— 原 著 —

アルコール性肝疾患におけるコラーゲン (I, III, IV型), フィブロネクチン, 活性型血液凝固第XIII因子, 第VIII因子 関連抗原の局在に関する免疫組織化学的研究

嶋崎 譲・原 文男

日本医科大学内科学第1教室

Immunohistochemical study of the distribution of collagens (type I, III, IV), fibronectin, factor XIIIa and factor VIII related antigen in alcoholic liver disease

Yuzuru Shimazaki and Fumio Hara

The First Department of Internal Medicine, Nippon Medical School

Histopathological changes in alcoholic liver disease are characterized by Mallory body, fatty liver, and peculiar fibrosis such as pericentral fibrosis, pericellular fibrosis, stellate fibrosis originating from Glisson's sheath, and swelling of the liver cells. However, the mechanism of fibrosis remains unknown.

The author tried to demonstrate, by the immunohistochemical method, fibronectin (FN), collagen type I, III, IV (IC, IIC, IVC), factor XIIIa, and factor VIII related antigen (VIII RAg), all of which are related to the process of wound healing, in order to clarify the mechanism of fibrosis in alcoholic liver disease.

With the progress of fibrosis, FN was demonstrated in the sinusoidal wall, as well as the portal areas and around the central veins. IC and IIC were positive in the fibrotic area extending into the lobules and pericellular fibrosis. IVC was similar to FN and was positive in the sinusoidal wall. Scattered XIIIa positivity was recognized in the fibrotic areas, especially in the foci of active fibrosis. VIII RAg was positive in the capillary vessels invading the lobules through the limiting plates. The distribution of these proteins in the fibrotic area in alcoholic liver disease closely resembled that in the wound healing process.

It is concluded that fibrosis occurring in the periportal area is essentially the same as in the wound healing process and the mechanism of fibrosis in alcoholic liver disease is thought to be active fibroplasia.

Key words: collagen, fibronectin, factor XIIIa, wound healing, active fibroplasia

緒 言

近年, 日常生活とりわけ食生活の欧米化とともに昭和30年頃よりアルコール消費の著明な増加がみられ¹⁾, それとともにアルコールに起因する肝疾患, 脾疾患, 心疾患の増加が指摘されるようになった^{2,3)}. なかでも肝障害の増加は特に著しく, 肝疾患全体の14%を占めるに至ってきている³⁾. 本邦においては, 従来B型

肝炎が蔓延していたため, 研究者の目はB型肝炎に注がれていたが, アルコール性肝障害の増加に伴いその成因, 診断, 治療に関する報告が数多くなされるようになってきている⁴⁻⁶⁾. アルコール性肝障害は脂肪肝, アルコール性肝炎, アルコール性肝線維症, アルコール性肝硬変に大別されるが, いずれも組織学的に共通な特徴的所見を呈する. すなわち, 特徴的な線維化として, 1) 中心静脈周囲性線維化, 2) グリソン鞘の線維性拡大, 3) 実質域へ向かう不規則で方向性のない細線維束の伸展による限界板の不鮮明化, 4) 肝細胞周囲性線維化があり, これらによる小葉構造の乱れと肝細胞の膨化である^{7,8)}. 線維化の機序について, 従来アル

Correspondence to Yuzuru Shimazaki, Department of Internal Medicine, Nippon Medical School Second Hospital, 1-396 Kosugi-cho, Nakahara-ku, Kawasaki 211, Japan

コール性肝炎を経て線維化が生ずると考えられていたが, Popper ら⁹⁾は, baboon におけるアルコール性肝障害の実験において肝細胞の炎症・壊死を経ずに線維化が起こり, 肝硬変に進展する過程を明らかにしている。本邦でも種々の研究から線維が積極的に増殖し線維化が起こるとする active fibroplasia^{10,11)}の考え方が一般的であるが, なお詳細な過程については解明されるべき問題が残っている。

著者は, フィブロネクチン, 活性型血液凝固第 XIII 因子, I 型およびIII型コラーゲンなどの線維関連蛋白に対する抗体を用いた免疫組織化学的な観点から, アルコール性肝障害, 特にその特徴とされる線維化につき検討し, 他のウイルス性肝炎による線維化と比較検討し両者に特徴的な差がみられるかどうかについて研究を行った。

研究対象と方法

(1) 対象

対象とした症例は, 過去 10 年間に日本医科大学第二病院内科で臨床的にアルコール性肝疾患と診断され, 肝生検にてアルコール性肝線維症およびアルコール性肝硬変と確認された 30 例 (男性 28 例, 女性 2 例, 年齢: 27~57 歳, 平均 44±8 歳) を用いた。診断は「アルコールと肝研究班」によるアルコール性肝障害の診断基準 (1986 年改訂版) にしたがって行った。アルコール性肝疾患の対照として, 犬山分類の診断基準を満たしたウイルス性慢性肝炎 13 例 (活動型 7 例, 非活動型 6 例) ならびに急性肝炎 6 例を用いた。病理組織学的に正常と診断された症例 3 例を正常対照として用いた。

(2) 方法

すべて肝針生検より得られた肝組織をホルマリン固定, 型のごとくパラフィン包埋し, 3 μ と 8 μ (鍍銀染色用) の薄切切片を作成し, 病理組織学的検索および免疫組織化学的検索に用いた。

一般染色として HE 染色, PAS 染色, Masson-Trichrome 染色, 鍍銀染色, オルセイン染色, 鉄染色 (ペルリンブルー染色) を施し, 光学顕微鏡にて観察した。

免疫組織化学的観察の方法には酵素抗体法の Abidin-Biotin-Peroxidase Complex 法 (以下 ABC 法と略す) を用いた。薄切までの過程は通常の光顕標本に準じ, 前処置として 0.3% 過酸化水素メタノール液 30 分と, 0.05% プロテアーゼ 15 分をそれぞれ行った。

線維関連蛋白として, フィブロネクチン (以下 FN と略す) 活性型血液凝固第 XIII 因子 (以下, XIIIa 因子と略す), I 型およびIII型コラーゲンに対する抗体を使用した。また, 基底膜の主成分としてのIV型コラーゲンおよび血管内皮細胞のマーカーとしてのVIII因子関連抗原についても検討した。

(3) 使用した抗体

1) 抗 FN 抗体 (抗人フィブロネクチンウサギ抗体) —ヘキスト社製

2) 抗 XIIIa 因子抗体 (抗人 XIIIa 因子ウサギ抗体) —ヘキスト社製

3) 抗VIII因子関連抗原抗体 (抗人VIII因子関連抗原ウサギ抗体) —DAKO 製

4) 抗 I 型コラーゲン抗体 (抗人 I 型コラーゲンウサギ抗体) —MBL 製

5) 抗III型コラーゲン抗体 (抗人III型コラーゲンマウス抗体, 和歌山県立医科大学大島 章先生の提供による)

6) 抗IV型コラーゲン抗体 (抗人IV型コラーゲンウサギ抗体, 国立癌センター中島 孝先生の提供による)

ビオチン化第二抗体 (ポリクローナル抗体にはビオチン化ヤギ抗ウサギ IgG 抗体, モノクローナル抗体にはビオチン化ウマ抗マウス IgG 抗体) および ABC complex は Vectastain ABCkit (Vector 社) を使用した。なお, 陰性コントロールは, 第一抗体の省略による方法で確認した。

成 績

1. 正常肝組織

I 型およびIII型コラーゲンはグリソン鞘 (以下グ鞘と略) の線維組織に陽性像が得られた (Photo 1, 2)。中心静脈の周囲の結合組織にもわずかに陽性像がみられた (Photo 3, 4)。両者の陽性部位に相違はみられなかったが, III型コラーゲンがより明瞭に染色された。類洞壁ではIII型コラーゲンが一部陽性であったが, I 型コラーゲンは陰性であった。FN, IV型コラーゲンはグ鞘内血管基底膜, 中心静脈基底膜に一致して陽性所見が得られ, FN については一部のグ鞘の線維組織や類洞壁に明らかな陽性像が認められ (Photo 5), IV型コラーゲンは類洞のごく一部 (主としてグ鞘の近傍) がわずかに染まった。XIIIa 因子はグ鞘の線維組織にわずかな顆粒状の陽性像をみるのみであった。VIII因子関連抗原はグ鞘内の小動脈, 門脈および中心静脈壁で陽性であったが, 類洞壁は陰性であった。

2. 急性肝炎

グ翰の線維組織はⅠ型コラーゲンおよびⅢ型コラーゲンで染色され、半数の症例ではⅢ型コラーゲンが類洞壁および spotty necrosis の部分において陽性像がみられた。FN はグ翰内血管壁、線維組織、類洞壁とともに spotty necrosis の部に一致して陽性像が認められた。XIIIa 因子はグ翰の一部に陽性像をみるのみであった。

3. 慢性肝炎

1) 非活動型：免疫組織化学的には、拡大したグ翰内線維組織、類洞壁に一致して FN、Ⅲ型コラーゲンおよびⅠ型コラーゲンの陽性像を認めたが、Ⅷ因子関連抗原、Ⅳ型コラーゲンはグ翰内の血管壁および中心静脈壁のみが陽性で、正常肝組織との間に相違を認めなかった。XIIIa 因子は拡大したグ翰内の線維芽細胞、マクロファージに凝集像、または顆粒状の陽性像として認められた (Photo 6)。

2) 活動型：免疫組織化学的には、FN、Ⅰ型およびⅢ型コラーゲンは拡大したグ翰とグ翰より伸展する線維に一致して線維性に染色された (Photo 7, 8)。XIIIa 因子はグ翰の線維組織内に粗大な凝集像として、またグ翰辺縁部の線維芽細胞、マクロファージにも陽性像がみられた (Photo 9)。FN は類洞壁の陽性像とともに一部 piecemeal necrosis の部に一致して淡い陽性像を認めた (Photo 10)。Ⅷ因子関連抗原は、グ翰内小動脈、門脈、中心静脈壁に陽性像がみられたが、piecemeal necrosis を伴う限界板の一部にⅧ因子関連抗原陽性の毛細血管の侵入像が認められた (Photo 11)。Ⅳ型コラーゲンは脈管基底膜、類洞壁および piecemeal necrosis の一部に陽性像を示した。

4. アルコール性肝疾患

通常の光顕所見では、アルコール性肝硬変を除いてアルコール性肝病変では小葉構造は基本的に保たれているが、著明な肝細胞の膨化と細胞質の凝集傾向がほぼ全例に認められた。一部の細胞質内には、線維状の凝集塊をみるがあったが、明らかな Mallory 小体は認められなかった。グ翰は軽度拡大し、リンパ球を中心とした軽度の細胞浸潤を認めた。Masson 染色および鍍銀染色では、アルコール性肝病変の特徴的所見とされるグ翰より星状に伸びる線維化 (stellate fibrosis) および肝細胞周囲性線維化 (pericellular fibrosis) (Photo 12) が観察され、また中心静脈周囲

線維化 (pericentral fibrosis) も HE 染色で線維化が確認できる中等度以上の病変を有するグループではしばしば認められた。Ⅰ型およびⅢ型コラーゲンはグ翰および中心静脈周囲の線維組織より伸展する微細な線維組織に陽性像 (Photo 13) が得られた。類洞壁にも陽性像が得られたが、線維化の進展とともに陽性像は拡大しアルコール性肝障害に特徴的な肝細胞周囲性線維化部に一致して陽性像 (Photo 14) が認められた。高度のアルコール性肝障害では、porto-portal および porto-centra 結合を含む広範な線維化に一致して陽性像 (Photo 15) が得られた。全体的に、重症度が増すにしたがって肝小葉内の陽性像は拡大する傾向を示した。FN はグ翰の線維組織、脈管基底膜、中心静脈基底膜と類洞が全域にわたり陽性であった。特に、線維化の進展している領域および小葉内の線維化巣には強いびまん性の陽性像 (Photo 16) がみられる傾向にあった。Ⅳ型コラーゲンは脈管基底膜と類洞壁に陽性所見 (Photo 17) が得られ、疾患の進行とともに拡大する傾向がみられた。XIIIa 因子は線維化に一致した粗大顆粒状の陽性像とグ翰のマクロファージおよび線維芽細胞に陽性所見 (Photo 18) をみるとともに、アルコール性肝硬変を含む中等度以上の群では類洞内の星細胞と思われる細胞にも陽性像が認められた。Ⅷ因子関連抗原はグ翰の脈管および中心静脈壁とともにグ翰より小葉内に伸展する線維束内の毛細血管に陽性像 (Photo 19) を認めた。

考 察

肝臓は組織学的に実質である肝細胞と間質のグリソン氏翰から構成されている肝小葉という単位の集合として理解することができる。このように肝はある意味できわめて単純な組織で、したがって種々の肝病変、特に肝炎と呼ばれる病変を鑑別し、その特異的な変化をみいだすことには、かなりの困難を伴う。本邦では、ウイルス性肝炎、特に B 型肝炎が注目されてきたが、アルコールによる肝障害が増加するとともに、その成因、診断、治療に関する報告が数多くなされるようになってきている。

アルコール性肝障害の組織診断について、本邦では、打越^{7a)}により特徴的な線維化の形態、すなわち中心静脈性線維化、肝細胞周囲性線維化、グリソン翰から星状に伸びる線維化とともに限界板の不鮮明化、肝細胞の腫大が指摘されている。実際、著者の今回の検索でもアルコール多飲者の肝病変には、脂肪肝やアル

コールに特徴的な線維化を伴った病変が確認された。今回、著者の線維関連蛋白を用いた免疫組織学的検索で、上記のごとくの結果を得たが、以下その各々について考察する。

1. フィブロネクチン (FN) について

フィブロネクチン (FN) は 1948 年 Morrison ら¹²⁾によってヒト血液中に存在し低温で沈澱する糖タンパク質として発見されたもので、現在、細胞の形態保持や移動、分化、増殖、組織の修復、食作用の促進、癌化などの多彩な生物現象に関与していることが明らかにされている^{13,14)}。また、FN は特にコラーゲン合成の盛んな時期に出現するとされており、線維化の進展に重要な役割を演じていることが証明されている。

肝疾患においては、FN と線維化との関連に注目した報告が多くみられ^{15,16)}、いずれも肝の線維化巣に一致した局在を認めている。今回の結果では、疾患の如何を問わず、グザルの線維結合組織および脈管基底膜に一致して FN の陽性像が認められたが、さらにグザルから伸展する線維化組織、小葉内線維化組織および piecemeal necrosis 部に一致して淡い陽性所見も認められた。しかし、アルコール性肝病変とウイルス性慢性肝炎においては、本質的な相違をみだせなかった。FN の多彩な機能を考慮すると FN の局在が直ちに線維化の存在を示唆するものとはいえないが、XIIIa 因子や III 型コラーゲン、IV 型コラーゲンとはほぼ一致した局在を示したことは、FN の陽性所見が線維化および基底膜の存在を示すものであると解釈しても差し支えないものと考えられた。今回の結果では肝実質細胞では FN は陰性であった。したがって、FN の由来は血漿中もしくは星細胞などと考えられるが、今回の検索ではその由来を明確にすることはできなかった。市田ら¹⁷⁾は光顕ならびに電顕的観察でいずれも肝実質細胞に FN の局在を認めず、門脈域の線維芽細胞や Disse 腔内の伊東細胞に陽性所見が認められたことから、線維芽細胞や伊東細胞などの間葉系細胞にその由来をもとめることができる。さらに肝線維化巣から抽出された FN は血漿由来の FN とは生化学的にその性質が異なっていたと報告している。免疫学的には、鑑別できるものではないが FN の由来については、今後の検討が必要である。

2. XIIIa 因子について

フィブリン安定化因子として知られている血液凝固

第 XIII 因子は線維芽細胞の増殖にも関与し、線維化の初期の過程で重要な役割を果していることが明らかにされている^{18,19)}。FN とフィブリン、FN とコラーゲンとの結合に介在し、止血血栓や創傷治癒過程に深く関与している。肝を含む組織内での XIIIa 因子の免疫組織学的観察は少ないが、岩淵²⁰⁾は肝生検材料を用いて、XIIIa 因子を酵素抗体法により検索し、肝線維化巣の線維芽細胞、マクロファージおよび幼弱なコラーゲン線維に陽性像を認め、肝線維化進展の 1 つの指標となる可能性を報告している。今回の著者の検索でも、ウイルス性肝炎およびアルコール性肝病変の線維化の強い部位に一致して、顆粒状ならびに線維状の陽性像とともにマクロファージの細胞質にも陽性像が認められた。アルコール性肝障害の進行例では、類洞内の星細胞と思われる細胞に陽性像が得られたが、アルコール性肝硬変では、むしろ陽性像は全体に弱くなる傾向を示した。このような XIIIa 因子の陽性像は、活発な線維化の過程がその局所に起こっていることを示唆していると考えられる。

3. I 型コラーゲンおよび III 型コラーゲンについて

I 型コラーゲンおよび III 型コラーゲンは創傷治癒過程の中心的役割を果しており、線維化の本体そのものといえる。近年、コラーゲンはその生化学的性状から全部で 12 の亜型が区別されており²¹⁾、そのうち、I 型、III 型コラーゲンは、特に線維化の過程での推移が注目されている²²⁾。今回の検索で、アルコール性肝病変では、一般にグザルおよび中心静脈より小葉内に伸展する細かい線維ならびに肝細胞周囲性線維化部分に一致して III 型および I 型コラーゲンの陽性像がみられた。中等度以上の線維化を示すグループでは、中心静脈周辺の不規則に伸展する線維束にも III 型コラーゲンの陽性像が認められ、その陽性像もさらに明瞭となる傾向を示した。III 型コラーゲンは類洞壁にもびまん性の陽性像として認められた。これら I 型コラーゲンおよび III 型コラーゲンの証明は、コラーゲンが線維そのものであることを考えると当然のことであるが、線維化の過程を考えるうえでその存在は必須のものと思われる。したがって、I 型コラーゲンおよび III 型コラーゲンの陽性像はただちに線維化が生じていることを示しており、その分布はアルコール性肝病変での特徴的な線維化を裏づけるものと考えられる。

4. VIII 因子関連抗原について

VIII 因子関連抗原は血液凝固因子である第VIII因子の 3 つの subunit の 1 つに相当し、von-Willebrand factor とともに高分子部分を形成している²³⁾。この抗原は血管内皮細胞や巨核球で産生されることが証明され²⁴⁾、血管内皮細胞のマーカーとして用いられてきた²⁵⁾。臨床的には、各種肝疾患の血清で高値を示すことが報告されている^{26,27)}。その局在に関し、田口ら²⁸⁾はアルコール性肝障害では肝細胞周囲性線維化部に一致してVIII 因子関連抗原の陽性血管が認められ、類洞の毛細血管化と肝細胞周囲性線維化との間に密接な関連があると報告している。今回の検討でも、正常肝組織では、グ翰内の動脈および門脈、中心静脈壁にのみ陽性像が得られたのに対し、アルコール性肝障害および慢性肝炎活動型の症例ではかなりの症例で、グ翰より小葉内に伸展する線維束内の毛細血管にも陽性像がみられ、肝障害の程度によりその陽性像には違いが認められ、線維化の程度とVIII 因子関連抗原陽性の血管の出現頻度との間には関連があるように推測された。線維とともにグ翰より毛細血管が侵入し線維隔壁を形成していくものと考えられる。

5. IV 型コラーゲンについて

IV 型コラーゲンは基底膜の構成成分として、FN とともに最もよく研究されている蛋白の 1 つである。正常肝では、グ翰内血管、胆管および中心静脈の基底膜に証明されるが、肝類洞は通常の毛細血管とは異なり基底膜を欠くためほとんど存在しないとされてきた²⁹⁾。しかし、最近では不連続ながら正常でも認めるとする報告がある^{30,31)}。今回の検索では、正常肝では、上記組織の基底膜にのみ陽性所見が得られ、類洞壁はグ翰の近傍を除いて陰性であった。アルコール性肝障害および慢性肝炎の一部では、広範囲の類洞壁に陽性像が得られ、類洞壁における基底膜の変化を反映しているものと思われた。このような類洞壁の変化は、光顕ならびに電顕での観察から、capillarization として慢性肝障害、ことにアルコール性肝障害で高頻度に認められ、肝細胞障害に重要な役割を果たしていると報告されている^{32,33)}。

以上の免疫組織化学的所見を、創傷治癒にともなう線維化という観点から検討してみると、FN、XIIIa 因子、I 型コラーゲンおよびIII型コラーゲンはいずれも創傷治癒過程において不可欠な因子であり、これらがグ翰を中心として、ほぼ同一の部位に証明できたこと

Fig. 1 Schematic representation of periportal fibrosis.

は、グ翰を中心とした線維化は通常の創傷治癒過程における線維化とはほぼ同様の過程で起っていることを示唆している。このようなアルコール性肝病変における線維化のプロセスは、したがって Fig. 1 のごとく生じているものと考えられる。肝細胞の表面に付着しているか、または血液や間葉系細胞に由来する FN が、組織または細胞の傷害によって活性化された XIIIa 因子と結合し、XIIIa 因子がフィブリンの安定化、フィブリンと FN との結合、FN とコラーゲンとの結合などの役割を果たしながら線維化が進行していくものと考えられる。慢性肝炎活動型の一部でも、同様の所見がみられることから、これらの一連の変化がアルコール性肝病変に特異的なものとはいえないが、いずれにしても FN の出現に引き続いて線維化が起きていることは確実と考えられる。形態学的な面からみた肝線維化機転には passive fibroplasia と active fibroplasia がある³⁴⁾。前者は肝細胞が脱落することによって格子線維が収束していく condensation と呼ばれる機構で、後者は線維が積極的に増えていく neoformation と呼ばれる現象をいう³¹⁾。アルコール性肝病変では両者の混在が考えられるが、通常的光顕所見から明らかなように、慢性肝炎活動型で認められるような、激しいグ翰炎や実質である肝細胞の壊死脱落像などの線維化の引金となる所見に乏しく、アルコールの直接作用、あるいは飲酒時の代謝過程の変化によって線維化が惹起されると想定され線維化の主体は、active fibroplasia にあり、IV 型コラーゲンやVIII 因子関連抗原の局在から示唆される類洞の capillarization が関与して

いると考えられた。

結 論

アルコール性肝疾患の肝針生検材料 30 例につき、線維形成に関連する蛋白(フィブロネクチン, I 型コラーゲン, III 型コラーゲン, IV 型コラーゲン, 活性型血液凝固第 XIII 因子, 第 VIII 因子関連抗原)の局在につき免疫組織化学的に検討した。なお, 対照として急性肝炎, 慢性肝炎(非活動型, 活動型), 病理組織学的に正常と診断された材料について検討した。

1) アルコール性肝病変では, 特徴的な広がりを出すグリソン鞘周辺の線維化を確認するとともにその線維化が免疫組織化学的所見からみて通常の創傷治癒過程とはほぼ同様の過程で起こっていることが示唆された。

2) アルコール性肝病変では, 慢性肝炎活動型で認められるような細胞壊死や激しい炎症などの線維化を惹起するような所見に乏しく, アルコールの直接作用,あるいは飲酒時の代謝過程の変化が繰り返されることによって線維化が惹起されると想定され, active fibroplasia (neoformation) が線維化の主体をなし, その過程で類洞の capillarization が関与していると考えられた。

稿を終るにあたり, 本研究に直接御指導, 御協力を頂いた聖マリアンナ医科大学第二病理学教室打越敏之教授ならびに高桑俊文助教授に深謝致します。また, 御校閣頂いた日本医科大学内科学第 1 教室奥村英正教授に謝意を表します。

なお, 本論文の要旨は第 24 回日本成人病学会総会 (1990 年 1 月, 東京) において発表した。

文 献

- 1) 国税庁関税部酒税課: 酒のしおり, p. 26~29, 1982.
- 2) 武内重五郎, 奥平雅彦, 高田 昭, 太田康幸, 藤沢 列, 伊藤 進, 辻井 正, 蓮村 靖: わが国におけるアルコール性肝障害の実態: 全国集計の成績から, 日消誌, 76, 2178~2185, 1979.
- 3) 武内重五郎, 奥平雅彦, 高田 昭, 太田康幸, 藤沢 列, 伊藤 進, 辻井 正, 蓮村 靖: わが国におけるアルコール性肝障害の実態 (その 2): 1985 年全国集計の成績から, 日消誌, 84, 1623~1630, 1987.
- 4) 蓮村 靖, 武内重五郎: アルコール性肝障害の疫学と病因, 肝・胆・膵, 15, 705~711, 1987.
- 5) 武内重五郎: アルコール性肝障害: 本邦における臨床とその特徴, 朝倉書院, 東京, 1988.
- 6) 石井祐正, 土屋雅春, 土本寛二: アルコール性肝疾患: その発生病理と臨床, 日本臨床, 46, 928~944, 1988.
- 7) 打越敏之: 肝生検における慢性アルコール性肝障害の診断とその鑑別 (1), 病理と臨床, 3, 520~524, 1985.
- 8) 打越敏之: 肝生検における慢性アルコール性肝障害の診断とその鑑別 (2), 病理と臨床, 3, 629~633, 1985.
- 9) Hans, P. and Charles, S.L.: Histogenesis of alcoholic fibrosis and cirrhosis in the baboon. *Am. J. Pathol.*, 98, 695~710, 1980.
- 10) 蓮村 靖, 武内重五郎: 肝小葉内線維化と線維産性細胞: アルコール性肝線維症をモデルにした一考察, 最新医学, 38, 1097~1104, 1983.
- 11) 中野雅行, 山口 博, 伊藤信夫, 古田精市: 大酒家における肝線維化動態 (隔壁形成) に関する病理組織学的研究, アルコール代謝と肝, 4, 1~6, 1985.
- 12) Peter, R.M., John, T.E. and Susan, G.M.: Preparation and properties of serum and plasma proteins. XVIII. The separation of purified fibrinogen from fraction of human plasma. *J. Am. Chem. Soc.*, 70, 3103~3108, 1948.
- 13) 米増國雄, 佐々木隆子, 中西 彰: フィブロネクチン (Fibronectin) と炎症, *Minophagen Medical Review*, 30, 121~135, 1985.
- 14) 照喜名重治, 青木延雄: Fibronectin, 日本臨床, 42, 223~234, 1984.
- 15) 小嶋允夫: 肝線維化における fibronectin の動態に関する研究, 肝臓, 26, 297~304, 1985.
- 16) 市田文弘, 小嶋允夫, 青柳 豊, 伊勢村護: 肝線維化におけるフィブロネクチンの役割, 最新医学, 38, 1114~1119, 1983.
- 17) 市田文弘, 伊勢村護, 高橋 達, 青柳 豊: 肝疾患とフィブロネクチン: 肝線維症を中心に, 最新医学, 39, 2054~2055, 1984.
- 18) Beck, E., Duckert, F. and Ernst, M.: The influence of fibrin stabilizing factor on the growth of fibroblast in vitro and wound healing. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 6, 485~491, 1961.
- 19) Deane, F.M. and Peter, E.S.: Crosslinking of fibronectin to collagen by blood coagulation factor XIIIa. *J. Clin. Invest.*, 64, 781~787, 1979.
- 20) 岩渕省吾: 肝線維化と凝固 X III 因子, 日消誌, 80, 2229~2239, 1983.
- 21) 本村光明, 尾崎岩太, 堺 隆弘: 肝細胞における蛋白合成系と分泌機構, コラーゲン, 日本臨床, 46, 80~87, 1988.
- 22) 渡辺洋望, 鈴木晨幹, 大高祐一: 傷害部における基質と collagen の働き, 最新医学, 37, 235~239, 1982.
- 23) 吉岡 章: 第 VIII 因子凝固蛋白, 血液と脈管, 13, 463~471, 1982.
- 24) Sonia, A.M.S., Peake, I.R., Giddins, J.C., Humphrys, J. and Bloom, A.L.: The characterization and synthesis of antigen related to factor VIII in vascular endothelium. *Thrombs. Res.*, 11, 43~56, 1977.
- 25) Eric, A.J.: Endothelial cell and the biology of factor VIII. *New Eng. J. Med.*, 296, 377~383, 1977.
- 26) 水口明洋: 肝疾患における凝固第 VIII 因子, 日消誌, 82, 1533~1542, 1985.
- 27) 久藤 真, 梅本大介, 加藤正美, 小西正昭, 伊藤 雄, 森藤隆史, 李 昌珍, 出口克美, 井戸熊野, 山田外春: 肝疾患における第 VIII 因子について, 血液と脈管, 10, 350~356, 1979.
- 28) Taguchi, K. and Asano, G.: Neovascularization of pericellular fibrosis in alcoholic liver disease. *Acta Pathol. Jpn.*, 38, 615~626, 1988.
- 29) Voss, B., Rauterberg, J., Allam, S. and Pott, G.: Distribution of collagen type I and type III and of two collagenous components of basement membranes in the human liver. *Path. Res. Pract.*, 170, 50~60, 1980.
- 30) Hahn, E., Wick, G., Pencen, D. and Timpl, R.: Distribution of basement membrane proteins in normal and

Plate (1)

Plate (2)

Plate (3)

fibrotic human liver; Collgen type IV, laminin and fibronectin. *Gut*, 21, 63~71, 1980.

- 31) Kawanami, O.: Electron microscopic study of mammalian liver with periodic acid methenamin silver stain; Basement membrane structure and fibrogenesis in space of disse. *Acta Path. Jpn.*, 23, 717~738, 1973.
- 32) Fenton, S. and Hans, P.: Capillarization of hepatic sinusoids in man. *Gastroenterology*, 44, 239~242, 1963.
- 33) Thomas, H., Jette, J. and Per, C.: Early alcoholic liver injury; Changes of the disse space in acinar zone 3. *Liver*, 5, 301~310, 1985.
- 34) 辻井 正, 木村一英: アルコールと肝線維化. アルコール性肝障害 (武内重五郎 編), p. 187~196, 朝倉書店, 1988.

(受付: 1991年1月7日)

Legends

Photo 1 Immunohistochemical staining for type III collagen in normal liver. Type III collagen is distributed within the portal tracts. ($\times 33$) Photo 2 Immunohistochemical staining for type III collagen in normal liver. Type III collagen is visible only at the periphery of the central vein. ($\times 66$) Photo 3 Immunohistochemical staining for type I collagen. Type I collagen shows a similar distribution to that of type III collagen. ($\times 33$) Photo 4 Immunohistochemical staining for type I collagen. Type I collagen is visible only at the periphery of the central vein. ($\times 66$) Photo 5 Immunohistochemical staining for FN in normal liver. FN is distributed within the portal tracts and along a part of perisinusoidal space. ($\times 20$) Photo 6 Immunohistochemical staining for XIIIa in chronic hepatitis, inactive. XIIIa is stained scatterdly within portal tracts. ($\times 100$) Photo 7 Immunohistochemical staining for type III collagen in chronic hepatitis, active. Type III collagen is stained within enlarged portal tracts and area of piecemeal necrosis. ($\times 33$) Photo 8 Immunohistochemical staining for type I collagen in chronic hepatitis, active. Type I col-	lagen shows similar distribution to type III collagen. ($\times 33$) Photo 9 Immunohistochemical staining for XIIIa in chronic hepatitis, active. XIIIa positive cells are observed in portal and periportal tract. ($\times 100$) Photo 10 Immunohistochemical staining of FN in chronic hepatitis, active. Perisinusoidal space, portal tracts and area of piecemeal necrosis are stained. ($\times 66$) Photo 11 Immunohistochemical staining for VIII RAg in chronic hepatitis, active. VIII RAg positive capillaries are observed in periportal area. ($\times 50$) Photo 12 Reticulin stain of alcoholic fibrosis. Stellate fibrosis and pericellular fibrosis are peculiar. ($\times 25$) Photo 13 Immunohistochemical staining for type III collagen in mild alcoholic fibrosis. Fine fibers extended into periportal parenchyma are stained. ($\times 50$) Photo 14 Immunohistochemical staining for type III collagen in moderate alcoholic fibrosis. Pericellular fibrosis is stained. ($\times 25$) Photo 15 Immunohistochemical staining for type III collagen in severe alcoholic fibrosis. Enlarged portal tracts and fibrotic septa are stained ($\times 33$) Photo 16 Immunohistochemical staining for FN in alcoholic fibrosis. FN shows remarkable perisinusoidal positivity. ($\times 25$) Photo 17 Immunohistochemical staining for type IV collagen in alcoholic fibrosis. Type IV collagen shows perisinusoidal positivity. ($\times 25$) Photo 18 Immunohistochemical staining for XIIIa in alcoholic fibrosis. XIIIa is stained scatterdly in periportal area, especially in the foci of active fibrosis. ($\times 40$) Photo 19 Immunohistochemical staining for VIII RAg in alcoholic fibrosis. VIII RAg positive capillaries, invading into the lobules, are seen in fibrous periportal area. ($\times 80$)