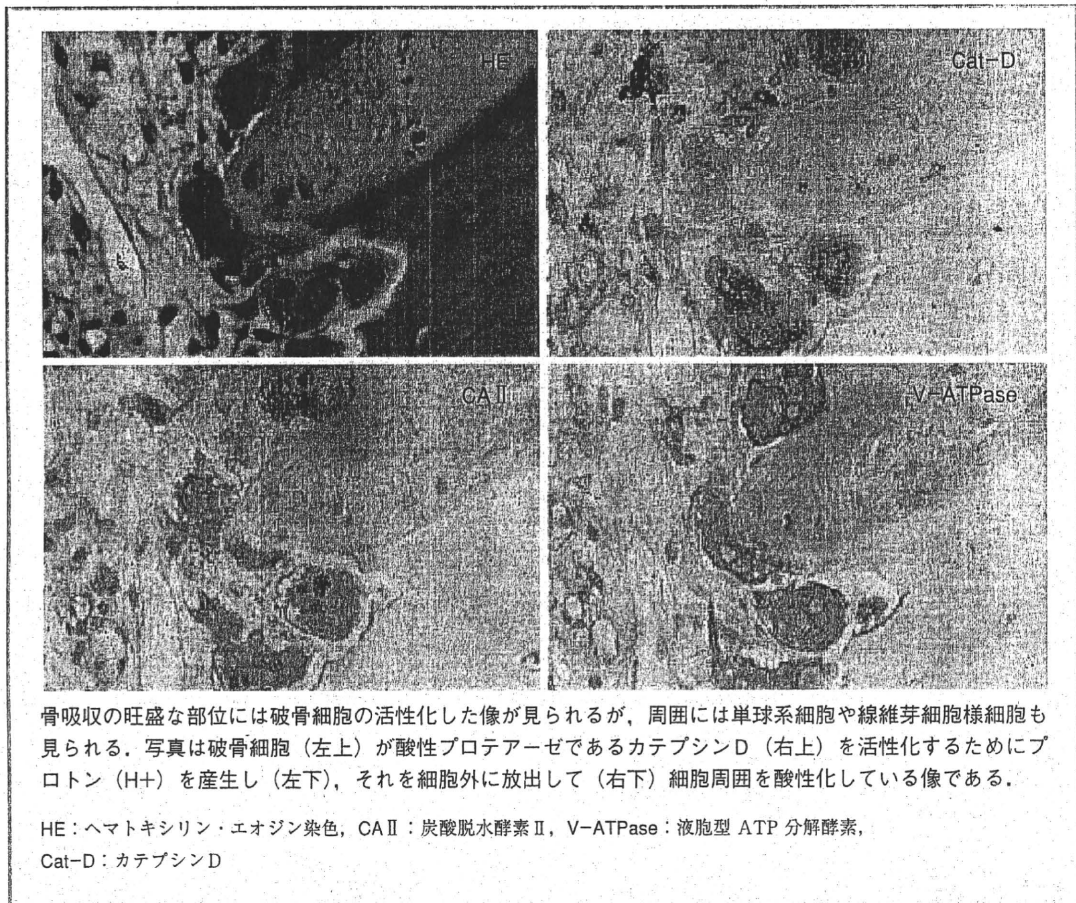


図11 破骨細胞による骨吸収



髓内に血管が入り込んでいく経路に沿った非骨化領域がある²¹⁾。ここにはマクロファージの浸潤や免疫グロブリンなどの沈着が、滑膜の炎症が波及する以前から認められ、骨破壊の新たな経路と考えられるが、ヒトの組織では観察することが難しい。将来、高解像度の画像によって変化を時間を追って観察することができるようになると、R輪を足場にして起る炎症性変化ももっと明らかになるであろう。

さて、臨床的には関節破壊、骨破壊という表現が一般的に使われているが、組織学的にみると壊されるという状態ではなく、肉芽組織や破骨細胞によって吸収されていくという像である。軟骨、骨の吸収については、上記のパンヌスだけでなく、他にも幾つかの因子が関与しているが、以下それぞれの因子について考えてみたい。ここで、軟骨破壊において破骨細胞に匹敵する軟骨型の多核巨細胞である破軟骨細

胞 (chondroclast) の存在を指摘する報告もある。確かに吸収されつつある軟骨の辺縁に沿って多核の巨細胞を見ることはあるが、破骨細胞に比べて数は少ない。むしろ、軟骨吸収の場合は紡錘形細胞や単球系の細胞と次に述べる軟骨細胞自身が酵素を発現しているように思われる。

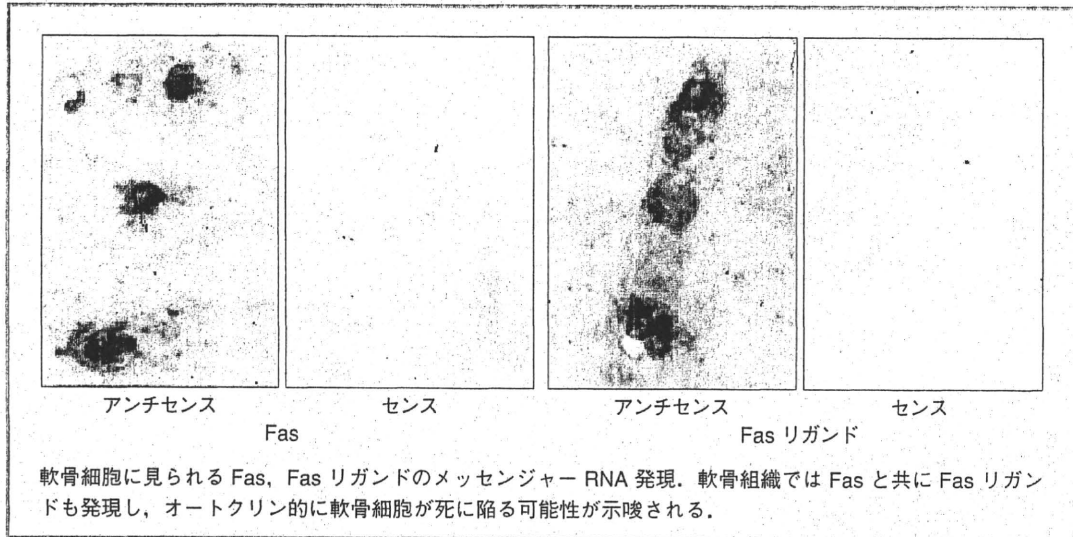
2) 軟骨細胞分解に関する酵素の発現

軟骨の変性経路の1つに軟骨細胞自らがタンパク分解酵素を発現し、周囲の基質を分解していることが証明されている^{22)~24)}。初期は基質がなくなり細胞も紡錘形になって、一見、線維芽細胞様になる。酵素としては MMP-3 やカテプシン L (Cat L) などの発現が証明されているが、この変化が単純に変性か組織防衛かについては明らかではない。軟骨の分解に関与する酵素としては、最近、この他にアグリカナゼの種類に入る a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin-like repeat (ADAMTS) が注目されている²⁵⁾。また、最近の報告として軟骨の基質を形成するヒアルロン酸 (HA) の動態に関する分析もかなり進んだ。すなわち、HA を合成する合成酵素と分解酵素いずれにおいても高分子、低分子に関するそれぞれの酵素があり、RA ではヒアルロン酸の分解が亢進して低分子化するとともに、低分子の HA 合成が亢進し、結局 RA では、HA の低分子化したものが増加する。なお、HA は高分子と低分子ではそれぞれ機能が異なり、高分子は構造の維持、機能の安定化、低分子は催炎作用を有していることも明らかにされ、軟骨分解に大きな影響を与えている^{26~28)}。

3) アポトーシス

RA では軟骨細胞にアポトーシスを認める²⁹⁾³⁰⁾。アポトーシスは外からの直接の影響による細胞の(壊)死ではなく、細胞を取り巻く何らかの刺激によって細胞内の伝達情報のカスケードが活性化されて細胞の死に至る現象を言う。炎症・免疫系では細胞の表面に Fas 抗原が発現し、それに Fas リガンドが結合するとアダプター因子が活性化されてカスパーゼ 8 を介して多くのカスパーゼが活性化され、細胞内タンパクを切断して細胞を死滅させるというのが主要な経路である³¹⁾。RA では、軟骨細胞の表面には Fas 抗原が証明されており、これに外部からの Fas リガンドが結合してアポトーシスに至るカスケードが活性化されるが、同じ細胞表面に Fas リガンドも発現してい

図12 軟骨におけるアポトーシスの発現



ることが認められている (図12)³²。Fas に対する Fas リガンドの作用は外部からの影響だけではなく、オートクリン的に作用していることも考えられる。

4) 機械的ストレス

前述のパンヌスや関節液からの影響を受けると軟骨組織の変性が生じ、軟骨組織からⅡ型コラーゲン、プロテオグリカンなどが失われ、軟骨が持つ弾性を失う。弾性を失った軟骨組織は荷重負荷や摩擦負荷に耐えられなくなり軟骨の摩耗、破壊、消失が生じ、その深部にある骨組織が直接機械的ストレスを受けることになり、骨破壊は進行する。組織学的にみると軟骨の喪失した後のむき出しになった骨の表面は刃物で研いだように摩耗されており、体重による過重の大きさを示している (図13)。その他に関節液の影響や炎症が進行して半月板や靭帯に損傷が起り、関節としてのバランスが崩れると変形性関節症 (OA) と同じ様な状態になる。

2. 骨に対する攻撃因子

1) 炎症性肉芽組織 (パンヌス) と破骨細胞活性

骨組織を吸収するパンヌスは軟骨で述べたものと連続性であるが、特徴的なことは、骨破壊の場合、破骨細胞の活性化が見られることである。最近 RA における細胞学的な面から炎症反応を考えた場合、急

図13 関節リウマチ (RA) 患者の骨組織



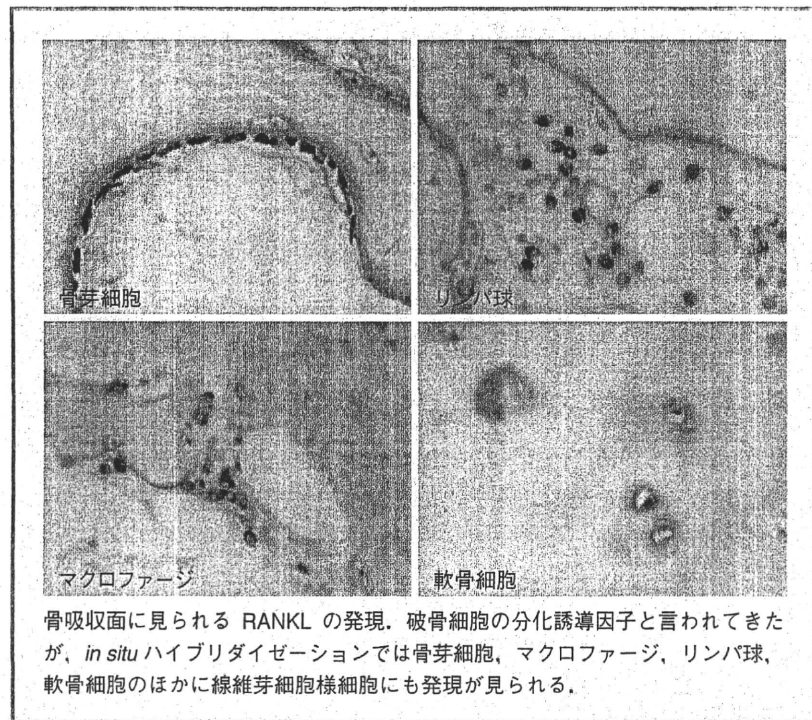
RAの関節面では関節腔を挟んで向かい合った軟骨組織がほとんど吸収され、骨面が擦り合わさって変形性関節症(OA)様の変化を示す。

性期には好中球, 慢性期にはマクロファージ, 単球系が主体となり, さらに骨組織近傍の破骨細胞や FLS が重要となる。骨組織の破壊に着目すると破骨細胞はプロトンポンプの作用で細胞周囲に酸性環境を作り出し, カテプシン L, B, D などの酸性プロテアーゼだけでなく, MMP-9, MMP-2, MMP-13 あるいは ADAMTS など中性のタンパク分解酵素を産生, 放出する³³⁾³⁴⁾。しかし, 破骨細胞の数は決して多くなく, 周囲の FLS や単球系細胞の影響も考えていく必要がある。

また, 最近の話題として破骨細胞の分化誘導因子である NF- κ B 活性化受容体リガンド (RANKL) が骨芽細胞や周囲の FLS, さらにはリンパ球から産生されていることが明らかになり, 骨吸収に影響を与えている可能性も示唆されている (図14)³⁵⁾。

RANKL についてはこれを誘導するサイトカインである IL-17 の存在が証明され, 現在, その解析が行われている³⁶⁾。また, IL-6 も B細胞を活性化させて抗体を誘導すると同時に破骨細胞を活性化させて MMP などのタンパク分解酵素を放出させるという機能が証明されている³⁷⁾³⁸⁾。

最近の報告で MRI や CT などの解像力の進歩とともに, 早期 RA の所見として, 骨髄浮腫などが指摘されてきた。特に抗 CCP 抗体価が高く骨髄浮腫が認められた場合は骨破壊が進行しやすいと言われている。骨髄浮腫の原因については, いろいろな報告があるが, 現在の

図14 NF- κ B 受容体活性化因子リガンド (RANKL) の発現

ところ滑膜の炎症が骨髄に達しているためと考えられている。今後、画像診断の進歩とともにこのような変化については、さらに症例を増やして検討していく必要がある。

2) 循環障害

RA の炎症が進行すると骨組織を養う血管周囲に炎症が波及し、閉塞性動脈内膜炎が生じて循環障害を引き起こすことがしばしば観察される。RA の滑膜に血管炎を見ることは多くはないが、絨毛状の滑膜組織の壊死やフィブリンの析出は循環障害による場合がある。また、組織学的には empty lacunae と言われる骨細胞の壊死の像が focal に集団をなして見られることもあるが、これは循環障害の結果と考えられる。

3) 廃用萎縮

疼痛、変形などから来る運動制限のため骨組織には、萎縮性変化が見られることがある。組織学的には筋組織の萎縮とともに骨粗鬆症の形で来ることが多い。

4) 治療による影響

種々の抗リウマチ薬が開発されるたびに問題になるのが、リウマチに対する効果と副作用である。関節、骨組織を考えるうえでよく知られているのはステロイド剤による骨粗鬆症と化膿性の関節炎である。最近ではステロイド剤の使用法が進歩し、以前ほど聞かれることは少なくなってきたが、注意して使用すべきである。また最近、注目されている生物学的製剤についても結核、肺線維症などの合併性が報告されている。生物学的製剤の中には $\text{TNF}\alpha$ を標的にしたものが多いが、最近では IL-6 受容体を標的とした薬の開発も行われている。

炎症後の関節

RA では本来の軟骨組織がほとんど吸収されるにもかかわらず、一方では間葉系細胞の増生が起り、軟骨への仮性、再生像もしばしば認められる。また、パンヌスにより半月板が破壊されたり、靭帯が切断されたりすると骨面と骨面が直接接して摩擦することにより刃物で研いだような状態になるが、一方では機械的刺激による骨の反応性増生もみられる。このような変化は OA でもみられるが、一般に RA の骨は OA に比べて脆い状態にある。これは骨粗鬆症の変化が目立つからであり、カルシウム、リンなどの分析を行った結果でも骨粗鬆症の状態を示しており、骨軟化症のようにバランスが崩れたわけではない。一方、炎症は周囲の軟部組織にも及び、長年を経て線維化し、癒痕化することにより拘縮などによる変形が目立つようになる。このように、軟骨、骨の吸収、滑膜、関節包などの軟部組織の炎症、線維化により関節の形は変わってくる。

病理学からみたリウマチの治療について

以上、リウマチの発生から滑膜の炎症、そして軟骨・骨の吸収と関節の変形について述べてきた。RA という疾患の驚くことは、炎症が10年も20年も持続するというすごいエネルギーを持っているということである。現在のところはっきりとした原因は不明であるが、治療の面からみると self perpetuation と言われる炎症のサーキットをどこかで断ち切らなければならない。具体的には浸潤する炎症性細胞、サイトカインやタンパク分解酵素などの発現などが最も考えられる

図15 抗 TNF 抗体による治療効果

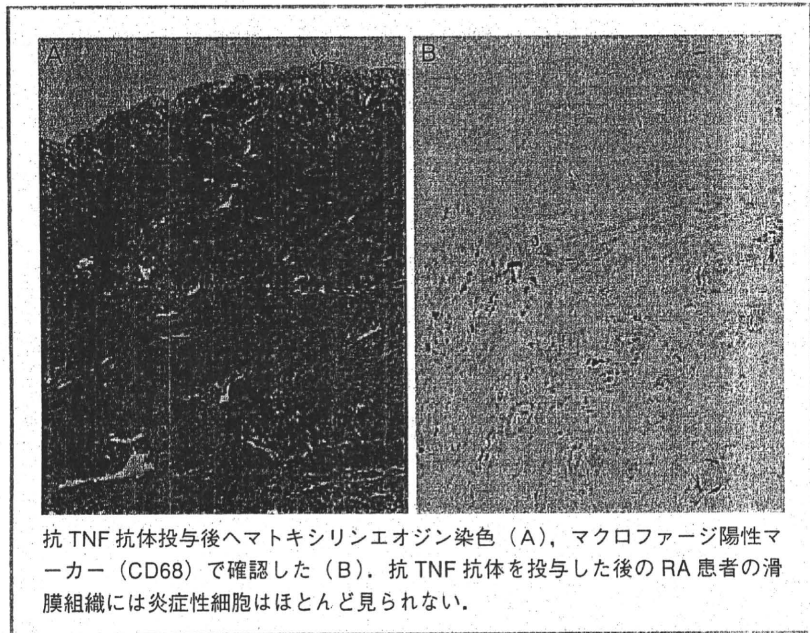
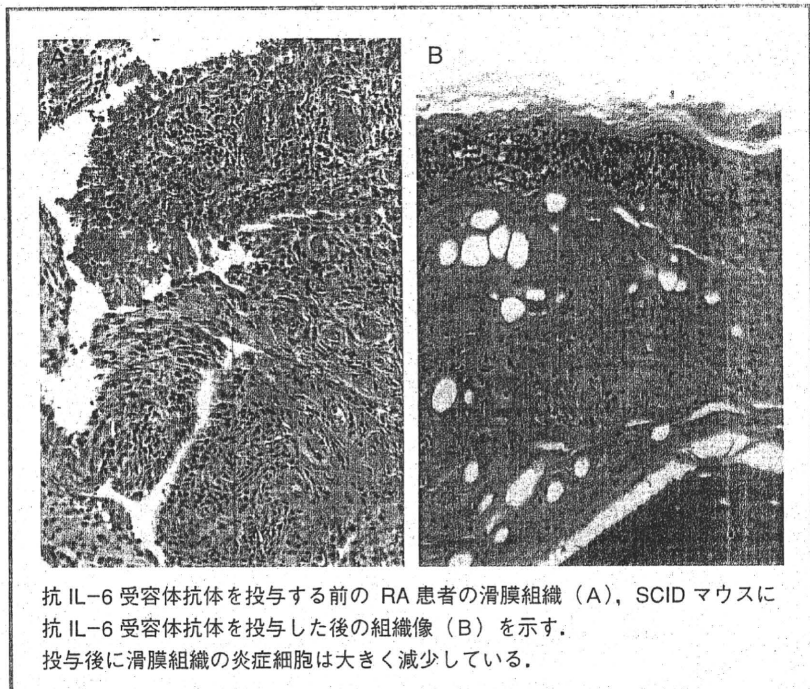


図16 重症複合免疫不全 (SCID) マウスに移植した関節リウマチ (RA) 患者の滑膜組織に対する抗 IL-6 受容体抗体投与



し、最近では TNF α や IL-6 受容体などに対する抗体が開発されてすでに用いられたり、近いうちに用いられようとしている³⁹⁾⁴⁰⁾。病理学の長所は、その抗リウマチ薬が具体的にどのような形で効果を発揮するかということを実際に確認できる特徴を持っていることである (図 15, 16)。

澤井 高志・宇月 美和・佐々木 喜子
金 仁 順

文 献

- 1) 澤井高志: 関節炎の病理学. リウマチ学, p353-363. 同文書院, 東京, 1989.
- 2) 澤井高志: リウマチ性疾患の病理. 最新内科学体系免疫・免疫/アレルギー性疾患 慢性関節リウマチ (井村裕夫, 他 編), p89-107. 中山書店, 東京, 1993.
- 3) Robert IF, et al: Structure and Function of Synovocyte In: Arthritis and allied conditions (McCarty DJ, et al, eds) pp263-278. Lea and Febiger, Philadelphia-London, 1993.
- 4) Scott DL, et al: Significance of fibronectin in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Ann Rheum Dis 40 (2): 142-153, 1981.
- 5) 澤井高志, 他: 慢性関節リウマチ滑膜初期病変の免疫組織化学的検討—モノクローナル抗体を用いた炎症性細胞の定性ならびに定量的解析. リウマチ 30 (4): 247-254, 1990.
- 6) Sawai T, et al: In situ hybridization of stromelysin mRNA in the synovial biopsies from rheumatoid arthritis. Tohoku J Exp Med 178: 315-330, 1996.
- 7) Schumacher HR Jr, et al: Histological appearance of the synovium in early rheumatoid arthritis. Sem Arthritis Rheum 23 (6 Suppl 2): 3-10, 1994.
- 8) Klareskog L, et al: Immune functions of human synovial cells. Phenotypic and T cell regulatory properties of macrophage-like cells that express HLA-DR. Arthritis Rheum 25 (5): 488-501, 1982.
- 9) Poulter L W, et al: Histochemical discrimination of HLA-DR positive cell populations in the normal and arthritic synovial lining. Clin Exp Immunol 48 (2): 381-388, 1982.
- 10) Stojan B, et al: Chemotactic effect of joint effusions. Ann Rheum Dis 33 (5): 425-427, 1974.
- 11) Takeuchi K, et al: Biochemical investigation of cell motile activity in rheumatoid synovial fluid. J Rheumatol 25 (1): 9-15, 1998.
- 12) Miller EJ, et al: Interleukin-8: an important neutrophil chemotaxin in some cases of exudative pleural effusions. Exp Lung Res 19 (5): 589-601, 1993.
- 13) Chevrel G, et al: Addition of interleukin 1 (IL1) and IL17 soluble receptors to a tumour necrosis factor alpha soluble receptor more effectively reduces the production of IL6 and macrophage inhibitory protein-3alpha and increases that of collagen in an in vitro model of rheumatoid synovocyte activation. Ann Rheum Dis 61 (8): 730-733, 2002.
- 14) Maeda S, et al: Determination of interstitial collagenase (MMP-1) in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 54 (12): 970-975, 1995.

- 15) Yoshihara Y, et al: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 59 (6): 455-461, 2000.
- 16) 宗像孝佳, 他: 慢性関節リウマチにおける IL-18 の動態. *リウマチ* 41 (3): 625-634, 2001.
- 17) Ritchlin C, et al: Effector signals released by the synovial fibroblast in arthritis. *Arthritis Res* 2 (5): 356-360, 2000.
- 18) Kontinen Y T, et al: Fibroblast biology. Signals targeting the synovial fibroblast in arthritis. *Arthritis Res* 2 (5): 348-355, 2000.
- 19) Zvaifler N J: Pannus and Pannocytes—Alternative models of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 37 (6): 783-789, 1994.
- 20) 井上尚美, 他: 慢性関節リウマチ (RA) 関節破壊に関与する酸性プロテアーゼ (カテプシン D) の活性化機構に関する免疫組織化学的解析. *炎症* 15 (4) 505-507, 1995.
- 21) 田中真希, 他: MRL/Mp-lpr (MRL/l) マウス関節病変における軟骨, 骨組織の変化 (第1報) — ossification groove of Ranvier の関節破壊の場としての意義 —. *炎症* 17 (2): 129-134, 1997.
- 22) Pap T, et al: Modulation of fibroblast-mediated cartilage degradation by articular chondrocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 43: 2531-2536, 2000.
- 23) Jin G, et al: Biomechanical regulation of matrix metalloproteinase-9 in cultured chondrocytes. *J Orthop Res* 18 (6): 899-908, 2000.
- 24) Liu C J, et al: a metalloproteinase that directly binds to and degrades cartilage oligomeric matrix protein. *FASEB J* 20 (7): 988-990, 2006.
- 25) Fushimi K, et al: Functional differences of the catalytic and non-catalytic domains in human ADAMTS-4 and ADAMTS-5 in aggrecanolytic activity. *J Biol Chem* 2007.
- 26) Voelcker V, et al: Hyaluronan fragments induce cytokine and metalloprotease up-regulation in human melanoma cells in part by signalling via TLR4. *Exp Dermatol* 2007.
- 27) Hiramitsu T, et al: Intercellular adhesion molecule-1 mediates the inhibitory effects of hyaluronan on interleukin-1beta-induced matrix metalloproteinase production in rheumatoid synovial fibroblasts via down-regulation of NF-kappaB and p38. *Rheumatology (Oxford)* 45 (7): 824-832, 2006.
- 28) Waddell D D, et al: Hyaluronan Suppresses IL-1beta-induced Metalloproteinase Activity from Synovial Tissue. *Clin Orthop Relat Res* 465: 241-248, 2007.
- 29) Kim H A, et al: Apoptotic chondrocyte death in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 42 (7): 1528-1537, 1999.
- 30) Yatsugi N, et al: Apoptosis of articular chondrocytes in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: correlation of apoptosis with degree of cartilage destruction and expression of apoptosis-related proteins of p53 and c-myc. *J Orthop Sci* 5 (2): 150-156, 2000.
- 31) 長田重一: 加熱しているアポトーシス研究. *実験医* 17 (13): 1598-1602, 1999.
- 32) Uzuki M, et al: Apoptotic chondrocyte and matrix metalloproteinases in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 43 (suppl): 1915, 2000.
- 33) Seki M, et al: Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) in patients with rheumatoid arthritis. *Jap J Rheumatol* 7 (3): 197-209, 1997.
- 34) 伊藤 崇, 他: 慢性関節リウマチ血清, 関節液中の Metalloproteinase (MMP-13) の動態. —血清, 関節液の濃度, 活性化と関節組織での蛋白, mRNA の発現—. *リウマチ* 42 (1): 60-69, 2002.
- 35) Takayanagi H, et al: Involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synoviocytes in

- rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 43 (2): 259-269, 2000.
- 36) Kotake S, et al: IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J Clin Invest* 103 (9): 1345-1352, 1999.
- 37) Cronstein BN: Interleukin-6—a key mediator of systemic and local symptoms in rheumatoid arthritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 65 (Suppl 1): S11-15, 2007.
- 38) Nakahara H, et al: Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy in rheumatic diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 6 (4): 373-381, 2006.
- 39) Feldmann M, et al: Anti-TNF alpha therapy of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Ann Rev Immunol* 19: 163-196, 2001.
- 40) Charles P, et al: Regulation of cytokines, cytokine inhibitors, and acute phase proteins of following and anti-TNF-alpha therapy in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 163 (3): 1521-1528, 1999.

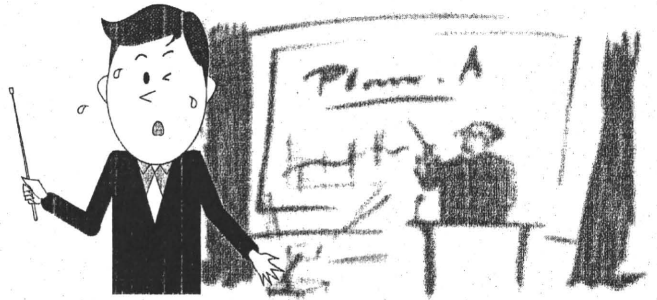
Frontiers in Rheumatology & Clinical Immunology

Vol.2 No.3 2008-8

別刷

メディカルレビュー社

Presentation Trainer 学会発表講座



リウマチ性疾患における 病理組織画像のプレゼンテーション

■ リウマチ・膠原病の分野における 組織画像の意義と役割

一般にリウマチ・膠原病の分野では、臨床的な病変部の肉眼写真、研究面においては血清や培養細胞を使った実験が多く、病理組織画像に対する依存はあまり大きくないのではないと思われる。それゆえ、学会などで投影される組織の顕微鏡写真をみると目を覆いたくなるようなスライド写真が多い。そのような場合でも発表者は悠然と話しているが、これは発表者が画像の質を評価できないためであり、かえって幸せなのかとひやひやしながら見せてもらうことがある。もうひとつの表現は、会場での質問に対して、自分はよく知らないけどという態度で「病理の先生がこう言っていた」と自信満々に答えている場合がある。しかし、ほとんどの場合説明は的を射ていないことが多い。

見るということ、物事を目で確認することは確信を得る最も優れた方法であり、臨床の先生も組織画像の価値は十分に認識しているはずである。結局、昔習った組織、病理像を忘れて、新たに勉強するのがおっくうでやりたがらないだけなのである。以前は、私もリウマチ学会などでミクロの写真に異議を唱えていたし、臨床医の困った顔をみるのが喜びだった。それでもだんだんむなしくなってきたやめた。そこで、今回は学会におけるミクロ写真の提示の心構えと方法を少し紹介したいと思う。

■ 疾患を代表する細胞、 組織所見に注目する

リウマチ・膠原病の分野で対象となる臓器は限られており、滑膜、腎臓、肺、血管、筋肉、皮膚などの炎症性病変である。ここでは腫瘍とは異なり、関節炎、腎炎、肺炎、血管炎、筋肉炎、皮膚の線維化など一般には細胞より組織構築を問題とすることが多いが、細胞としても、リンパ球、形質細胞、マクロファージ、あるいは好中球、好酸球など主に炎症性細胞が対象となる。たとえば構造的にみると、図1のような肺高血圧症のPlexiform lesion、細胞学的には、図2のような化膿性関節炎の滑膜組織に浸潤する好中球が診断の決め手となる。

■ 組織染色の使い分け

リウマチ・膠原病での発表で用いられる染色は、通常使われるヘマトキシリン-エオジン(HE)染色のほかにエラスチカ・マッソントリクローム(EM)染色、あるいは単にマッソントリクローム染色を用いることが多い。病理診断では、HE染色が全体の95%以上で使われているが、これは塩基性の色素であるヘマトキシリンと好酸性の色素であるエオジンを組み合わせたものであり、悪性腫瘍の診断などに多く使われている。これに対してEM染色は組織の構築をみるもので、線維化、血管の破壊の観察などに使われる。図3の血管炎の例では左のEM染色が右のHE染色に比較して

澤井高志

岩手医科大学医学部病理学講座
先進機能病理学分野 教授

三浦康宏

同 病理学講座先進機能病理学分野

宇月美和

同 病理学講座先進機能病理学分野 講師

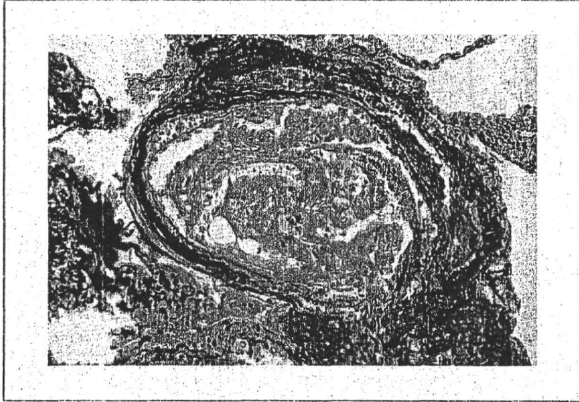


図1 肺高血圧症の動脈にみられたPlexiform lesion (EM染色)



図4 SLEの腎にみられたフィブリン沈着(AM藍色)

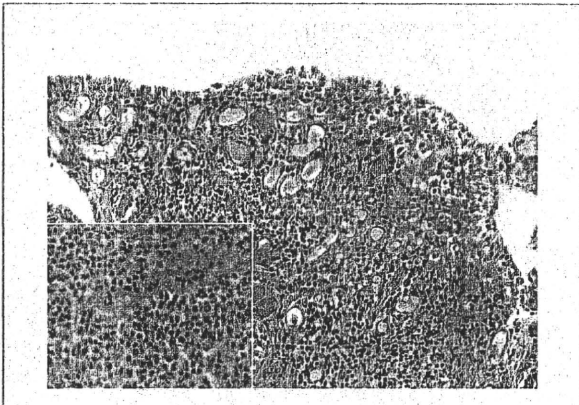


図2 化膿性関節炎の滑膜組織に浸潤する好中球(HE染色)

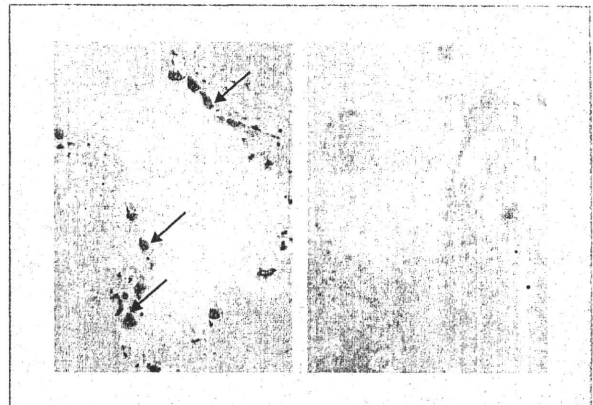


図5 EDTA脱灰(左)とギ酸脱灰(右)による骨組織でのMMP-9免疫染色

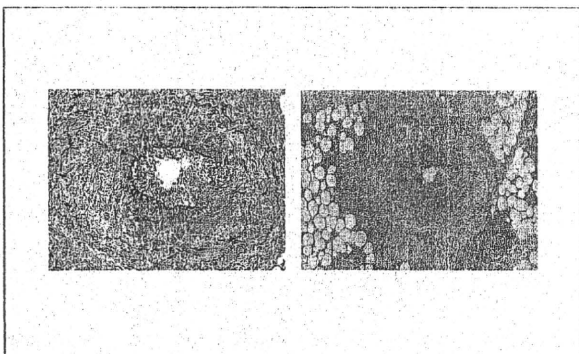


図3 血管炎のEM染色(左)とHE染色(右)

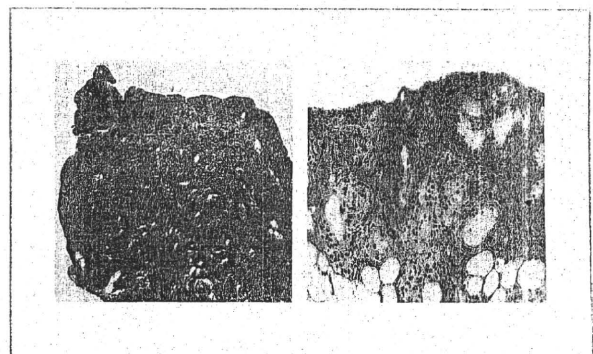


図6 初期RA滑膜の凍結標本

壁の破壊、内弾性板の断裂の状態がよくわかる。前述のごとく、腫瘍診断ではおもにHE染色を利用するのに対し、リウマチ・膠原病の分野ではこのようにEM染色を用いることが多い。このEM染色は膠原線維、弾性線維、平滑筋線維など組織構築を示す場合に用いられ、弾性線維染色あるいは単に線維染色とも呼ばれる。同じような間質を染め分ける染色には、EM染色のほかにもエラスチカワンギーソン染色などが用いられている。また、フィブリン沈着を示す場合は図4のようにアザンマロリー(AM)染色を用いるとスライドのごとく腎糸球体でのフィブリノイドの沈着が赤く示され、病巣がHE染色に比べて目立ち、より効果的である。

■固定について

標本の固定は組織の構築や細胞の形態を保持し、染色性を維持するのに必須であり、それはプレゼンテーションにも影響してくる。固定の目的というのは、その言葉のとおり蛋白を固定して染色液との反応をよくすることであるが、一般には10%ホルマリン固定液あるいは4%パラフォルムアルデヒドが使われる。この際、薄める液としては単に水でもいいが、ホルマリンは分解されてギ酸を生じ、強酸性になって免疫染色での抗原の失活が生じやすく扱いにくくなる。これを防ぐには緩衝液を使って固定液が酸性に傾かないように保持するのが望ましい。図5は極端な例であるが、通常のギ酸脱灰(右)ではEDTA脱灰(左)と異なりパンヌス域でのMMP-9の発現が証明できない。標本の固定時間が長すぎるとリンパ球のある種のマーカーや免疫グロブリンの同定ができないことはしばしば経験するが、図5の結果は脱灰によって抗原性が失われることを示している。

なお、固定する際の組織の大きさは、小さければ小さいほどよい。よく関節リウマチ(Rheumatoid Arthritis; RA)の手術の際に手術室にパンヌスなどをもらいにくくと整形外科の先生たちは気前よくどっさりとかた

まりで試料を提供してくれるが、もらってから病理医がノミで小さくするのに苦労しているのを案外知られていないと思う。ちなみにパンヌスの付近を用いる場合は明らかな骨組織のある硬い部位ではなく、手で触ってざらざらするくらいのところのほうが扱いやすい。

凍結試料や電顕試料など特殊な検体についてはここでは触れない。これは病理医や専門家に依頼して処理してもらうことをお勧めする。また、凍結切片は抗原性が保持できるから組織として理想的だと思っている方もいらっしゃると思うが、凍結標本は一般に固定が悪く、細胞の胞体など形の輪郭が見づらいため、細胞の種類に関しては同定しにくい。図6は初期のRAの滑膜組織を凍結切片にしてHE染色したものであり、ヘマトキシリンの青い色によって細胞が増えていることはわかるが、細胞の種類までは同定できない。mRNAを同定するための*in situ* hybridizationにおいても生の組織よりは4%パラフォルムアルデヒドで4~6時間程度固定したほうが、組織も確認できmRNAの失活も少ない。この固定方法はリウマチ、膠原病でしばしば取り上げられるサイトカインや蛋白分解酵素の証明にも適している。図7、8はRAで最近何かと注目されているTNF- α とMMP-3の滑膜組織に対する免疫染色である。ホルマリンによる通常の間をかけた固定では検出できないが、上記の固定法を用いればこのように証明が可能となる。一般に、これまでは固定による形態の保存と抗原性の保存は反比例するといわれてきたが、最近の抗体は極端に固定が長くなければある程度の固定でも利用できるものが増えてきている。

■発表の目的に合ったスライドを用意する

標本ができあがると鏡見して所見をとる。自分で学習することは必要だが、学会で発表する症例であれば一応病理の専門家にみてもらって説明を受けるほうがいい。その際でもノートを取ってあとで清書による確認は必要である。学会発表の目的が症例報告か、研究

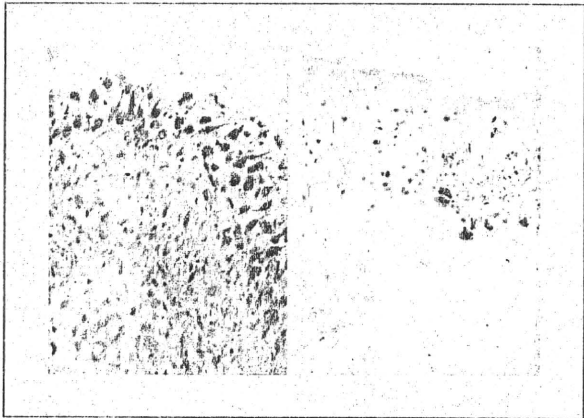


図7 RAの滑膜(左)と骨吸収部(右)にみられるTNF- α

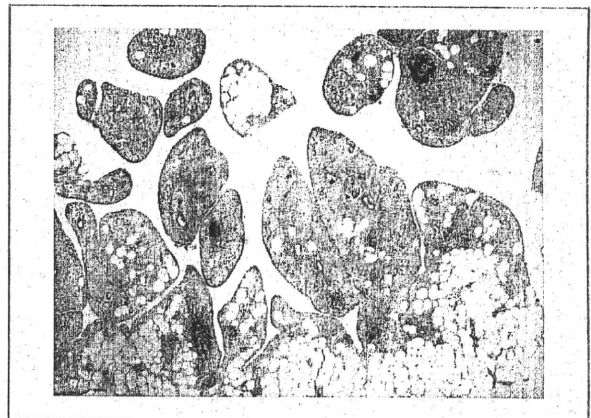


図10 OA患者の滑膜(リンパ濾胞を認める)

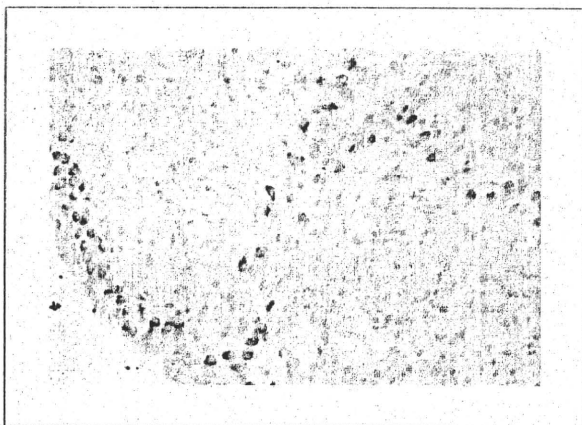


図8 滑膜組織にみられるMMP-3のmRNA
(*in situ* hybridization)

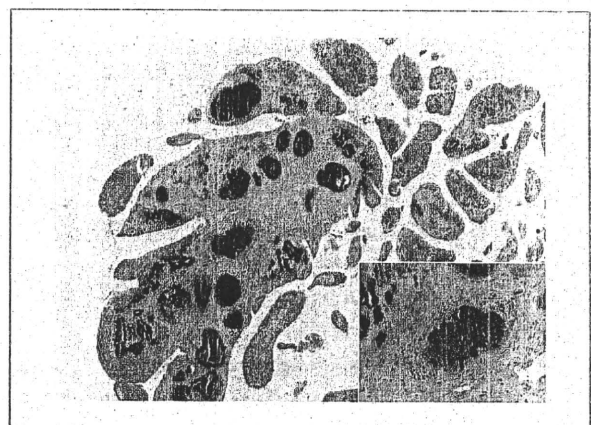


図11 結晶性関節炎の滑膜組織

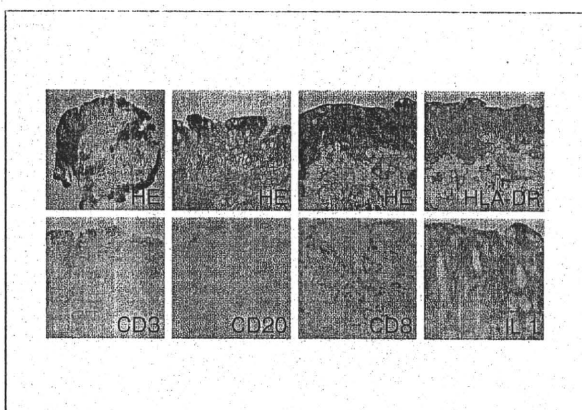


図9 初発RAの滑膜組織における各種細胞マーカーの免疫染色

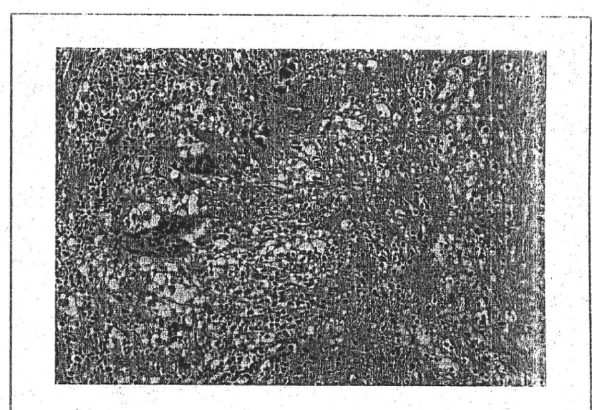


図12 側頭動脈炎の組織画像(高倍率)

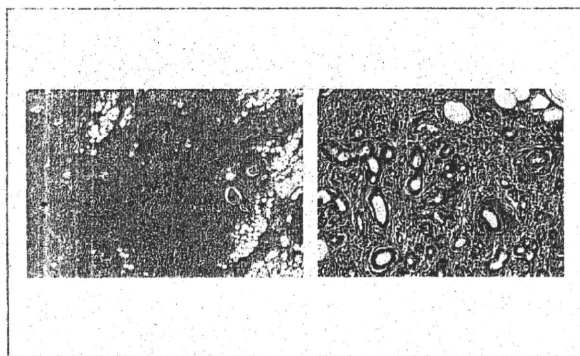


図13 シェーグレン症候群の唾液腺炎の低倍率(左)と高倍率(右)

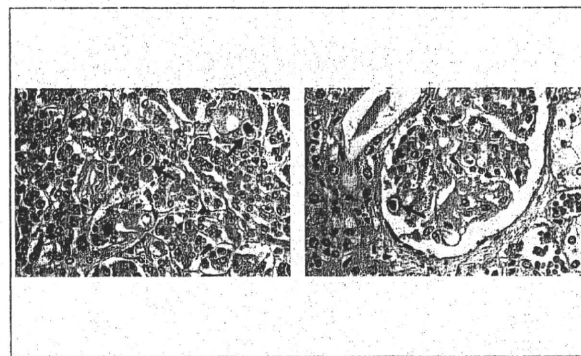


図14 AIDS患者の唾液腺(左)と腎(右)に認められたサイトメガロウイルス

成果の発表かということにもよるが、しばしば問題になるのは前者の症例発表の場合である。リウマチ・膠原病の症例報告ではよく血管炎の組織像を発表スライドに1, 2枚入れてくることが多いが、スライドをみるとスクリーンに映っている組織像が血管かどうか分からないことがある。特に、最近はパワーポイントを使って小さな画面を何枚も組み合わせることが簡単にできるようになってきており、その分だけ画像が小さくて見えないスライドを形式的に出したにすぎない場合がある。図9はRAの初期病変の組織像と、浸潤している細胞をモノクローナル抗体で証明したものである。提出した意義は認めるが、これでは聞いている者にとって内容の確認ができないまま次のスライドに移ることが多く、演者の自己満足に終わってしまう。ここが論文発表と異なるところであり、病理医など専門家に相談して講演の主旨に従って必要なものを出すべきで、すべてを出す必要はない。しかし、一方では、図10のように病理の先生にみてもらったといって変形性関節症(Osteoarthritis: OA)の組織像をRAとして出してくる場合もある。これは炎症性細胞浸潤は少し見られるものの典型的なOAであり、一概に講演する臨床家のせいとはいえない場合もある。

最大の演出効果をねらう

学会での講演は聞くと同時にスライドを見るという効果が大きい。まさに「百聞は一見に如かず。」である。したがって、その効果を最大限に生かす必要がある。そのためには自分の講演内容の目的にあったスライドを準備すべきである。一般に、スライドは低倍率で組織の全景から倍率を上げていくのが原則であり、最初から高倍率だけということとはあり得ない。図11は結晶性関節炎の像である。滑膜に散在する多数の結晶構造物の低倍と高倍を出しているが、結晶性関節炎として間違いない所見であり、時にはこのように低倍と高倍を組み合わせるとスライドにすることもよい。しかし、図12のように側頭動脈炎のスライドでは一部に巨細胞はみられるものの、動脈としての全体像が示されていないためはたしてこれが側頭動脈炎かどうかという確定は難しく、周囲を納得させるにはより低倍率の組織画像が欲しい。図13の場合は低倍ではよくわからないが、右のように高倍の写真を加えると唾液腺に浸潤している炎症性細胞浸潤と組織の破壊の関係がよくわかる。

さらに気の利いた方法は、スライドのなかに矢印などのマーキングをするとより効果的である。たとえば、図14のサイトメガロウイルス(CMV)のように特殊な物質(細菌、ウイルス、原虫)が診断の決め手になる場

合は矢印あるいはマーキングを行い、それを堂々と提示するのが効果的な方法である。

おわりに

たかが組織像、されど組織像であり、発表の際に使われる1枚のスライドが演者の発表内容の評価や場合によっては人格を左右することになる。最後の課題はやはり講演者の学習である。学生時代の古いノートやテキストあるいは図譜でも参考にして学習する機会をもつのもいいことだと思うし、時間に余裕のある方は自分でマイクロ写真を撮影してみるのもいい。最近はデジタル化されているので失敗したらすぐ撮り直すことが可能であり、多数撮影してそこからいい画像を選ぶ

こともできるようになった。組織所見を提示することの長所は事実をそのまま提示できるということである。組織の説明に自信がないと学会場で質問されて答えられなくなってしまうことが多い。これを防ぐにはやはり学習して事前に自信をつけていくことが最良の方法である。

写真の撮り方については「病理と臨床」(文光堂)のvol.23 No.9～vol.25 No.7(病理写真の作法-よりよいプレゼンテーションのために-二村聡)に出ているので機会があれば一読されたい。肝心なのは、発表者が聴衆に一番訴えたいことは何かということを考えながら準備を進めることである。


特集 関節リウマチと骨・軟骨・Seminar

関節リウマチにおける関節炎の 破壊に関する最近の病理学的話題

岩手医科大学医学部病理学講座先進機能病理学分野 教授 澤井 高志
岩手医科大学医学部病理学講座先進機能病理学分野 講師 宇月 美和

CLINICAL CALCIUM 第19巻3号 別刷

(2009年3月号)

 株式会社 医薬ジャーナル社 〒541-0047 大阪市中央区淡路町3丁目1番5号・淡路町ビル21 電話 06(6202)7280(代) FAX 06(6202)5295
〒101-0061 東京都千代田区三崎町3丁目3番1号・TKiビル 電話 03(3265)7681(代) FAX 03(3265)8369

関節リウマチにおける関節炎の破壊に関する最近の病理学的話題

澤井 高志*¹⁾ 宇月 美和*²⁾

関節リウマチ (rheumatoid arthritis: RA) による関節の破壊については、病理組織像が従来に比べて大きく変化しているわけではなく、滑膜炎で始まり、軟骨の破壊を経て骨吸収に至り、最終的には関節の変形をきたすという組織像は変わっていない。これら炎症と骨吸収に関する新しい因子や機能が発見されると、病態についての解釈が変化すると同時に、それらの因子が最近の治療によって大きな影響を受け、関節の破壊像が変わってきているのではないかと注目されることになる。一方、それらのタンパクに関連した遺伝子の機能も次第に明らかにされつつあり、ノックアウトやトランスジェニックなどの手法によって遺伝子学的、細胞内でのタンパクの役割に関する解明が行われている。現在、関節破壊の過程がすべて明らかにされたわけではないが、今回は、その過程を追いつながりながら数多くの症例の経験からその形態学的特徴を述べてみたい。

Rheumatoid arthritis in the context of bone and cartilage.

Recent topics of histopathology associated with joint destruction in rheumatoid arthritis.

Division of Leading Pathophysiology, Department of Pathology, School of Medicine, Iwate Medical University.

Takashi Sawai, Miwa Uzuki

Histopathological features of rheumatoid arthritis, beginning from synovitis through deteriorating cartilage and bone to joint destruction has basically unchanged since the old days. On the other hand many inflammatory factors initiating, sustaining and/or activating inflammation such as cytokines and proteolytic enzymes, were successively detected, and followed by genetic analysis using animal models such as transgenic and knockout methods. Newly developed therapies by biological products remarkably have influenced the inflammatory these factors and genes, and seemed to modify the histopathological features.

This article refers the histopathological features of RA in topics such as places involved in early stage, and the cellular origin, especially about the fibroblast like cells (FLS) which have been paid attention recently

*岩手医科大学医学部病理学講座先進機能病理学分野 ¹⁾教授(さわい・たかし) ²⁾講師(うづき・みわ)

as key cells presenting immunological, histiocytic and fibroblastic properties, furthermore, participating the bone destruction in part as well as osteoclast in RA.

We also introduce the several animal models of RA applied by many researchers for therapeutic and genetic analyses in RA.

はじめに

関節リウマチ (rheumatoid arthritis : RA) は、全身の関節をおかす慢性炎症性疾患であり、原因は免疫異常によるとされている (図1)。

最近の RA の動向をみた場合、大きく二つの特徴があげられる。一つは生物学的製剤の開発・投与によって、病像が大きく変わりつつあることであり、当然、その変化は滑膜組織の炎症や軟骨・骨の吸収像の変化にも微妙な影響を与えている。もう一つは画像診断の進歩である。小さな病変の観察が可能となり、きわめて早期の変化が捉えられるようになった。こういうなかで、病理学的所見の果たす役割は、正確な細胞・組織学としての裏付けと動態に関する考察ではないかと思われる。それだけに、ヒトの検体を用いた解析の限界

に対しては、動物モデルを用いざるを得ないこともある。ここでは、筆者らが用いてきたいいくつかの動物モデルを取りあげながら、最近の RA の話題を取りあげてみた。

RA の初期変化は骨髄に始まる

RA が、最初にどこから始まるかという点については長年の課題であった。最近では骨髄で最初に変化がみられるという説が強いが、それがどのような変化であるかという説が定着したわけではない。越智らは大きな胞体を有する顆粒球系細胞が RA 患者の骨髄内、それも骨破壊の高度な関節の近くに数多くみられ、小さな隙間を通して滑膜に至るといふ所見を述べている²⁾。RA の滑膜組織においては HLA/DR⁺、CD14⁺ の線維芽細胞様細



図1 RAの膝関節

RAではパンヌスの増生が認められ、軟骨、骨を侵食している。

(文献1より引用)

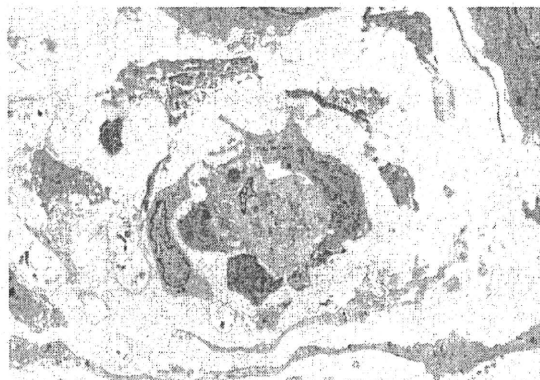


図2 関節滑膜の初期の電顕像

初期には血管周囲に紡錘形の線維芽細胞様細胞 (FLC) が出現してくる。この細胞は RA の病変を形成する主要な細胞であると思われる。

(筆者ら提供)

FLC : 線維芽細胞様細胞, RA : rheumatoid arthritis (関節リウマチ)