

## ヒト椎間板における老化アミロイド沈着

— 椎間板変性, 椎間板ヘルニアの程度との関係 —

川崎医科大学 整形外科

(指導: 渡辺 良教授)

森 井 章 司

(昭和62年2月18日受付)

## Senile Amyloid Deposition in Human Intervertebral Disc

— Relationship to Aging and Type of Disc Herniation —

Shoji Morii

Department of Orthopedic Surgery

Kawasaki Medical School

(Accepted on February 18, 1987)

摘出手術より得たヒト椎間板組織を使って老化アミロイド沈着の有無を調べ、椎間板変性と椎間板ヘルニアの突出度との関係を検討しさらに、そのアミロイド前駆物質について検討し以下の結果を得た。

1) 88椎間中45椎間(51.1%)でアミロイド沈着を認めた。アミロイド沈着は加齢にしたがって高率に認められ、50歳以上の症例では、それ以下の年齢群に比べ有意にアミロイド沈着が高かった。性差は認められなかった。

2) 後縦靭帯が保たれていた膨隆型(**protrusion type**)と後縦靭帯を破って突出していた脱出型(**prolapse type**)のアミロイド沈着率では有意差は認められなかったが、脱出型のうち**free fragment**を認める脱出遊離型では高率にアミロイド沈着を認めた。また、頸椎と腰椎によるアミロイド沈着率の差は認められなかった。

3) 沈着アミロイドは、過マンガン酸カリウム処理に抵抗性であり非アミロイドA蛋白であった。PAP法を使った主要アミロイド前駆物質とも反応がなく、今までに解っているアミロイド蛋白のいずれでもない新しいタイプのものであった。このアミロイドの産生の機序は不明であるが、軟骨細胞の関与が示唆された。

Material from intervertebral discs obtained from 88 operations for herniation of a disc and cervical spondylosis were examined histologically for amyloid deposition. Various degrees of amyloid degeneration were found in disc tissue from 45 patients. Material from patients over 50 years old showed significantly more amyloid than that from younger patients. There was no sex difference. Potassium permanganate ( $\text{KMnO}_4$ ) treatment was employed for amyloid positive cases, which all had a  $\text{KMnO}_4$  resistant amyloid. This material did not react with antibodies to known amyloid proteins. There was no preference of deposition level for the intervertebral discs and there was no difference between protrusion

and prolapse types of herniation. It was suggested that chondrocytes may comprise one of the sources of amyloid precipitation.

Key Words ① Amyloid ② Intervertebral disc ③ Aging

## I. 緒 論

アミロイド症は細胞間にアミロイド蛋白が沈着する疾患で、この蛋白は水に解けにくくまた、蛋白分解酵素に対して抵抗があり、吸収されにくい。Virchow (1854) は、この物質がヨードや硫酸によって澱粉反応を示すことから澱粉類似の物質と考え“アミロイド(amyloid: 類澱粉)”と呼ぶことを提唱した。しかし、その後間もなく Friedreich, Kekulé (1859) によって蛋白性物質であることが明らかにされた。

老化に伴うアミロイド沈着は、心臓において、Soyoka (1876) によって最初に報告され、その後諸家<sup>1)~9)</sup> によって脳、脾、脾臓さらに、大動脈、精嚢腺、副腎、関節、舌においても報告された。さらに Shimizuら<sup>10)</sup> による老化促進モデルマウスによるアミロイド症の研究により椎間板にもアミロイド沈着が認められている。

椎間板の加齢変化は、組織学的<sup>11)~17)</sup> 生化学的<sup>18)~22)</sup> にも比較的早期より始まることが知られている。

今回、摘出手術によるヒト椎間板を使って老化アミロイド沈着の有無を調べ、椎間板変性と椎間板ヘルニアの大きさ、突出度との関係を検討しさらに、そのアミロイドの前駆物質について検討した。

## II. 対象および方法

1) 材 料: 当科において腰椎椎間板ヘルニアの診断で椎間板摘出術を施行した60椎間(56名)と、頸椎症にて前方固定術を施行した23椎間(17名)さらに椎体圧迫骨折脱臼骨折に対する整復固定術を施行した5椎間(5名)、計88椎間78名(男性50名、女性28名)より得た椎間板組織を使用した。

2) アミロイド沈着の判定方法: 摘出椎間板組織を10%ホルマリン液に固定後、多数の小片に分かれている組織を一塊とするために2%寒天に包埋した。脱水、キシロール透徹を行い、パラフィンに包埋した。8 $\mu$ に薄切、脱パラフィン、水洗を型のごとく行い、アルカリ・コンゴ赤染色(Puchtlerの変法)<sup>23), 24)</sup> およびダイロン染色<sup>25)</sup> を行った。プレパラートを偏光顕微鏡下に観察し、緑色の複屈折によってアミロイド沈着の有無を判定した。その他、線維輪および軟骨細胞の変性は、Hematoxylin-Eosin 染色, van Gieson 染色, Azan Mallory 染色, Toluidin Blue 染色などで観察した。

3) 沈着アミロイドの種類検討: アミロイドA蛋白(以下AA)と非アミロイドA蛋白(以下非AA)とに鑑別するために、Wrightら<sup>26)</sup> の過マンガン酸カリウム前処理法を行った後のコンゴ赤染色標本を観察した。さらにAAの前駆物質である serum amyloid A protein (SAA) を一次抗体とした peroxidase-antiperoxidase (PAP) 法<sup>27)</sup> を行った。また、以下の一次抗体について検索を加え、沈着アミロイドの種類について検討した。

1. 抗ヒト $\kappa$  (L鎖)
2. 抗ヒト $\lambda$  (L鎖)
3. 抗ヒトIgA ( $\alpha$ 鎖)
4. 抗ヒトIgG ( $\gamma$ 鎖)
5. 抗ヒトIgM ( $\mu$ 鎖)
6. 抗ヒトプレアルブミン
7. 抗 $\alpha$ -リポ蛋白(high density lipoprotein; HDL)
8. 抗 $\beta_2$ -ミクログロブリン
9. 抗アミロイドPコンポーネント
10. 抗ケラチン

## III. 結 果

1) アミロイド沈着率: 全88椎間中45椎間(51.1%)でアミロイド沈着がみられた。男性

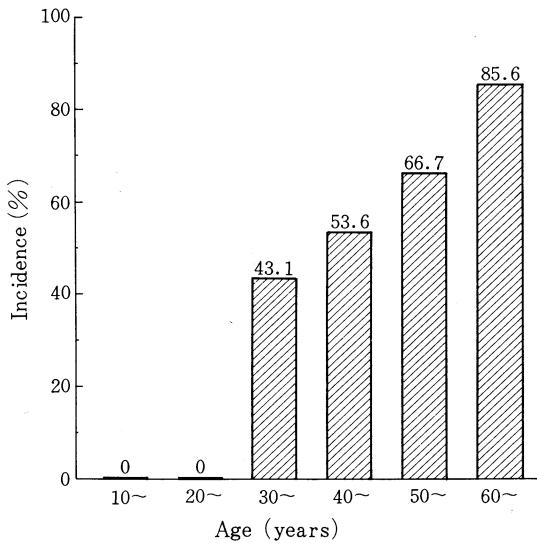


Fig. 1. Incidence of amyloid deposition in intervertebral discs with advancing age.

Table 1. Comparison of amyloid deposits in the over-50 age group with those in the under-50 age group.

Age (years)	Amyloid		Total
	Negative	Positive	
~49	35	25	60
50~	8	20	28
Total	43	45	88

Significantly more amyloid was found in the group over 50 years of age ( $\chi^2$  test:  $p < 0.01$ ).

58例中31例(53.4%), 女性30例中14例(46.7%)で性差に統計上有意差は認められなかった。

2) 年齢別にみたアミロイド沈着率: Figure 1のごとくである。最年少のアミロイド沈着例は、男性では34歳であり女性では35歳であった。アミロイド沈着陽性例の平均年齢は48.7歳、アミロイド沈着陰性例の平均年齢は39.4歳で、両者の間には有意差を認めた( $p < 0.01$ )。50歳以上の症例ではアミロイド沈着率は、それ以下の年齢群に比べ有意に高かった

(Table 1)。椎間板レベル別のアミロイド沈着は、Table 2に示すように頸椎と腰椎による差は認められなかった。また椎間板ヘルニア好発部位であるL<sub>4-5</sub>間では50.0%でL<sub>5-S1</sub>間47.4%との間に有意差を認めなかった。2椎間の椎間板摘出症例は、10人でTable 3に示すように7人のアミロイド沈着例において全例2椎間両方にアミロイド沈着を認めた。

3) 椎間板ヘルニアの突出度とアミロイド沈着: 術中に突出度を確認できた椎間板ヘルニア74例をFigure 2に示すように分類してみると、後縦靭帯が保たれていた膨隆型(protrusion type)40例中21例(52.5%)にアミロイ

Table 2. Distribution of amyloid deposition among various levels of intervertebral discs.

レベル	アミロイド沈着率	
C <sub>3-4</sub>	0/2	
C <sub>4-5</sub>	3/6	
C <sub>5-6</sub>	8/10	13/23 (55.6%)
C <sub>6-7</sub>	2/5	
T <sub>3-4</sub>	1/1	
T <sub>12-L1</sub>	0/2	1/3 (30%)
L <sub>3-4</sub>	2/3	
L <sub>4-5</sub>	20/40	31/62 (50%)
L <sub>5-S1</sub>	9/19	

Table 3. Distribution of amyloid deposition in 10 cases of double lesion.

Case No.	Age	Sex	C <sub>3-4</sub>	C <sub>4-5</sub>	C <sub>5-6</sub>	C <sub>6-7</sub>	L <sub>4-5</sub>	L <sub>5-S1</sub>
1. C 13135	37	M	-	-				
2. C 14858	57	M	-	-				
3. B 98355	46	M			-	-		
4. B 97511	54	M		+	+			
5. A 45798	53	M			+	+		
6. C 13115	46	F			+	+		
7. B 81691	35	F					+	+
8. B 75247	44	M					+	+
9. B 35164	45	M					+	+
10. B 76267	68	M					+	+

amyloid deposits positive: +  
amyloid deposits negative: -

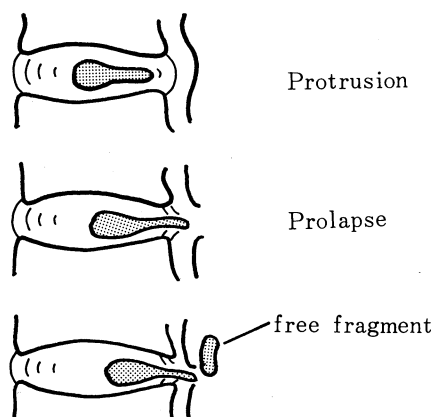


Fig. 2. Type of disc herniation.

ド沈着が認められ、また後縦靭帯を破って突出していた脱出型 (prolapse type) 34例中15例 (44.1%) にアミロイド沈着が認められた。脱出型のうち free fragment を認める脱出遊離型では、5例中4例 (80%) にアミロイド沈着が見られた。

4) 沈着アミロイドの種類：沈着アミロイドは Wright らの過マンガン酸カリウム処理に抵抗してコンゴ赤に染まり、SAA を一次抗体とした PAP 法にて反応は陰性であり、したがってアミロイド A 蛋白以外の非 AA であった。また、免疫グロブリン、プレアルブミン、 $\alpha$ -リポ蛋白、 $\beta_2$ -ミクログロブリン、アミロイド P コンポーネント、ケラチンとも PAP 法で反応が陰性であった。

#### IV. 考 察

アミロイドは、次のように定義されている。すなわちコンゴ赤に染まり、偏光顕微鏡で緑色複屈折する蛋白性物質であり、また電顕像では幅 8~15 nm の枝分かれのない細線維の集積である。さらにプロナーゼ処理により細線維構造が消失する。<sup>28)</sup>

コンゴ赤染色標本のアミロイドが緑の偏光色を示すのは、アミロイド線維が逆平行  $\beta$ -板状構造でこの線維にコンゴ赤の色素分子が長軸に平行に規則的に配列していることによると考えられている。この  $\beta$ -板状構造とは、X線回折

から約 100 nm の周期でねじれている二重のつまき状であり、その断面は 4×4 nm で厚さ約 0.5 nm のブロック板を積み重ねたような構造である。<sup>29), 30)</sup>

1947年に Lichtenstein and Jaffe<sup>31)</sup> が多発性骨髄腫において関節アミロイド沈着の報告をして以来、原発性アミロイド症<sup>32)</sup> のほかに慢性関節リウマチにも関節にアミロイドを認める報告がある。<sup>33), 34)</sup> 1972年に Christensen and Sphrensen<sup>35)</sup> が変形性股関節症の手術の際に摘出した関節包にアミロイド沈着を認めた。その後胸鎖関節、<sup>36)</sup> 膝関節<sup>37), 38)</sup> にも見られることが報告されている。

椎間板のアミロイド沈着は、Bywaters and Dorling<sup>32)</sup> が1970年に多発性骨髄腫において最初に報告している。最近、椎間板ヘルニアの摘出組織のアミロイド沈着についての研究がなされ、50歳以上の患者にそれ以下の年代の患者よりも有意に多くアミロイド沈着が発見されとの報告がある。<sup>39)~41)</sup> 椎間板におけるアミロイド沈着の分布は、髄核および線維輪の両方に認められる。線維輪では、膠原線維束の間に索状に (Fig. 3a, b), また髄核では、軟骨細胞周囲に認めることが多い (Fig. 4a, b)。

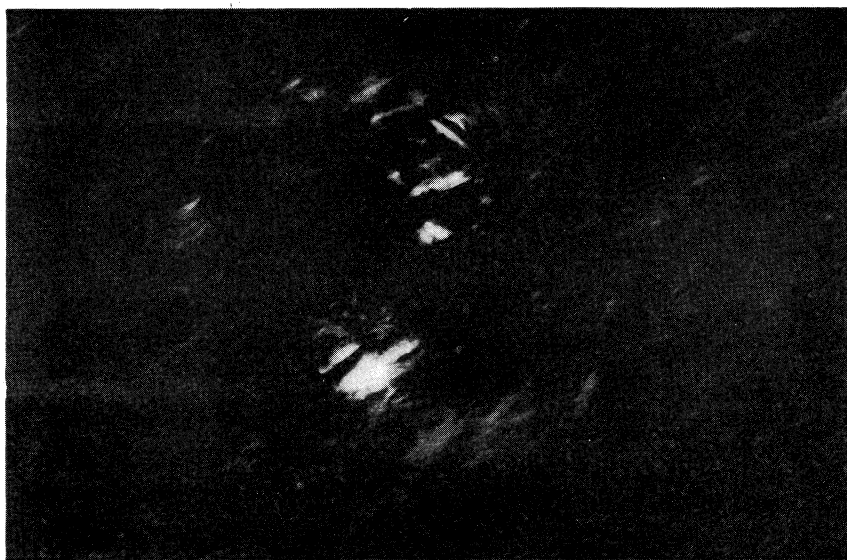
椎間板の加齢に伴う変化として、髄核においては軟骨細胞の合胞化および胞体不明瞭化が起こり、基質が不均等となり、顆粒状の崩壊巣などが見られる。また線維輪には線維構造の粗大化、断裂および亀裂形成が起こりさらに血管侵入が見られる (Fig. 5a, b, c, d)。

このような変化は、アミロイド沈着例にも同様に見られ、アミロイドの有無による差は認められない。

椎間板ヘルニアの突出度によって有意な差は認められなかったが、脱出遊離型で5例中4例 (80%) と高率にアミロイド沈着が認められた。Ladefoged ら<sup>39), 40)</sup> によれば椎間板ヘルニアの好発年齢は 30~50 歳であるが、アミロイド沈着は年齢と共に増加している。また、腰痛のない剖検例においても高率にアミロイド沈着が認められるので、アミロイドと椎間板ヘルニアと



**Fig. 3-a.** Amyloid in loose fibrillary substance of the annulus fibrosus. (Alkaline Congo red stain,  $\times 200$ )



**Fig. 3-b.** Same specimen in polarized light.

の病因的關係はないと考えている。

Shimizuら<sup>10)</sup>による老化促進モデルマウスのアミロイド沈着は、頸椎～上位胸椎で高率に見られ、下位胸椎～腰椎に下がるにしたがって低率となると報告されている。しかし、本研究におけるようにヒトの頸椎と腰椎ではアミロイド沈着に差は認められず、マウスの結果とは異な

りヒトの場合椎間板レベルによるアミロイド沈着の差はないのではないかと考えられる。

椎間板アミロイドは、過マンガン酸カリウム処理に抵抗性でアミロイドA蛋白の前駆蛋白である serum amyloid A protein (SAA) 抗血清を使用した PAP 法で反応陰性であり、アミロイドA蛋白以外のタイプと判定した。さら

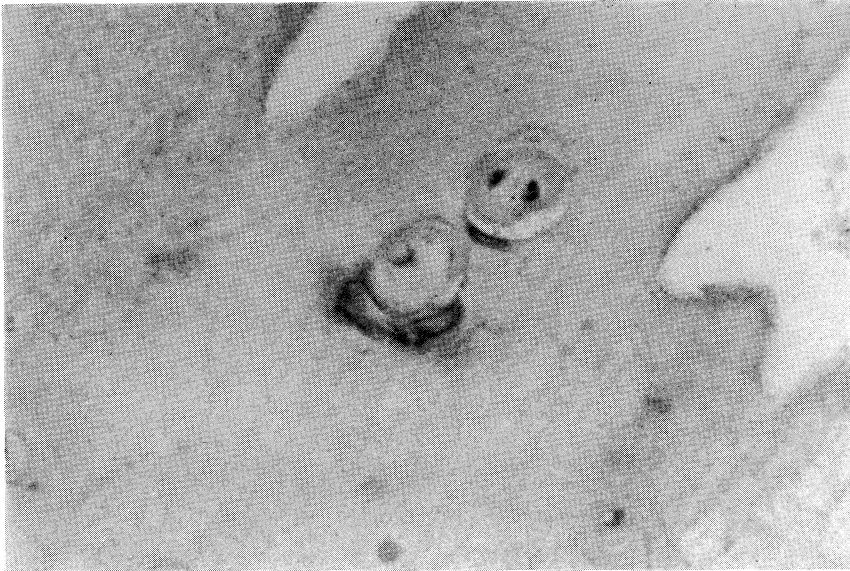


Fig. 4-a. Amyloid substance often in close proximity to chondrocytes in nucleus pulposus. (Alkaline Congo red stain,  $\times 200$ )

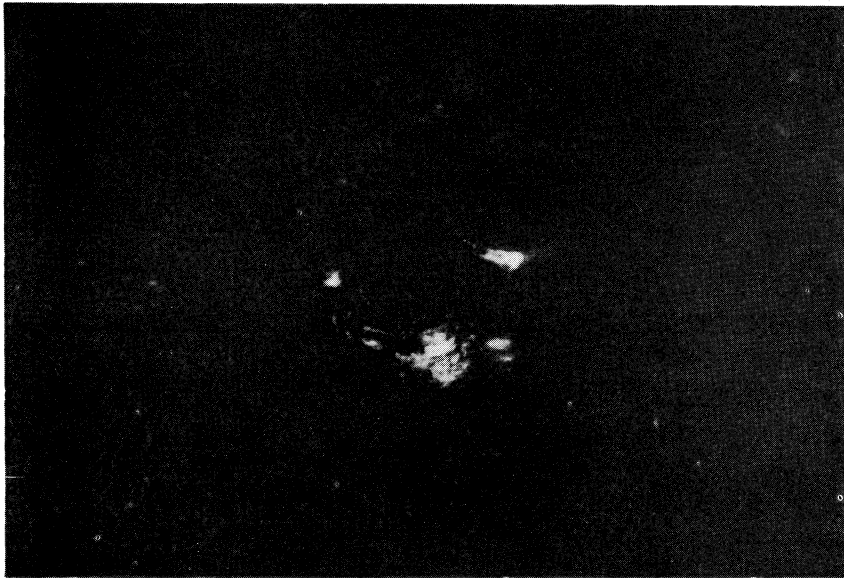


Fig. 4-b. Same specimen in polarized light.

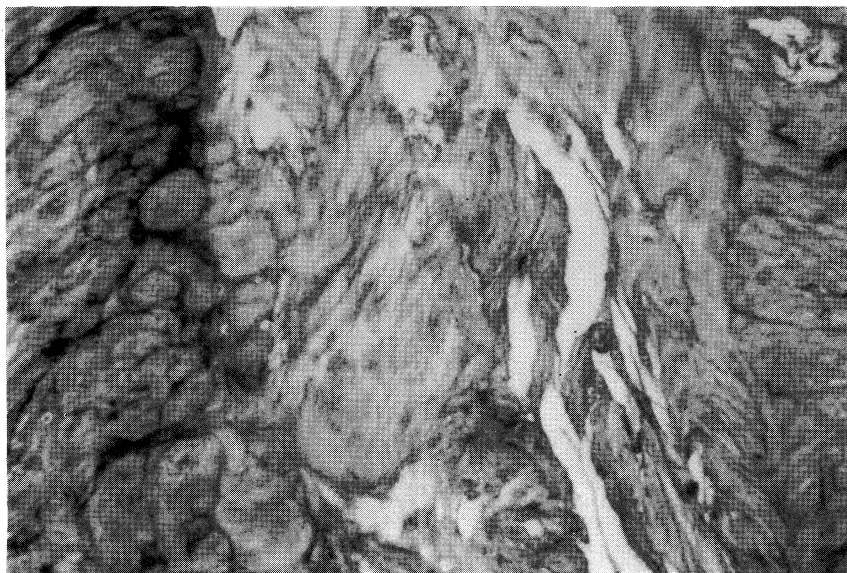
に $\lambda$ 鎖,  $\kappa$ 鎖に対する抗血清を用いても反応せず, また, 抗 IgA, 抗 IgG, 抗 IgM 血清に対する反応も陰性であった. プレアルブミン, ケラチン, P-component に対しても反応陰性であった. 現在までに研究されているアミロイド蛋白とその前駆蛋白を **Table 4** に示す. 最

近, 長期透析患者の手根管症候群における腱, 滑膜・腱鞘のアミロイド沈着は  $\beta_2$ -ミクログロブリンが前駆蛋白であることが判明しているが,<sup>42)</sup> その  $\beta_2$ -ミクログロブリンを使用した PAP 法でも椎間板アミロイドは反応陰性で, まったく新しいタイプのアミロイドと考えら

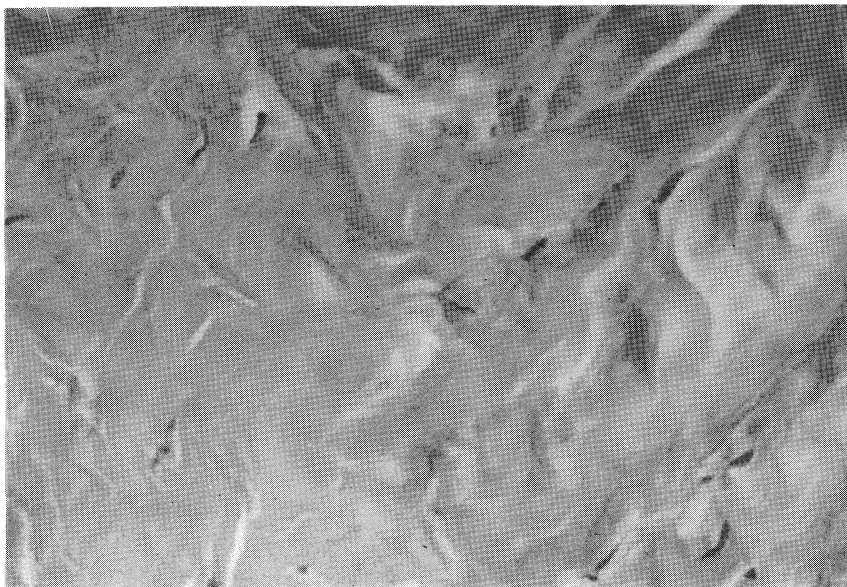
れる。

Shimizu ら<sup>10)</sup> は老化促進モデルマウスにおいて全身性に血管にアミロイドが認められるにもかかわらず、椎間板線維輪のアミロイド沈着部における血管の欠乏を報告している。椎間板は、胎生期には周囲から線維輪内にも血管が入

り込んでいるが、少なくとも8歳頃までには椎間板中に血管は全く見られなくなる。<sup>11)</sup> しかし Coventry ら<sup>12)</sup> は、加齢的变化の一所見として30歳代に線維輪に、60歳代に髄核内に血管を認めている。本研究におけるアミロイド沈着例においても血管侵入を認めたが、アミロイド沈着



a



b

**Fig. 5.** Histopathological micrograph showing intervertebral disc.

**5-a, b.** Fibrillary structure of annulus fibrosus has been disrupted and numerous clefs were formed.

(a: Toluidin blue stain,  $\times 200$  b: H-E stain,  $\times 200$ )

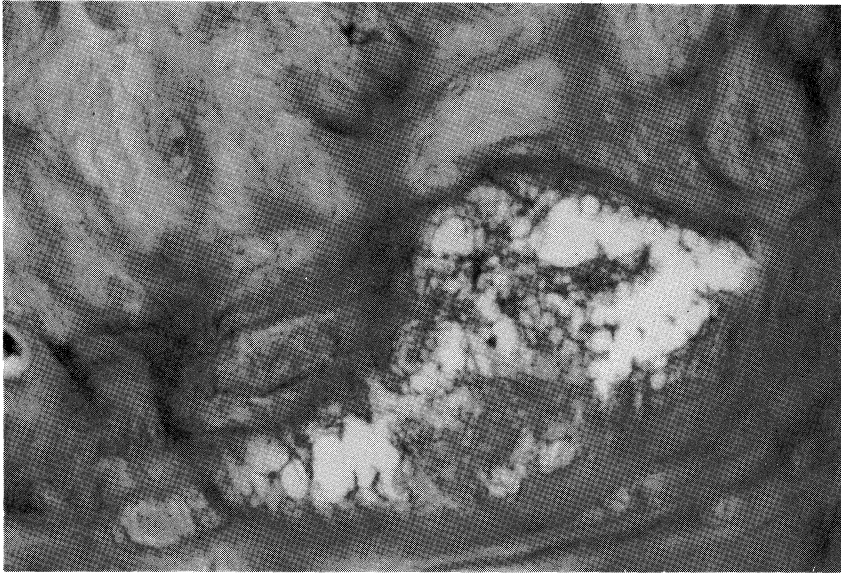


Fig. 5-c. Granular disintegration. (Toluidin blue stain,  $\times 200$ )



Fig. 5-d. A few chondrocytes clustered to form a syncytium.  
(Toluidin blue stain,  $\times 400$ )

は血管周囲には観察していない。したがって加齢により血管侵入が存在しても他で作られたアミロイドが血流を介して椎間板に運ばれ沈着するとは考え難いが、前駆物質が椎間板に運ばれそこでアミロイドが形成される可能性は否定できない。Ladefoged<sup>40)</sup>は、椎間板アミロイド

形成機序に P-component の関与を推測している。しかし、関節軟骨においては P-component の存在は証明されているが、<sup>45)</sup>今のところ椎間板においては証明されておらず、本研究においても PAP 法では椎間板のアミロイドは、P-component に対して反応陰性であった。

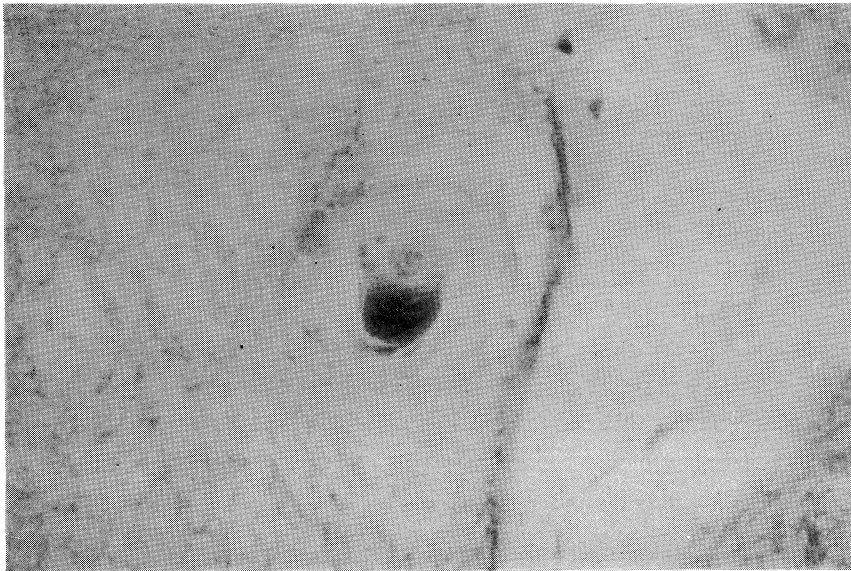


**Table 4.** Clinicopathologic correlation in amyloidosis according to types of amyloid protein.  
(Cohen, A. S. and Wegelius, O.: Arthritis and Rheumatism 23: 644, 1980 より改変)

臨床分類		主要蛋白	前駆蛋白
原発性アミロイドーシス		AL	免疫グロブリンL鎖( $\lambda$ )
多発性骨髄腫に伴うアミロイドーシス		AL	免疫グロブリンL鎖( $\kappa$ )
続発性アミロイドーシス		AA	リポ蛋白 HDL3, apoSAA, SAA
家族性アミロイドーシス	家族性地中海熱	AA	HDL3, SAA
	家族性ニューロパチー	AFp	プレアルブミン
		AFj	プレアルブミン
老人性アミロイドーシス	心アミロイド	ASc	プレアルブミン
	脳アミロイド	ASb	プレアルブミン
内分泌性アミロイドーシス	甲状腺髄様癌	AEt	カルシトニン
	膵ラ島腺腫	AEi	インシュリン
	脳下垂体腺腫	AE	成長ホルモン, プロラクチン
皮膚アミロイドーシス		AD	ケラチン

Figure 6 a, b に見られるように胞体内にアミロイド沈着が、また細胞の周囲に amyloid corona を認め、あたかも軟骨細胞がアミロイドを産生したと思われるような像を観察した。Ladefoged<sup>43), 44)</sup> も軟骨細胞がアミロイド沈着の何らかの要因のひとつではないかと推測している。

一方関節軟骨のアミロイドについては、Mitrovic ら<sup>37)</sup> は、膝、股関節を観察しアミロイドが関節軟骨の表層に良く沈着しており、軟骨細胞の周囲や間隙にはまれにアミロイドを認めるが、細胞内には認められないことを観察している。このことから可溶性前駆物質が滑膜より滑液に分泌され、これが関節軟骨で留まり、そこ



**Fig. 6-a.** Amyloid substance was also noted the cytoplasm of the chondrocytic cells. (Alkaline Congo red stain,  $\times 400$ )

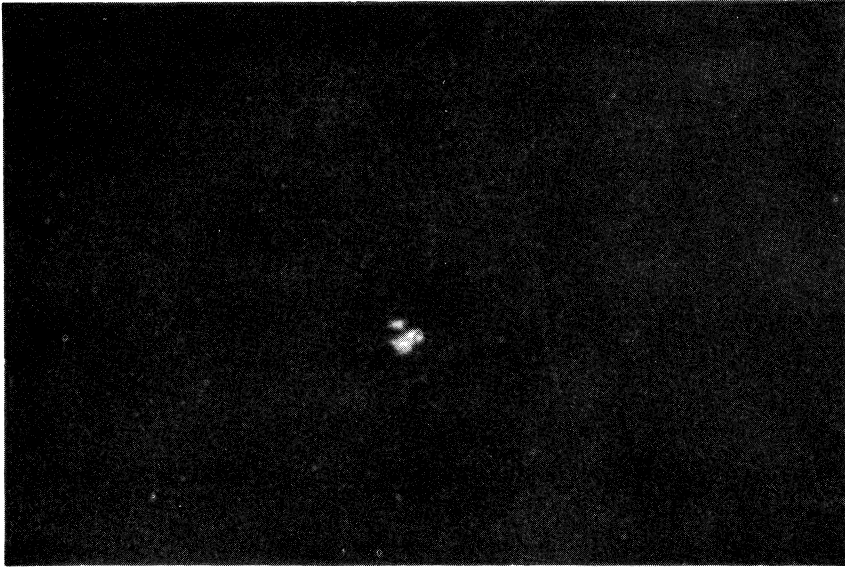


Fig. 6-b. Same specimen in polarized light.

で何らかの機序で不溶性アミロイド細線維に変換されるという仮説を立てている。

内野<sup>2)</sup>によれば、老化に伴う微量アミロイド沈着の発生の機序を次のように推測している。それぞれの臓器の構成細胞の代謝過程で壮年期までは完全に処理されていた代謝産物が老化による酵素系の異常で、完全に処理されないか、あるいは壮年期までは合成されない異常蛋白が産生されて、正常の酵素系では処理できないか、いずれかまたは両方により中間産物で留まり $\beta$ -板状構造として蓄積した蛋白ではないかと推察している。

本研究の椎間板アミロイド沈着の観察から、著者は、関節軟骨アミロイドの場合と比べて椎間板ではアミロイド形成の機序が違うものと推測している。すなわちアミロイド蛋白が椎間板に運ばれて沈着するのではなく、内野が考えるように加齢による酵素系の異常などにより椎間板内で産生されると考える。

## V. 結 語

1) ヒト椎間板におけるアミロイド沈着は加齢にしたがって高率に認められ、50歳以上に有意に多かった。性差は認められなかった。

2) 椎間板ヘルニアの膨隆型と脱出型による差は認められなかったが、脱出遊離型で高率にアミロイド沈着を認めた。また、頸椎と腰椎の部位による差も認められなかった。

3) 椎間板アミロイドは、今までに解っているアミロイド蛋白のいずれでもなく新しいタイプのものである。このアミロイドの産生の機序は不明であるが、軟骨細胞の関与が示唆される。

稿を終るにあたり御指導を賜り、御校閲をいただきました川崎医科大学整形外科 渡辺良教授に深く感謝いたします。また、御助言をいただいた川崎医科大学人体病理学 中川定明名誉教授、真鍋俊明助教授、さらに、技術的援助をいただいた川崎医科大学組織電子顕微鏡センター 吉田陽子、若林かずみ両氏、ならびに川崎医科大学整形外科教室 秋山直美研究補助員に感謝いたします。

本論文の要旨は、昭和62年7月第19回日本結合織学会において発表した。

## 文 献

- 1) Wright, J. R., Clalkins, E., Breen, W. J., Stolte, G. and Schultz, R. T.: Relationship of amyloid to aging : Review of the literature and systemic study of 83 patients derived

- from a general hospital population. *Medicine* 48: 39—60, 1969
- 2) 内野文弥: 剖検より高齢者のアミロイド沈着とその特徴(微量アミロイド沈着について). *日老医誌* 19: 338—343, 1982
  - 3) 長沢孝明: 高齢者における微量アミロイドの沈着とその意義. *山口医学* 32: 253—241, 1983
  - 4) Fujihara, S.: Differentiation of amyloid fibril proteins in tissue sections. *Acta Pathol. Jpn.* 32: 771—782, 1982
  - 5) Storkel, S., Bohl, J. and Schneider, H. M.: Senile amyloid: Principles of localization in a heterogeneous form of amyloidosis. *Virchows Arch. (Pathol. Anat.)* 44: 145—161, 1983
  - 6) Ishii, T., Hosoda, Y., Ikegami, N. and Simada, H.: Senile amyloid deposition. *J. Pathol.* 139: 1—22, 1981
  - 7) Cornwell, III. G. G., Westermark, P., Murdoch, W. and Pitkanen, P.: Senile aortic amyloid: A third distinctive type of age-related cardiovascular amyloid. *Am. J. Pathol.* 108: 135—139, 1982
  - 8) Pitkanen, P., Westermark, P., Cornwall, G. G. and Murdoch, W.: Amyloid of the seminal vesicles. *Am. J. Pathol.* 110: 64—69, 1983
  - 9) Goldman, H.: Amyloid of seminal vesicles and vas deferens. *Arch. Pathol.* 75: 94—98, 1963
  - 10) Shimizu, K., Ishii, M., Yamamuro, T., Takeshita, S., Hosokawa, M. and Takeda, T.: Amyloid deposition in intervertebral discs of senescence-accelerated mouse. *Arthritis Rheum.* 25: 710—712, 1982
  - 11) Coventry, M. B., Ghormley, R. K. and Kernohan, J. W.: The intervertebral: Its microscopic anatomy and pathology. Part 1. anatomy, development and physiology. *J. Bone Joint Surg.* 27: 105—112, 1945
  - 12) Coventry, M. B., Ghormley, R. K. and Kernohan, J. W.: The intervertebral: Its microscopic anatomy and pathology. Part 2. changes in the intervertebral disc concomitant with age. *J. Bone Joint Surg.* 27: 233—247, 1945
  - 13) Gomibuchi, R.: Electron microscope studies on the fine structure of the intervertebral disc, with special reference to intervertebral disc herniation. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi* 37: 1027—1041, 1964
  - 14) 石川正士: 腰部椎間板ヘルニアの研究. 一特にその病理学的検討一. *千葉医学* 38: 1—27, 1948
  - 15) 谷口博美: 腰仙椎部椎間板ヘルニアの病理解剖所見について. *奈医誌* 34: 397—415, 1983
  - 16) 安間嗣郎, 牧野聖聖, 齊藤 脩, 乾 道夫: 腰椎椎間板ヘルニアの臨床病理学的研究.  
—第1報: 椎間板の加齢的变化(付. シュモール結節). *整・災外* 29: 1565—1578, 1986  
—第2報: 椎間板ヘルニアの組織発生. *整・災外* 29: 1677—1687, 1986  
—第3報: 手術材料と臨床所見との対比. *整・災外* 29: 1817—1826, 1986
  - 17) 東 良輝: 人頸椎椎間板組織の電子顕微鏡学的研究. *日整会誌* 52: 245—259, 1978
  - 18) Naylor, A.: The biophysical and biochemical aspects of intervertebral disc herniation and degeneration. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* 31: 91—114, 1962
  - 19) Happey, F., Pearson, C. H., Naylor, A. and Turner, R. L.: The ageing of the human intervertebral disc. *Gerontology* 15: 174—188, 1969
  - 20) 暈雅太郎: 人腰部椎間板酸性ムコ多糖の加齢変化に関する生化学的研究. *日整会誌* 52: 625—639, 1978
  - 21) Sedowofia, K. A., Tomlinsin, I. W., Weiss, J. B., Hilton, R. C. and Jayson, M. I. V.: Collagenolytic enzyme systems in human intervertebral disc. *Spine* 7: 213—222, 1982
  - 22) Kitahara, H.: Histochemical study of the human intervertebral disc. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi* 53: 817—830, 1979
  - 23) 内野文弥, 山下 勝, 村上喜信: アミロイドの染色法. *検査と技術* 8: 231—235, 1980
  - 24) 横田忠明, 山下 勝, 内野文弥: アミロイドの染色法. *検査と技術* 14: 791—795, 1986

- 25) 柳原 誠, 加藤文明, 渡辺久代: ダイロン染色. 検査と技術 14: 337—340, 1986
- 26) Wright, J. R., Calkins, E. and Humphrey, R. L.: Potassium permanganate reaction in amyloidosis a histologic method to assist in differentiating forms of this disease. Lab. Invest. 36: 274—281, 1977
- 27) Fujihara, S., Balow, J. E., Costa, J. C. and Glenner, G. G.: Identification and classification of amyloid in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections by the unlabeled immunoperoxidase method. Lab. Invest. 43: 358—365, 1980
- 28) Glenner, G. G.:  $\beta$ -pleated sheathed fibrils.: A comparison of amyloid with synthetic protein fibril. J. Histochem. Cytochem. 22: 1141—1158, 1974
- 29) Cooper, J. H.: Selective amyloid staining as a function of amyloid composition and structure. Lab. Invest. 31: 232—238, 1974
- 30) Glenner, G. G.: Amyloid deposits and amyloidosis. N. Engl. J. Med. 302: 1283—1292, 1980
- 31) Lichtenstein, L. and Jaffe, H. L.: Multiple myeloma: A survey based on thirty-five cases, eighteen of which came to autopsy. Arch. Pathol. Lab. Med. 44: 207—246, 1947
- 32) Bywaters, E. G. L. and Dorling, J.: Amyloid deposits in articular cartilage. Ann. rheum. Dis. 29: 294—306, 1970
- 33) Wiernik, P. H.: Amyloid joint disease. Medicine 51: 465—479, 1972
- 34) Leine, V., Vainio, K. and Ritama, V. V.: Occurrence of amyloid in rheumatoid arthritis. Acta Rheum. Scand. 1: 43—46, 1955
- 35) Christensen, H. E. and Sørensen, K. H.: Local amyloid formation of capsula fibrosa in arthrosis coxae. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. (Suppl.) 233: 128—131, 1972
- 36) Uchino, F., Nakamura, H., Kamei, T. and Nagasawa, T.: Amyloid-like substances in cartilage of the sterno-clavicular joint. In Amyloid & Amyloidosis, eds. by Glenner, G. G. et al. Amsterdam, Excerpta Medica. 1980, pp. 55—59
- 37) Mitrovic, D. R., Stankovic, A., Quintero, M. and Ryckewaert, A.: Amyloid deposits in human knee and hip joint. Rheumatol. Int. 5: 83—89, 1985
- 38) Ladefoged, C.: Amyloid deposits in the knee joint at autopsy. Ann. rheum. Dis. 45: 668—672, 1986
- 39) Ladefoged, C.: Amyloid in intervertebral discs.: A histopathological investigation of intervertebral discs from 30 randomly selected autopsies. Appl. Pathol. 3: 96—104, 1985
- 40) Ladefoged, C., Fedders, O. and Petersen, O. F.: Amyloid in intervertebral discs: A histopathological investigation of surgical material from 100 consecutive operation on herniated discs. Ann. rheum. Dis. 45: 239—243, 1986
- 41) Takeda, T., Sanada, H., Ishii, M., Matsushita, M., Yamamuro, T., Shimizu, K. and Hosokawa, M.: Age-associated amyloid deposition in surgically removed herniated intervertebral discs. Arthritis Rheum. 27: 1063—1065, 1984
- 42) Gejyo, F., Yamada, T., Odani, S., Nakagawa, Y., Arakawa, M., Kunitomo, T., Kataoka, H., Suzuki, M., Hirasawa, Y., Shirahama, T., Cohen, A. S. and Schmid, K.: A new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis was identified as  $\beta_2$ -microglobulin. Biochem. biophys. Res. Commun. 129: 701—706, 1985
- 43) Teglbjærg, P. S., Ladefoged, C., Sørensen, K. H. and Christensen, H. E.: Local articular amyloid deposition in pyrophosphate arthritis. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. [A] 87: 307—311, 1979
- 44) Ladefoged, C.: Amyloid deposits in human hip joints. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. [A] 90: 5—10, 1982
- 45) Bartly, C. J.: Amyloid in ageing articular cartilage. J. Pathol. 145: 107A, 1985