

急性肩石灰性腱炎の病理学的解析

東京女子医科大学東医療センター整形外科

神戸克明・中村篤司

千葉純司

東京女子医科大学整形外科

安井謙二・加藤義治

Histological analysis of acute calcific tendinitis of the shoulder

by

Katsuaki Kanbe, Atsushi Nakamura, Junji Chiba

Department of Orthopaedic Surgery, Tokyo Women's Medical University, Medical Center East

Kenji Yasui, Yoshiharu Kato

Department of Orthopaedic Surgery, Tokyo Women's Medical University

肩関節別冊

平成24年8月31日発行

(第36巻 第2号)

急性肩石灰性腱炎の病理学的解析

東京女子医科大学東医療センター整形外科

神戸克明・中村篤司

千葉純司

東京女子医科大学整形外科

安井謙二・加藤義治

Histological analysis of acute calcific tendinitis of the shoulder

by

Katsuaki Kanbe, Atsushi Nakamura, Junji Chiba

Department of Orthopaedic Surgery, Tokyo Women's Medical University, Medical Center East

Kenji Yasui, Yoshiharu Kato

Department of Orthopaedic Surgery, Tokyo Women's Medical University

Background: We performed arthroscopic surgery for acute calcific tendinitis of the shoulder to compare JOA scores before and after surgery. In addition, histological analysis of calcified cuff tissue was performed to investigate the pathology of the acute phase of the disease.

Methods: Calcified cuff tissues were examined from six patients with acute calcific tendinitis of the shoulder with a mean age of 54.2 years old. Calcified cuff tissues were stained with hematoxylin and eosin (H.E.) and examined using immunohistochemical staining. TNF- α , interleukin-6 (IL-6), matrix metalloproteinase (MMP)-3, S-100 protein, vascular endothelial growth factor (VEGF) and specific staining, sudan III (lipid), alizarin red (calcium), rubean coper (Cu), congo red (amyloid), berlin blue (Fe), and uric acid (UA) were analyzed by the use of the methods of Hand et al, to detect expression patterns.

Results: H.E. showed defect spots of calcium deposit with few cell proliferations in calcified cuff tissues. TNF- α was positive in 16.7 % (1/6) of cases, however IL-6 and MMP-3 were negative. S-100 protein was positive in 83.3 % and VEGF was positive in 16.7 % of cases. sudan III (lipid) was positive in 83.3 % of cases, however alizarin red (calcium), rubean coper (Cu), congo red (amyloid), berlin blue (Fe), uric acid (UA) were negative in calcified cuff tissues.

Conclusion: Arthroscopic resection of calcified tissue in acute calcifying tendinitis of the shoulder was not sufficiently effective, however there was statically significant efficacy. TNF- α , S-100 protein and lipid deposits were observed in calcified cuff tissues of acute calcifying tendinitis of the shoulder.

Key words : 急性肩石灰性腱炎 (acute calcific tendinitis of the shoulder), 組織 (histology)

はじめに

肩石灰性腱炎はDepalmaらによると発症後4週以内の急性期, 4週から6ヵ月までの亜急性期, 6ヵ月以降の慢性期に分類されている³⁾。急性期では強い炎症により激痛を伴うことが多く, 肩関節を全く動かさない状態で外来受診される症例がある。急性期の治療は一般的に安静, 鎮痛剤内服, ステロイド関節内注射, 注射石灰吸引などの保存的治療であるが, 激痛のため入院を希望する患者もいる。これまで急性期の肩石灰性腱炎に対する鏡視下石灰切除術の報告が少なく⁷⁾, その治療効果について明確ではない。石灰沈着の病態を解明することは急性期薬物治療の発展のために重要な所見となる。急性期石灰沈着部の病理学的解析や内視鏡所見に関する論文はない。我々は, 急性肩石灰性腱炎に対して鏡視下石灰切除術を施行し術後成績を調べ, さらに石灰沈着部における組織学的変化を解析したので報告する。

対象と方法

急性肩石灰性腱炎6例, 男性2例, 女性4例, 平均年齢54.2歳, 平均罹患期間24日, 右肩3例, 左肩3例, 全例術前にステロイド関節内注射を施行および消炎鎮痛剤にても激痛が改善せず, 痛みのため外転位にて固定され, 他動および自動可動域制限強く夜間痛の強い症例であった。手術は全身麻酔下, ビーチチェアポジションにて鏡視下手術を施行した。4ポータルにて関節内鏡視と肩峰下除圧術を施行した。鏡視下に石灰沈着摘出後は腱板を吸収糸(2-0バイクリル[®])1-2針にて側側縫合した。術後翌日よりstopping exerciseおよび他動的可動域訓練を開始し3週で自動的可動域訓練, 約3ヵ月リハビリ治療継続し術前術後, 日本整形外科学会肩関節疾患治療成績判定基準(以下JOAスコア)を比較した。

関節鏡視下腱板縫合術時に断裂部位を採取しhematoxylin and eosin(以下H.E.)染色, および免疫染色としてtumor necrosis factor(以下TNF)- α , interleukin-6(以下IL-6), matrix metalloproteinase(以下MMP)-3, S-100蛋白(グリア細胞, シュワン細胞,メラニン細胞, 軟骨細胞などに含まれる), vascular endothelial growth factor(以下VEGF), 特殊染色として脂質, カルシウム, 銅, アミロイド, 鉄, 尿酸について調べた。本研究にあたり患者に対する十分なインフォームドコンセントを得て施行した。実験方法として, まず肩峰下滑液包側の石灰沈着部腱板組織をホルマリン固定した後パラフィン包埋切片(5 μ m)をH.E.染色し, 免疫染色として脱パラフィンのため, エタノール脱水処理してオートクレイブに121度20分10mMのsodium citrate buffer(pH6.4)に浸し, 室温で冷やした後, detergent solution(0.05M PBS, pH7.6)を用いて3分3回洗浄した。その後20% rabbit serumを加えた0.01 mol/l phosphate buffered saline(以下PBS)でブロックしてから以下の1次抗体を使用して4 $^{\circ}$ C, overnightで処理した。使用した1次抗体は, anti-TNF- α mouse monoclonal antibody(1:1000; Biogenesis, Pool, UK), MMP-3(1:100; Biogenesis #5980-0311), IL-6(1:6000; Rockland Inc. #109-401-310), S-100(1:5000; DAKO #Z0311)およびVEGF(1:800, upstate #05-443)であった。0.05M PBS, pH7.6で洗浄した後, 0.3% hydrogen peroxide入りtris-buffered saline(10 mm Tris HCL, 140 mM NaCl, pH 7.4)

で10分間処理しendogenous peroxidaseをブロックした。次にbiotinylated species-specific anti-IgG 2次抗体(Vector, Burlingame, CA)で30分処理した。3'-diaminobenzidine-4HCl(DAB)(Sigma)を使用したvectastain ABC reagent(Vector)で30分処理して抗原提示細胞を茶色で認識させた。特殊染色はsudan III(lipid), alizarin red(calcium), rubean coper(Cu), congo red(amyloid), berlin blue(Fe), uric acid(UA)を用いた。Hand GCRらの方法に準じて組織所見を比較検討し(-)=0, (+)=1から4, (++)=5から10, (+++)=10以上, (++++)=100以上を陽性とした⁵⁾。統計学的有意差検定は術前術後JOAスコアについてWilcoxon検定, 組織学的解析ではMann-Whitney U検定を用いP<0.05を有意差ありとした。

結 果

術前JOAスコアは平均41.0 \pm 4.69点から術後3ヵ月で78.2 \pm 6.88点に改善しP=0.028で有意に改善した(図1)。発症後最も早期に手術した1例(年齢51歳, 罹患期間10日)は術前XP上, 石灰沈着は小さく(図2A), MRIにて棘上筋腱内にT2 low信号を認め(図2B), 術中肩甲上腕関節内に強い出血性滑膜炎がみられた。肩峰下滑液包内にて棘上筋の大結節付着部より約2cmの棘上筋腱内に白色軟性の石灰沈着を認め(図2C), その周囲の腱板組織に血管新生を認めた。

肩峰下滑液包側の石灰沈着部腱板組織のH.E.では石灰沈着部と思われる疎な欠損部分が多くみられ細胞増生はそれほど強くなかった(図3)。炎症性サイトカインとしてTNF- α は16.7%(1/6)陽性であり(図2, 表1), IL-6とMMP-3は陰性であり, S-100蛋白は83.3%(5/6)陽性であった。またVEGFは16.7%(1/6)陽性であった。特殊染色ではsudan III(lipid)83.3%(5/6)陽性, alizarin red(calcium), rubean coper(Cu), congo red(amyloid), berlin blue(Fe), uric acid(UA)はすべて陰性であった(図3, 表1)。

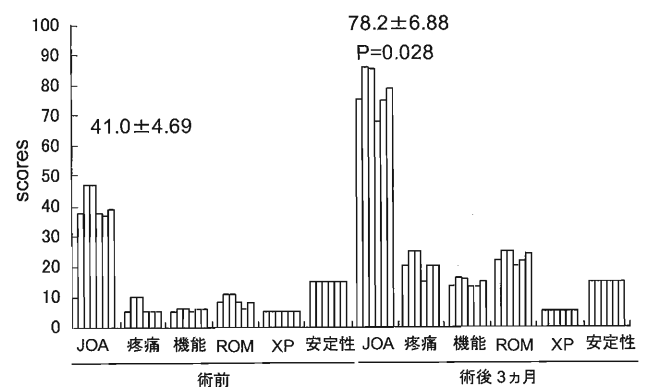


図1: 急性肩石灰性腱炎に対する鏡視下石灰切除術の術後成績

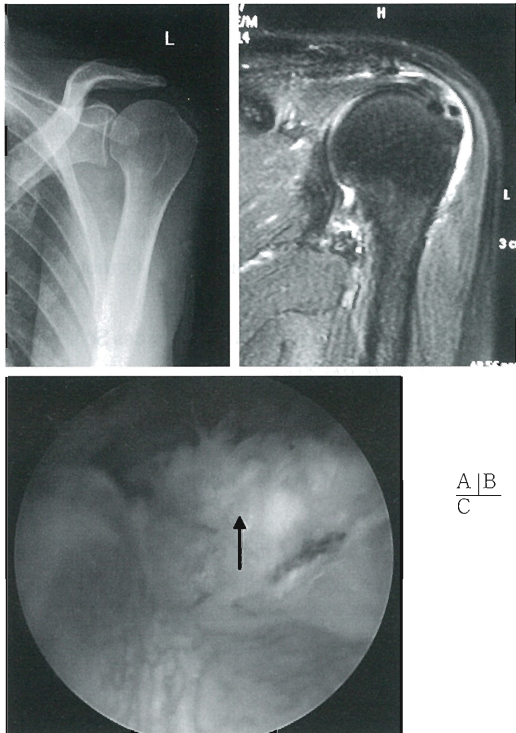


図2：急性肩石灰性腱炎のXP (A), MRI (B) および鏡視下所見 (C) 矢印は石灰沈着部位を示す

表 1. 急性石灰沈着性肩板炎の組織学的解析

Antibody	Result*	Number of patients positive (%) (n=6)
TNF- α	+	1 of 6 (16.7)
IL-6	—	0 of 6 (0)
MMP-3	—	0 of 6 (0)
S-100 protein	+++	5 of 6 (83.3)
VEGF	—	1 of 6 (16.7)
Sudan III (lipid)	+++	5 of 6 (83.3)
Alizarin red (calcium)	—	0 of 6 (0)
Rubean copper (Cu)	—	0 of 6 (0)
Congo red (amyloid)	—	0 of 6 (0)
Berlin blue (Fe)	—	0 of 6 (100)
Uric acid	—	0 of 6 (100)

*result, number of cells counted per high-power field x200; -, none; +, 1 to 4; ++, 5 to 10; +++, >10; ++++>100

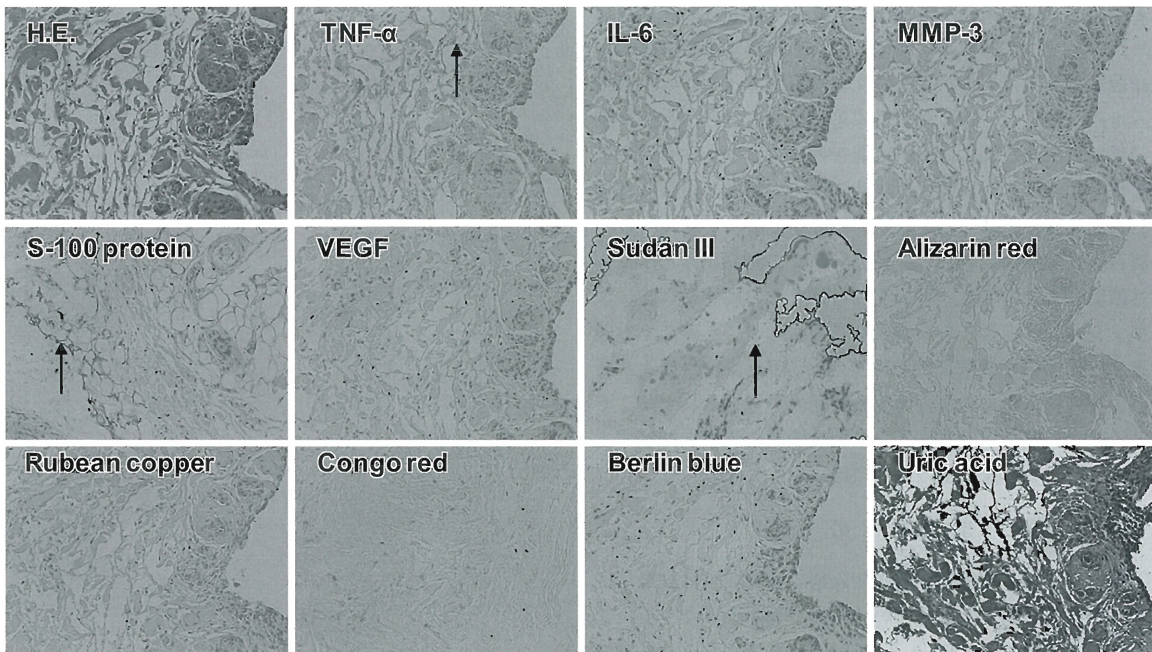


図3：急性肩石灰性腱炎組織学的所見 (x200). 矢印は各染色の陽性部分を示す

考 察

肩石灰性腱炎は、Painterが1907年に calcific tendinitis として報告して以来多くの研究報告がある^{34,6)}。肩石灰性腱炎の頻度は2.7%と言われているが、症状を呈しない石灰沈着症例を含めると15-20%まで存在すると報告されている²⁶⁾。石灰沈着部位では棘上筋腱内が最も多く、続いて棘下筋腱、肩甲下筋腱、小円筋腱内となっている¹⁾。性別では女性に多いとされ、40-45歳に多いと報告されている¹⁾。本研究でも全例棘上筋腱内で女性に多かった。病因論では腱組織の低酸素状態、pHや局所圧の変化が報告されているが⁸⁾、Codmanは were-and-tear 効果による腱線維変性に原因があると述べている²⁾。我々の組織学的解析では VEGF を含む血管新生の所見はなく脂肪変性、炎症性サイトカインの産生が見られ、腱組織の変性所見と一致していた。臨床的には急性期における肩石灰性腱炎に対して鏡視下石灰切除術は JOA スコアで有意に改善を認めるものの今回十分満足のいく結果ではなかった。特に超早期（発症後7日以内）における手術は術後 JOA スコアが68点と悪く、短期的成績では保存的治療との差はないことが示唆された。これは肩激痛の原因除去が石灰沈着切除だけでは説明できない点を含んでおり、鏡視下所見で肩甲上腕関節内の出血性滑膜炎所見が認められたことや組織学的に炎症性サイトカイン、S-100蛋白の発現に伴う疼痛刺激を感受しやすい環境であることも理由に挙げられる。このように脂質沈着が多量にみられる症例（平均罹患期間24日）では、保存療法で使用する注射薬は水溶性ステロイドよりもヒアルロン酸の方が石灰沈着の溶けやすさという視点からは有効であると考えられる。従って、ステロイドにより急性期炎症を抑えた後は、亜急性期肩石灰性腱炎（発症後4週以降12週未満）に対してはヒアルロン酸注射の石灰融解効果の可能性がある。今回組織学的にカルシウム沈着が確認できなかった理由として、ホルマリン固定時に組織外に溶出した可能性、発症早期なゆえにまだ石灰沈着部には検出可能なカルシウム沈着がないことなどが考えられる。前者では凍結切片での解析、後者では慢性期の石灰沈着部の組織との比較で分別可能であると思われる。

急性肩石灰性腱炎は他動および自動外転にて激痛誘発し、痛みのため外転にて固定され、石灰沈着自体とその周囲の炎症によるインピンジメント症候群の一つとも考えられる。本研究では強い滑膜炎に伴う石灰沈着部周囲の腱板内へS-100蛋白の侵入を認めたことより、神経由来の蛋白発現の可能性が考えられた。この急性期にいかん炎症を早期に抑え末梢神経線維の刺激を抑制することが今後さらなる薬物療法の一つの鍵になると思われる。

ま と め

肩石灰性腱炎に対して鏡視下石灰切除術の術後成績は統計学的には有意に改善したが十分満足のいく結果ではなかった。石灰沈着部の組織学的所見ではTNF- α とS-100蛋白の発現および脂質沈着を認めた。

文 献

- 1) Bosworth BM: Calcium deposits in the shoulder and subacromial bursitis, a survey of 12,122 shoulders. JAMA, 1941; 116: 2477-2482.
- 2) Codman EA: Bursitis subacromialis, or periartthritis of the shoulder joint. Pub Mass General Hospital, 1909; 2: 521-591.
- 3) Depalma AF, et al.: Long-term study of shoulder joints afflicted with and treated for calcific tendinitis. Clin Orthop, 1961; 20: 61-72.
- 4) Gschwend N, et al.: Die Tendinitis calcarea des Schultergelenks. Orthopäde, 1981; 10: 196-205.
- 5) Hand GCR, et al.: The pathology of frozen shoulder. J Bone Joint Surg, 2007; 89: 928-932.
- 6) Painter CF: Subdeltoid bursitis. Boston Med Surg J, 1907; 156: 345-349.
- 7) Ross G, et al.: Acute calcific tendinitis of the shoulder mimicking infection: arthroscopic evaluation and treatment-a case report. Am J Orthop, 2006; 35: 572-574.
- 8) Wolf WB: Shoulder tendinosis. Clin Sports Med, 1992; 11: 871-890.