力な免疫抑制剤を用いるのが妥当ではないか。われわれは基本的にはそのような投与方針を続けてよい感触を得ている。

もう1つ大切なことはLESの患者の場合には、自然経過として重度の身体障害に陥りにくいので無理な治療をするべきでないことである。すなわち、副作用いかならずDMARDなどの投薬をやめて日常の節制に注意を促すほうがよい治療と言える場合もある。精神的な安寧と十分な睡眠で寛解期を続けうることは臨床的によく経験されることである。さらに、長期の寛解期に入った患者にDMARDの投与をどの段階でやめるかも問題である。筆者自身はCRPが正常域になって1年以上の患者にはDMARDを止めて経過を観察している。

基本的なことは以上のようなものであるが、われわれは整形外科医なので、以下の稿は整形外科的な治療法に関して述べる。従来、整形外科医がRA治療に深く関与してきたのは滑膜切除術と人工関節手術を通してであることより、この両手術と日常診療で多い中足部変形について述べる。

A. 滑膜切除術

従来、整形外科医がRA治療に深く関与してきたのは滑膜切除術を通してであった。滑膜切除術はRAによる骨破壊を抑えると言われてきた。われわれは、滑膜切除術は骨破壊の進行は抑ええず病型の自然経過のままである¹⁰⁾が、関節局所の腫脹疼痛を抑えて臨床的には有用なよい手術と考えている。

1. 一般的な概念

滑膜切除手術は特にLESの患者には優れた臨床効果

表2 手関節の早期滑膜切除術後の臨床症状(右半分)と X 線写真(左半分)の評価

Subset	Followup (yr)	Ope (%)	Radiographic		Satisfactory Ratings				
			Nonope (%)	χ^2	p Value	Ope (%)	Nonope (%)	χ^2	p Value
LES (N=27)	1	81(22)	74(20)	0.57	>0.05	93(25)	44(12)	4.22	<0.001
	5	48(13)	40(11)	0.55	>0.05	81(22)	74(20)	0.65	>0.05
MES (N=15)	1	0(0)	0(0)	0	>0.05	87(13)	40(6)	2.66	<0.01
	5	0(0)	0(0)	0	>0.05	60(9)	53(8)	0.37	>0.05
MUD (N=5)	1	0(0)	0(0)	0	>0.05	0(0)	0(0)	0	>0.05
	5	0(0)	0(0)	0	>0.05	0(0)	0(0)	0	>0.05

臨床症状は腫脹, 疼痛の改善例を, X 線写真では進行の認められない例を成績良好(satisfactory)として術後1年と5年で評価した。

を示す。MESの患者の早期には価値ある手術と思うが、MUDの患者では通常は滑膜の増殖は乏しく滑膜切除は無意味である。滑膜切除術の効用に関して次のように考えている。

①特定の関節腫脹と疼痛が強いために鎮痛消炎剤や抗リウマチ剤の増量が6カ月以上続いている例にはぜひ行うべき手術である。

以下に述べるが、RA関節の疼痛や腫脹などの臨床症状に対する滑膜切除術の効果は(特にLESに対しては)優れている。滑膜切除術によって疼痛が減り、鎮痛消炎剤の全身投与量を抑えることができれば、全体的にはすばらしい効果と考えている。

②活動性の病巣を減らして抗リウマチ剤を効きやすくする。

抗リウマチ剤がRAを抑えうるとすれば、罹病早期のまだ病巣があまり広がっていない段階であろう。さらに病巣を少なくしようと考えれば、(複数関節でも)滑膜切除は有力な一手段である。その状態で抗リウマチ剤を用いれば優れた効果が得られると考えている。吉野ら¹⁸⁾の主張する多関節の滑膜切除術は早期に行い、適切な薬物治療と組み合わせることによって優れた臨床効果をあげうと思う。

2. 手関節の滑膜切除術の効果¹³⁾

代表的な滑膜切除術として手関節に対する手術の効果を述べる。

a. 臨床症状に対する効果

表2右半分は手関節の早期滑膜切除術後の臨床症状として腫脹, 疼痛ともに改善した例を術後1年と5年で評価したものである。術後1年では少関節破壊型(LES) ($p < 0.001$), 多関節破壊型(MES) ($p < 0.01$)とも明らかに有効である。5年では、特にLESでは長期

寛解に向かう例も多いために非手術側との間に有意差は認められなくなる ($p > 0.05$)。MUDでは通常は滑膜増殖はごく限られた部分に認められる程度で、滑膜切除術はあまり意味がないと感じながら手術をしたが、やはり短期成績でも有意な臨床成績の改善を認めなかった ($p > 0.05$)。

b. 骨破壊の進行に対する効果

滑膜切除術の効果を、まず手術前後の単純 X 線写真を Steinbrocker らの Stage 分類¹⁷⁾ で評価し、観察開始時に比し進行のないものを評価した(表2左半分)。手術群と非手術群の間に統計的有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。そこで、もっと詳細な評価方法で骨破壊の進行を評価して、滑膜切除術が手関節破壊の進行の速度を緩めないかを検討した。手根骨の破壊の速さは Youm ら¹⁹⁾の提唱する calpal height ratio (CHR) (図6)の一定期間での減少を測定することにより詳細な評価が可能と考えたからである。方法は片側手関節の早期滑膜切除術を行った患者(LES 27例, MES 15例, MUD 5例)を対象に手術手の手根骨の破壊の速さが非手術手よりも抑えられたかを検討した。RAにより中手骨はほとんど破壊されないことより、手根骨の破壊の速さは経時的にCHRを測定し、その1年当りの減少(Δ CHR¹⁷⁾)で評価した。表3に示されるように Δ CHRでの評価によっても手術手が非手術手より改善されている傾向は認められなかった ($p > 0.05$)。ただ各病型間では高度の ($p < 0.001$) 有意差を示し、滑膜切除手術をしても骨破壊に関しては自然経過のままという面が明確に示された。

B. 人工関節手術の適応

RA患者に対する人工関節手術は各関節に適応となるが、最も必要性の高いものの1つである人工膝関節を

表3 滑膜切除術の手根骨の破壊の速さに対する効果

病型	非手術手	手術手	p 値
LES (N=27)	0.006(0.005)	0.005(0.004)	>0.05
MES (N=15)	0.025(0.009)	0.029(0.013)	>0.05
MED (N=5)	0.095(0.046)	0.099(0.044)	>0.05

CHR の 1 年当りの減少(Δ CHR⁹⁾)で評価した。

表4 X線の变化的ある膝関節破壊の進行と炎症反応値の関連

MES(N=35)	CRP(mg/dl)	RF(IU/ml)
1年以上狭小化のまま (N=25)	2.2(0.6-3.9)	141(24-275)
1年以内に人工関節 (N=10)	7.0(4.3-8.3)	117(66-207)
MUD(N=11)		
1年以内に人工関節 (N=11)	8.8(7.0-12.0)	234(58-380)

例にとって述べる。

大阪大学附属病院で行われた成人(60歳以下)発症RAに対する人工関節手術例の1987年の集計を、あとから病型と術前の経過別に分類して検討した。46膝関節(31症例, 男性6例, 女性25例)のうちLESの症例はなく, MESの症例は35関節(24症例, 男性5例, 女性19例), MUDの症例は11関節(7症例, 男性1例, 女性6例)であった。成人発症RAでLESと考えられるときにはX線で認められるほどの膝関節破壊に陥ることは少ない。その結果とも言えるが, 将来膝の人工関節手術が必要になる可能性はきわめて少ないと言える。

人工膝関節手術を行ったこれら46膝の手術前数年間のX線所見を観察した(表4)。MESの35例のうち関節裂隙の狭小化の状態では1年以上歩行能力が維持できた25例では, CRP値は0.6-3.9 mg/dlで平均2.2 mg/dlを示した。一方, 骨破壊が急速に進み1年以内に歩行不可となり人工関節手術を必要とした10例では, CRP値は4.3-8.3 mg/dlで平均7.0 mg/dlであった。MUDの11例では全例関節破壊が急速に進み, 歩行能力を失い人工関節手術を必要としたが, CRP値は7.0-12.0 mg/dlで平均8.8 mg/dlを示した。

MESの場合には人工関節手術に至るとしても, 薬物療法などで炎症状態を4 mg/dl以下に抑えることがで

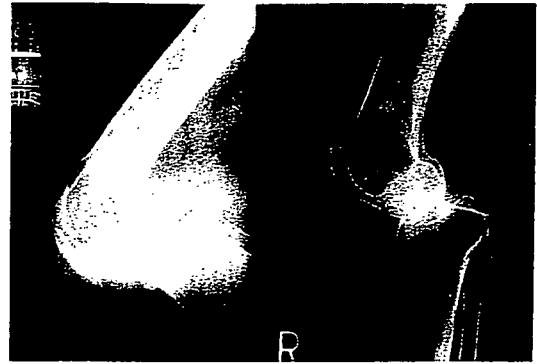


図11 MUD症例の膝関節の側面運動像。左は屈曲位, 右は伸展位。脛骨関節面前縁と大腿骨顆部後縁が接しての屈伸である。

きれば補助装具の使用などにより手術の時期を延ばしうることが示された。MUDの場合には薬剤などで炎症反応を抑えることは事実上きわめて困難と思われた。

骨が非常に脆くなっているMUDの患者では手術時期には特に注意すべきである。図11はMUD症例の膝関節の側面運動像である。靭帯などの膝関節支持機構が弛み, 脛骨関節面が大腿骨顆部に対して亜脱臼を起こした状態で屈伸している。脛骨関節面前縁と大腿骨顆部後縁が接しての屈伸である。負荷が続くと, 骨が脆弱なために接面からの圧壊が進むのが大きな骨破壊機序である。上下肢各関節において基本的にはこのような現象が起きてくるのがMUDの特徴である。そのような機序によりどんどん破壊が続くので, 手術時期を遅らせると関節部の骨構築が崩れて, 望ましい形での人工関節置換が困難となる。MUDの患者の場合には明らかに関節機能が失われれば, できるだけ早急に人工関節手術を行い機能を保持させることが大切である。このことは下肢のみでなく上肢の人工関節手術にも言える。

C. 中足部破壊の問題

中足部の関節破壊のために, 特にでこぼこ道では痛くて歩けない症例は多い。中足部の破壊⁹⁾は距舟関節の狭小化で留まるか骨性強直してしまう例が多い。しかし症例により, 距骨頭が底側に亜脱臼して縦軸アーチが崩れるとともに踵骨の外反が進み, 典型的な外反偏平足に陥っていく例をしばしば見受ける。

中足部変形の経過も病型によって異なる。足の縦軸アーチの底部長に対するアーチの高さの比でアーチの破壊を評価した(横倉法)。この比の経年的な進行が図12に示されている。図12左に示されるLESではアーチの崩れは見られない。しかし, MESとMUDを示す

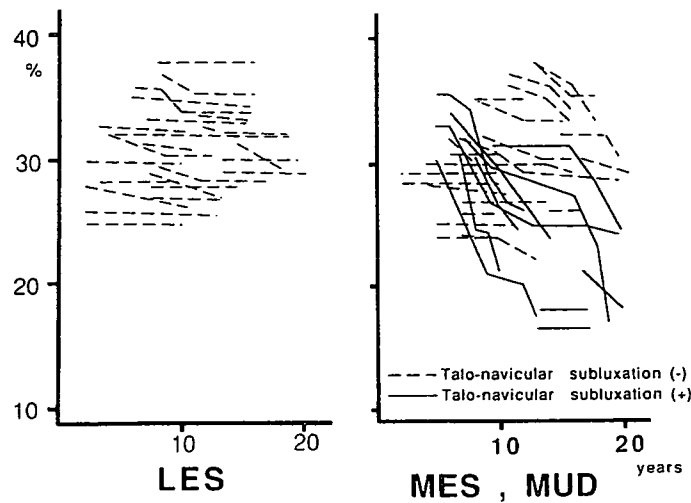


図12 RA 中足部縦軸アーチ破壊の進行評価：足の縦軸アーチの底部長に対するアーチの高さの比(横倉法)を指標にして縦軸にとり、罹病年数を横軸にとったもの。

図12右ではアーチが崩れる症例が認められ、特にMUDでは全例がそうである。われわれはRA患者の中足部破壊に対して、LES症例には足底挿板使用で観察している。MES症例には足底挿板を使用しながら観察して、距骨頭の底側垂脱臼が始まれば距舟関節固定術を施行している。MUD症例の場合には、中足部破壊が始まれば急速に崩れていくので3関節固定を施行している。

V. ま と め

以上の論旨をまとめると以下ようになる。すなわち、①RA患者は自然経過として3病型に分けられ予後診断は可能である。②全身性の(腸骨)骨髓細胞の病態も3病型で異なる。③薬物療法も手術療法も病型別に検討するべきではないか(図13)。

文 献

- 1) Arnett, F.C., et al.: The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 31 : 315-324, 1988.
- 2) 東文造他：慢性関節リウマチの後足部変形の自然経過とその手術療法。臨床リウマチ, 4 : 121-127, 1991.
- 3) Fujimoto, M., et al.: Fluctuation of interleukin-1 and -6 activity in bone marrow serum in collagen-induced arthritis in rats. *Biomedical Res.*, 13 : 243-251, 1992.

RAの病型別治療方針



図13 RA病型別の治療方針。

- 4) Fujimoto, M., et al.: Elevated activity of interleukin-1, -2, and -3 in the bone marrow of collagen-induced rat. *Biomedical Research*, 9 : 401-407, 1988.
- 5) Hayashida, K., et al.: Bone marrow changes in adjuvant-induced and collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.*, 35 : 241-245, 1992.
- 6) 西岡久寿樹他：早期リウマチの疫学に関する研究班, 平成3年度厚生省リウマチ調査研究事業研究報告書, 厚生省, 1-21, 1993.
- 7) Ochi, T., et al.: Natural course of joint destruction and fluctuation of serum C1q levels in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 31 : 37-43, 1988.
- 8) Ochi, T., et al.: The presence of a myeloid cell population showing strong reactivity with monoclonal antibody directed to difucosyl type 2 chain in epiphyseal bone marrow adjacent to

- joints affected with rheumatoid arthritis and its absence in the corresponding normal and non-RA bone marrow. *J. Rheumatol.*, **15** : 1609-1615, 1988.
- 9) 越智隆弘：重症慢性関節リウマチの病態。リウマチ, **30** : 287-300, 1990.
 - 10) Ochi, T., et al.: Effect of early synovectomy on the course of rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, **18** : 1794-1798, 1991.
 - 11) 越智隆弘他：同種胸腺細胞移植によるマウス多発関節炎における発症と増悪の要因。臨床免疫, **23** : 1419-1427, 1991.
 - 12) 越智隆弘他：病態解明に関する研究班, 平成3年度厚生省リウマチ調査研究事業研究報告書, 厚生省, 75-165, 1993.
 - 13) 越智隆弘：慢性関節リウマチの治療法。臨床科学, **29** : 105-108, 1993.
 - 14) Owaki, H., et al.: Elevated activity of myeloid growth factor in bone marrow adjacent to joints affected by rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, **16** : 572-577, 1989.
 - 15) Owaki, H., et al.: Facs analysis of myeloid differentiation stages in epiphyseal bone marrow, adjacent to joint affected with rheumatoid arthritis. *Scand. J. Rheumatol.*, **20** : 91-97, 1991.
 - 16) 島岡康則他：高齢発症慢性関節リウマチについて。中部整災誌, **33** : 869-871, 1990.
 - 17) Steinbrocker, O., Traeger, C.H. and Batterman, R.C.: Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. *JAMA*, **140** : 659-662, 1949.
 - 18) 吉野慎一, 小和田誠, 小岩政仁：根治的多関節滑膜切除術—新しい関節リウマチの治療戦略として—。日整会誌, **67** : S 487-S488, 1993.(抄)
 - 19) Youm, Y., et al.: Kinematics of the wrist. I. An experimental study of radio-ulnar deviation and flexion-extension. *J. Bone Joint Surg.*, **60-A** : 423-431, 1978.

Facs Analysis of Myeloid Differentiation Stages in Epiphyseal Bone Marrow, Adjacent to Joints Affected with Rheumatoid Arthritis

H. OWAKI¹, K. YUKAWA², T. OCHI¹, Y. SHIMAOKA¹ and K. ONO¹

¹Department of Orthopaedic Surgery, and ²Institute for Molecular and Cellular Biology, Osaka University Medical School, Osaka, Japan

Owaki H, Yukawa K, Ochi T, Shimaoka Y and Ono K. Facs Analysis of Myeloid Differentiation Stages in Epiphyseal Bone Marrow, Adjacent to Joints Affected with Rheumatoid Arthritis. Scand J Rheumatol 1990; 20: 91-97.

To analyze the differentiation stages of myeloids statistically, we adopted a two-color FACS system and used appropriate monoclonal antibodies belonging to CD15, CD16 and CD11b. By using HL60 treated with DMSO or human bone marrow MNCs from patients with rheumatoid arthritis, it was proved that with this system, myeloids could be clearly separated according to differentiation stages. Furthermore, the number of myeloids at certain stages of differentiation in the epiphyseal bone marrow of patients with RA or OA was measured. Nine of 15 samples from RA patients showed immature and relatively mature myeloids, while none of the 8 OA samples did. When the proportions of myeloids in epiphyseal bone marrow MNCs were compared with the clinical features, disease subsets in RA and the degree of synovitis, seemed to be important factors for abnormal myelopoiesis.

Key words: rheumatoid arthritis, bone marrow, myeloids

Hajime Owaki, 8650 Southwestern Blvd. #2811, Dallas, Texas 75206, USA

We have previously reported the presence of myeloid lineage cells in the epiphyseal bone marrow, adjacent to joints affected with rheumatoid arthritis, and the absence of these cells in normal or non-RA joints(1). Following this report, we demonstrated a highly active myeloid growth factor in corresponding sites in RA(2) and indicated this could be an important factor for abnormal myelopoiesis. To study this phenomenon in more detail, it is necessary to determine the spectrum of the differentiation stages of these abnormally accumulated myeloids. Some specific cytoplasmic markers for differentiation of myeloids are known, such as lactoferrin(3), but these are not useful for quantitative analysis. On the other hand, Fluorescence Activated Cell Sorter (FACS) analysis, using monoclonal antibodies for the cell surface marker, is a powerful tool for quantitative study, even though the technique is very simple. In this study, we analyzed the differentiation stages of myeloids with FACS. For this purpose, we first used HL60, a well known myeloblastic leukemia cell line, differentiated into myelo-granulocytic lineage cells, in reaction to stimulation with chemical such as dimethyl-sulfoxide (DMSO)(4). We next analyzed the quantities of epiphyseal bone marrow cells in rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA) cases and compared the results with clinical findings.

MATERIALS AND METHODS

Patients

Fifteen joints from 13 patients diagnosed as RA according to the criteria of the American Rheumatism Association(5) were studied. There were 2 men and 11 women with an age range of 30-71 (mean 52). According to our classification of disease severity for RA(6),

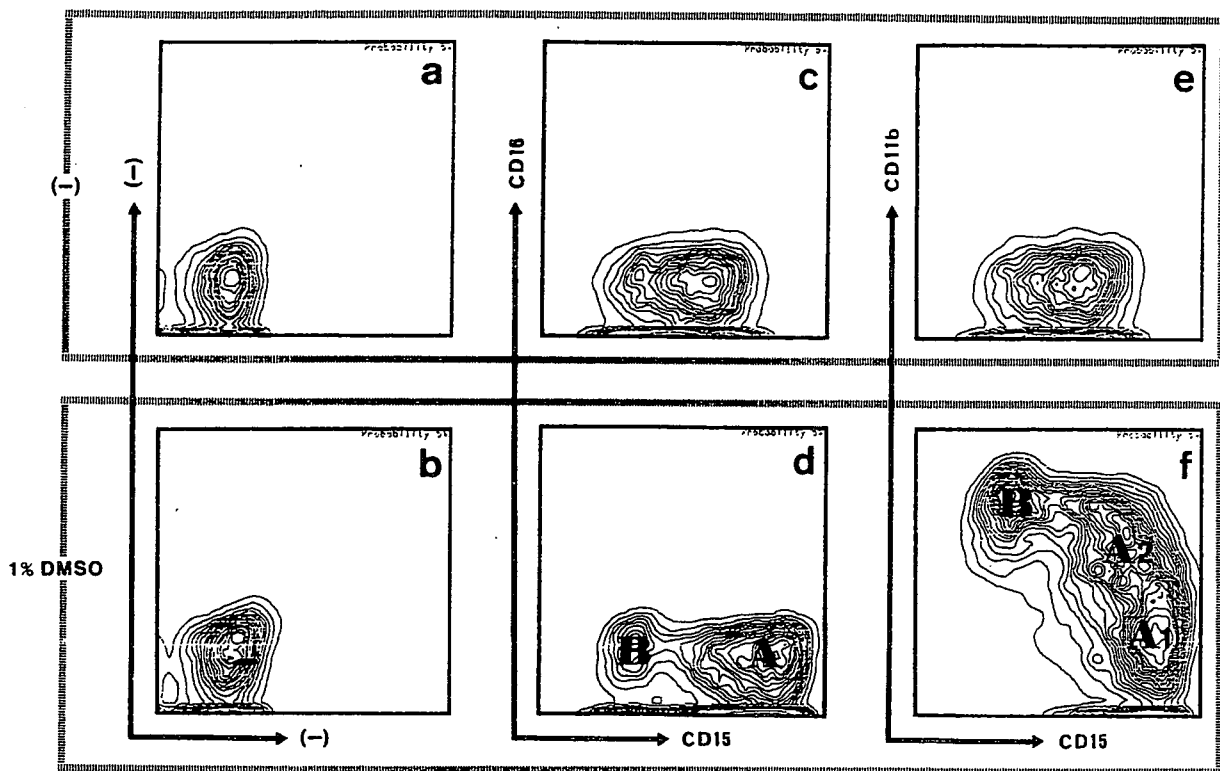


Fig. 1. Two-color FACS analysis of HL60 treated with (b, d, f) or without (a, c, e) 1% DMSO. Two-color staining was performed as follows: a and b: unstained; c and d: CD15(MX-GA) vs CD16(MG38); e and f: CD15(MX-GA) vs CD11b(Mol).

there were two cases of mutilating disease (MUD), six of the more erosive subset (MES), three of the least erosive subset (LES), and two that could not be classified because of the short duration of the disease. The controls were 8 joints from 8 patients with OA, one man and 7 women aged 48–70 (mean 58). All patients were diagnosed and treated at Oaska University Hospital.

Samples

Heparinized bone marrow blood was aspirated from the tibial proximal epiphysis during knee joint surgery, and mononuclear cell (MNC) fractions were separated by Ficoll-Paque

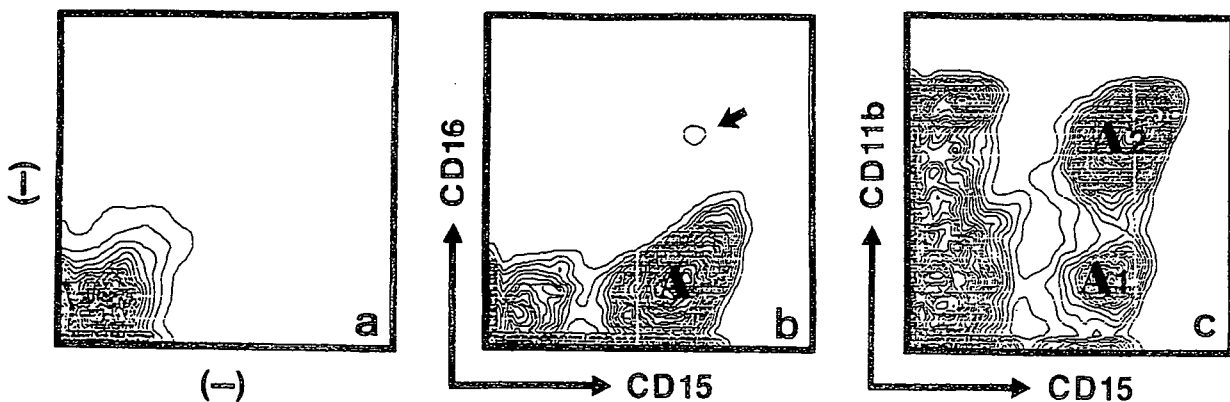


Fig. 2. Two-color FACS analysis of epiphyseal bone marrow MNCs from RA patients. a: unstained; b: CD15(MX-GA) vs CD16(MG38); c: CD15(MX-GA) vs CD11b(Mol).

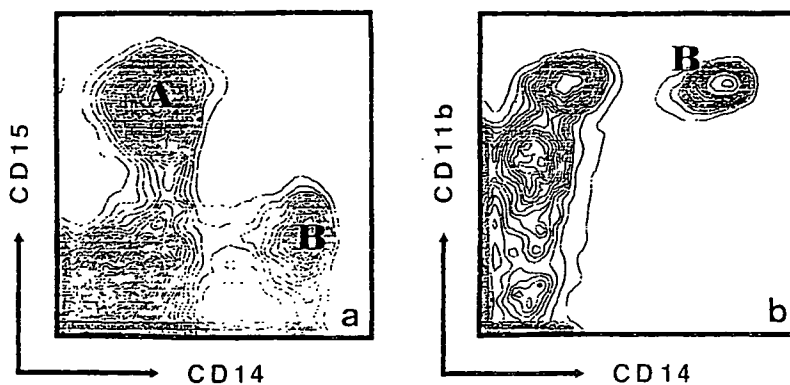


Fig. 3. Two-color FACS analysis of epiphyseal bone marrow MNCs from RA patients. a: CD14(Mo2) vs CD15(MX-GA); b: CD14(Mo2) vs CD11b(Mol).

(Pharmacia Fine Chemical, Sweden) discontinuous density gradient centrifugation (700 g, 20 min).

Cell line

HL60, a human myeloblastic leukemia cell line, was donated by Prof. Kishimoto (Institute for Molecular and Cellular Biology, Osaka University Medical School) and cultured in RPMI-1640 medium supplemented with 10% FCS, 2 mM of L-glutamine, 5×10^{-5} M of 2-mercaptoethanol, 100 U/ml of penicillin and 100 μ g/ml of streptomycin. Some cells were cultured in the same medium, but supplemented with 1% DMSO during 7 days before FACS analysis.

Monoclonal antibodies

MX-GA antibody (CD15, clone HL5), which recognizes pan-myeloids, from myeloblasts to polymorphonuclear leukocytes (PMN)(7), and also reacts with HL60(8), was purchased from Kyowa Medex (Japan). MG38 antibody (CD16), which reacts with FC γ receptors on PMN, but not on natural killer (NK)(9), was purchased from Seikagaku-Kogyo (Japan). Mol antibody (CD11b), which reacts with relatively mature myeloids, from myelocytes to PMN, and also monocytes-macrophages(10), was purchased from Coulter Clone (USA). Mo2 antibody (CD14), which is a specific marker of monocytes-macrophages(10), was purchased from Coulter Clone. If fluorescence-isothiocyanate(FITC)- or biotin-labelled antibodies were not available, labelling was performed as previously described(11).

Two-color FACS analysis

Bone marrow MNCs were washed and suspended in a staining buffer (RPMI1640 deficient biotin, riboflavin and phenol red/2% FCS/10 mM HEPES/0.02% NaN₃) at a concentration of 10^6 cells/20 μ l. Appropriately diluted FITC- or biotin-labelled antibodies were simultaneously added to the cell suspension in quantities of 10 μ l each, and incubated for 20 min at 4°C. After washing with the staining buffer, 20 μ l of Texas-Red avidin solution was added to the cell pellets which were then suspended. Incubated for 20 min at 4°C, propidium iodide (10 μ g/ml) was also incubated during the last 5 min to label dead cells. Washed 3 times, cells were applied to a FACS440 (Becton Dickinson) equipped with a dual-laser system.

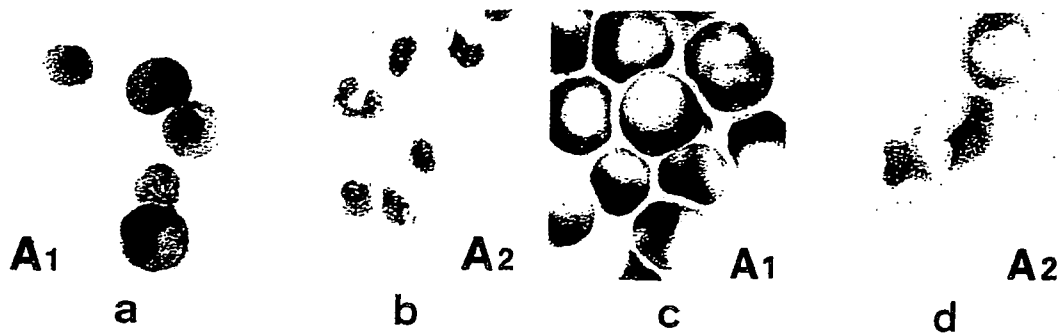


Fig. 4. Cytochemical staining of sorted cells. a and b: May-Grunwald; c and d: peroxidase staining. a and c: CD15-positive and CD11b-negative (A1) cells; b and d: CD15-positive and CD11b-positive (A2) cells.

Quantitative analysis

The gating in FACS was made on the plane of forward scatter and side scatter in each case, so as to remove the contaminated red blood cells. These could be clearly identified as small and no granular cells. The proportions of the number of each group of cells to that of whole MNCs were calculated by dividing the former by the latter.

Cytochemical staining

Sorted cells were attached to the glass slides with Cytospin (Shandon, England); some were stained with May-Grunwald and Giemsa solutions, and the others with peroxidase.

Classification of synovitis severity

The degree of synovitis was classified as follows, according to the findings at the surgical operations. (++) : joint capsule was entirely covered with proliferated synovial cells; (+) : about half of the capsular surface was covered with synovial proliferation; (±) : synovitis was found only around the capsule-bone junction or bone-ligament junction; (-) : there was no synovitis and the capsule was covered with fibrous tissue.

RESULTS

Two-color FACS analysis of HL60 cell line

The results for HL60 without chemical stimulation are shown in the upper row, and for HL60 treated with DMSO in the lower row, in Figure 1. HL60 cultured without DMSO reacted with CD15, but was not stained by CD16 nor CD11b (Figure 1 c and e). Cultured with DMSO, HL60 was not stained by CD16 either, but some cells (A) stained more brightly with CD15 (Figure 1 d). When stained with CD11b (Figure 1 f), these CD15-bright cells (A) were separated into two groups, CD11b-negative (A1) and -positive (A2).

Two-color FACS analysis of RA bone marrow MNC

One of the RA severe cases showed a FACS pattern similar to that of HL60 cultured with DMSO. There was a large number of cells (A) which reacted with CD15 (Figure 2 b), while the number of contaminated PMN was small (Figure 2 b, arrow). These CD15-positive cells

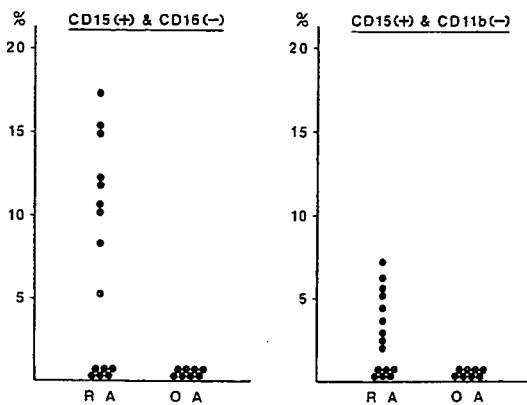


Fig. 5. Quantitative analysis of epiphyseal bone marrow myeloids from patients with RA or OA. The proportions of (A) or (A1) cells in MNCs are shown on the ordinate. (a): (A) cells = myeloids minus contaminated PMN; (b): (A1) cells = from myeloblasts to promyelocytes.

(A) could then be divided into CD11b-negative (A1) and CD11b-positive cells (A2) (Figure 2). Stained with CD14 and CD15, cells were clearly separated into three groups: CD15-positive cells (A), CD14-positive cells (B) and double-negative cells, but there existed no double-positive cells (Figure 3 a). All of the (B) cells reacted also with CD11b (Figure 3 b).

Cytochemical staining of sorted cells

The (A1) cells and (A2) cells seen in Figure 2 c were separately sorted by FACS. After being attached to glass slides, they were stained with May-Grunwald solution (Figure 4, a and b) or peroxidase (Figure 4, c and d). CD15-positive and CD11b-negative cells (A1) had a round nucleus and relatively large cytoplasm (Figure 4 a). Their cytoplasmic granules were stained by peroxidase (Figure 4 c). CD15-positive and CD11b-positive cells (A2) showed a kidney-shaped nucleus (Figure 4 b), and their cytoplasmic large granules also stained with peroxidase. Consequently, (A1) cells showed the characteristics of myeloblasts-promyelocytes and (A2) cells those of myelocyte-metamyelocytes.

Quantitative analysis of myeloids in patients with RA or OA

Epiphyseal bone marrow MNCs from 15 joints with RA and 8 joints with OA were analyzed by FACS with results similar to those shown in Figure 2. The proportions of (A) or (A1) cells in epiphyseal bone marrow MNCs were calculated and are shown in Figure 5 on the ordinate. Nine of 15 joints with RA showed the existence of (A) cells (Myeloids minus contaminated PMN), with a range from 5.2% to 17.3% (mean: 11.8%) (Figure 5 a), while the others showed no myeloids (< 1%). The mean value for all RA joints was 7.1%. None of the patients with OA showed either (A) or (A1) cells. In RA patients, 9 joints with (A) Cells showed also (A1) cells (Myeloblasts-promyelocytes), with a range from 2.3% to 7.2% (mean 4.4%) (Figure 5 b). For all RA joints, the mean was 2.6%. Compared to (A) cells (Myeloids), the proportions of (B) cells (Macrophages) were more constant. In cases with RA (B) cells showed with a range from 8.7% to 16.3% (mean 12.7%), and OA showed with a range from 6.6% to 14.8% (mean 11.9%). There were no significant difference between RA and OA statistically.

Clinical features of RA joints

Profiles of patients with RA are listed in Table I, arranged according to the proportion of (A) cells. It was found that the group of joints with no (< 1%) (A) cells showed no synovitis, while none of the RA patients in subset LES had any (A) cells. Patients in subset MES who

Table I. Clinical features of RA joints and proportions of myeloids in bone marrow.

case	age	sex	disease period	disease subset	operat.	synovitis	(A): CD 15 (+) & CD 16 (-)	(A1): CD 15 (+) & CD 11b (-)
M.M	71	F	2 y	(ORA)	TKR(L)	(++)	17.3%	4.4%
M.Y	30	F	12 y	MUD	TKR(R)	(±)	15.3%	7.2%
K.K	57	F	13 y	MUD	TKR(L)	(-)	15.1%	5.6%
K.O	55	F	12 y	MES	TKR(R)	(+)	12.1%	6.2%
H.M	56	M	15 y	MES	TKR(R)	(+)	12.0%	5.2%
R.K	51	F	14 y	MES	TKR(R)	(+)	10.5%	3.6%
Y.D	47	F	7 y	(N.D.)	synovectomy	(++)	10.3%	2.6%
K.M	43	F	10 y	MES	TKR(R)	(+)	8.2%	2.4%
K.O	55	F	12 y	MES	TKR(L)	(+)	5.2%	2.3%
M.Y	34	F	12 y	MES	TKR(L)	(-)	<1.0%	<1.0%
S.Y	61	F	18 y	MES	TKR(R)	(-)	<1.0%	<1.0%
N.M	53	M	11 y	LES	TKR(R)	(±)	<1.0%	<1.0%
U.O	68	F	10 y	LES	TKR(R)	(-)	<1.0%	<1.0%
U.O	68	F	10 y	LES	TKR(L)	(-)	<1.0%	<1.0%
J.H	52	F	16 y	LES	TKR(L)	(-)	<1.0%	<1.0%

ORA: Old onset RA; N. D.: Not determined; TKR: Total knee replacement; MUD: Mutilating disease; MES; More erosive subset; LES: Least erosive subset.

had (A) cells showed (+) or (++) synovitis, but patients with MUD had many (A) cells although there was no evidence of synovitis.

DISCUSSION

Myeloid cells differentiate from bi-potential stem cells to PMN finally, and they have been traditionally characterized with cytochemical staining such as May-Grunwald, Giemsa and peroxidase. Later, some cytoplasmic markers for differentiation were found, such as lactoferrin(3) and inosine mono-phosphate(12), but they are not convenient for statistical or quantitative analysis. On the other hand, some cell surface antigens are known as differentiation markers of myeloids, namely, the C3bi and Fcγ receptors(13). The monoclonal antibodies for those receptors have been produced and are classified as CD11b and CD16, respectively. However, CD11b- or CD16- positive cells are not only myeloids, but also other lineage cells, so it is necessary to purify the myeloids with cell-biological techniques or on the image of a FACS monitor. For the latter purpose, some monoclonal antibodies belonging to CD15 are useful, that is, they recognize only myeloid lineage cells, from myeloblasts to PMN. Double staining with CD15 monoclonal and CD11b or CD16 monoclonal, showed the differentiation stages of myeloids clearly, both in HL60 cell lines treated with DMSO and human bone marrow cells. Because of the simple staining method and quantitative analysis, this method could be useful for identifying the existence of immature myeloids.

We previously reported the elevated titers of myeloid growth activity in epiphyseal bone marrow adjacent to RA joints(2), and that this could be an important factor for abnormal myelopoiesis. It remains however unclear whether relatively mature myeloids invade in this site and proliferate or immature myeloids (or stem cells) differentiate and proliferate at this site. The results of the present study show a considerable number of immature myeloids besides relative mature cells, so that the latter hypothesis should be considered more likely.

The existence of myeloids in epiphyseal bone marrow in RA, is closely related to the clinical features of RA. Furthermore, disease subsets in RA and the degree of synovitis seem

to be important factors for this phenomenon. As for MES, synovial proliferation and the existence of myeloids are well correlated, so they may have a close pathological relationship. On the other hand, in the MUD subset, many myeloids exist in epiphyseal bone marrow without being accompanied by synovitis, so it is possible that myeloids appear independently of synovial lesions in this disease subset.

The mechanism of joint destruction in MUD seems to be different from that of the other types, where, the bone destruction begins as erosion at the capsule-bone junction. The destruction in MUD is so fast that it looks like a collapse of the bone structure. In view of these findings, the epiphyseal bone marrow in MUD could be the site of a severe reaction followed by osteoporosis and myelopoiesis, although these two may not directly correlate.

The functional abnormality of myeloids accumulating in epiphyseal bone marrow adjacent to joints with RA, is not clearly understood yet. However, PMN (the final differentiation stage of myeloids) in such lesions, are functionally different from those in other lesions in RA(14), and this function is most markedly shown in MUD cases. More detailed studies are needed to determine whether myeloids in such lesions also have an abnormal function as PMN do, and to understand the relation between myeloids and joint destruction in RA.

REFERENCES

1. Ochi T, Hakomori S, Adachi M, et al. The presence of a myeloid cell population showing strong reactivity with monoclonal antibody directed to difucosyl type 2 chain in epiphyseal bone marrow adjacent to joints affected with rheumatoid arthritis (RA) and its absence in the corresponding normal and non-RA bone marrow. *J Rheumatol* 1989; 15: 1609-15.
2. Owaki H, Ochi T, Yamasaki K, et al. Elevated activity of myeloid growth factor in bone marrow adjacent to joints affected by rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1989; 16: 572-7.
3. Tado TA, Wei X, Benz EJ. Isolation of lactoferrin cDNA from a human myeloid library and expression of mRNA during normal and leukemic myelopoiesis. *Blood* 1987; 70: 989-93.
4. Collins SJ, Ruscetti FW, Gallagher RE, Gallo RC. Terminal differentiation of human promyelocytic leukemia cells induced by dimethyl sulfoxide and other polar compounds, *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 75: 2458-62.
5. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.
6. Ochi T, Iwase R, Yonemasu K, et al. Natural course of joint destruction and fluctuation of serum Clq levels in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 37-43.
7. Hamasima N, Uede R, Takahashi T. Characterization of three monoclonal antibodies that reach with high-molecular mass glycopeptides isolated from F9 mouse teratocarcinoma cells. *Differentiation* 1986; 31: 174-82.
8. Namikawa R, Ogata S, Uede R, et al. Serological analysis of cell surface antigens of HL-60 cells before and after treatment with a phorbol ester tumor promoter. *Leuk Res* 1983; 7: 375-87.
9. Tetteroo PAT, Van Der Schoot CE, Visser FJ, Bos MJE, Von Dem Borne AEGKR. Three different types of Fcγ R1 of neutrophils, Fcγ R1 of K/NK lymphocytes, and Fcγ RII. In: McMichael AJ eds. *Leukocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens*. Oxford/New York/Tokyo: Oxford University Press, 1987: 702-6.
10. Hogg N, Horton MA. Myeloid antigens: new and previously defined clusters. In: McMichael AJ eds. *Leukocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens*. Oxford/New York/Tokyo: Oxford University Press, 1987: 576-663.
11. Goding JW. Conjugation of antibodies with fluorochrome: modification of the standard methods. *J Immunol Methods* 1976; 13: 215-26.
12. Knight RD, Mangum J, Lucas DL, Cooney DA, Khan EC, Wright DG. Inosine monophosphate dehydrogenase and myeloid cell maturation. *Blood* 1987; 69: 634-9.
13. Glasser L, Fiederlein RL. Functional differentiation of normal human neutrophils. *Blood* 1987; 69: 937-44.
14. Wakitani S, Sakamuro D, Ochi T, Owaki H, Fujimoto M, Ono K. Polymorphonuclear cell factor found in patients with rheumatoid arthritis. *Biomedical Research* 1988; 9: 395-9.

Received 6 June 1990

Received revised 27 September 1990

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療開発に関する研究

平成17年度～19年度 総合研究報告書 2/2冊

主任研究者 越智 隆弘

平成20(2008)年3月

Ⅲ. 研究成果の刊行物・別刷