

Lectin Binding Activity of the Epithelium of the Intrahepatic Bile Duct Glands and Covering Epithelium of the Duct in Normal Human Livers, Livers with Hepatolithiasis and Gastric Mucosa

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7908

肝内胆管上皮及びその付属腺のレクチン結合能

— 正常肝, 肝内結石症肝および胃粘膜上皮との比較 —

金沢大学医学部病理学第二講座 (主任: 太田五六教授)

齋 藤 勝 彦

(昭和61年11月22日受付)

肝内胆管付属腺増生は, 肝内結石症の特徴的組織像とされ, 多量の粘液がそこから産生されることが判明している。レクチンは, 糖蛋白の特異糖鎖と結合することから, 糖蛋白糖鎖の構造解析の重要な手段となっている。そこで16種のレクチンを用い, 肝内胆管付属腺粘液の性状解析を試みた。正常肝12例, 肝内結石症肝12例および胃16例の連続切片を作製し, 各種粘液染色とAvidin-biotin-peroxidase complex methodによるレクチン16種の染色を行なった。その結果, レクチン陽性部位と粘液陽性部位との関係から, 16種のレクチンを三群に大別することができた。粘液非親和性細胞質親和性群はCon-A, VFA, PHA-Eの3種, 粘液親和性細胞質親和性群はLcH, PEAの2種, 粘液親和性細胞質非親和性群はSTA, WGA, DBA, SBA, HPA, PNA, GS-I, MPA, RCA-I, UEA-I, Lotusの11種であった。それらの糖蛋白糖鎖特異性より, 肝内胆管系上皮の粘液糖蛋白内には α -D-N-Acetylglucosamine, α -D-Galactose, β -D-Galactose, α -L-Fucoseが高率に存在し, α -D-Mannose, α -D-Glucoseは粘液内には存在せず, 細胞質内非粘液部にびまん性に存在すると考えられた。粘液染色により肝内胆管付属腺を壁内外の酸性粘液型粘液腺, 中性粘液型粘液腺, 低分泌型粘液腺に分類できたが, レクチン結合能には酸性粘液型粘液腺と中性粘液型粘液腺の間, 並びに胆管の壁外腺と壁内腺との間で有意差は認められなかった。肝内結石症肝と正常肝との間でも, 粘液に質的な差は見られず, その量的増加が結石の形成増大に関与すると考えられた。低分泌型粘液腺は従来漿液腺とされていたものであるが, 酸性・中性粘液型粘液腺への移行を見ることにより, その一部は後者の前駆細胞と考えられた。また胆管の中性粘液型粘液腺と胃の幽門腺との間にレクチン結合能の類似性があり, 前者の発生に関し幽門腺化生を否定できなかった。

Key words Lectin, Mucus, Glycoprotein, Hepatolithiasis, Intrahepatic periductal gland.

レクチンは糖蛋白の特異糖鎖と結合することから, 糖蛋白糖鎖の構造解析の重要な手段として用いられているのみならず^{1)~3)}, 細胞分化や腫瘍化に伴う種々のレクチン結合能の変化が注目を受けている⁴⁾。

肝内胆管には肝外胆管⁵⁾⁶⁾同様, 胆管固有の付属腺が肝内深くまで生理的に存在することが, 当教室で発見されている⁷⁾。その付属腺は粘液腺房と漿液腺房とからなる混合腺とされているが, その生理的な機能に関

してはまだ知見が乏しい。肝内結石症では肝内胆管付属腺特に粘液腺の増生がその特徴的組織像の一つとされており^{8)~10)}, これらの産生する粘液と結石形成との因果関係が最近注目されている。胆嚢では同様の粘液腺が慢性炎症において認められ, しばしば幽門腺化生を伴うことが知られている¹¹⁾¹²⁾が, 肝内胆管における幽門腺化生についてはまだ検討されていない。

そこで本研究では肝内胆管上皮やその付属腺につい

Abbreviations: AB, Alcian blue; ABC, Avidin-biotin-peroxidase complex; Con-A, Concanavalia Ensiformis; DAB, 3,3'-Diaminobenzidine; DBA, Dolichos Biflorus; dPAS, diastase Periodic acid Schiff; GS-I, Griffonia Simplicifolia I; HE, Hematoxylin and eosin; HID, High iron diamine; HPA, Helix Pomatia; LcH, Lens Culinaris; Lotus, Lotus

て、16種のレクチンによる糖蛋白糖鎖の結合能を検討し、正常肝と胆内結石症肝とを対比して、その粘液の性状解析を試みた。同時にその成績を胃の粘液腺である幽門腺、分泌上皮である腺窩上皮、吸収上皮である十二指腸上皮の三者と比較して肝内胆管系上皮の性格を知ることが目的とした。このような研究はまだ報告されていない。

対象および方法

I. 対象

対象は正常肝 12 例、肝内結石症肝 12 例および胃 16 例で、いずれも成人例である。正常肝はすべて剖検例で、その肝門部胆管を使用した。肝内結石症肝は中枢型 10 例と末梢型 2 例の計 12 例で、中枢型はすべて手術材料、末梢型は剖検例である。中枢型では結石部胆管を使用し、さらに末梢型では肝門部胆管も使用した。胃は主として慢性胃潰瘍にて手術されたもので、十二指腸を含む幽門部を使用した。得られた材料は直ちに 10% 中性ホルマリンで固定し、パラフィン包埋した。

II. 病理組織化学的染色法

パラフィンブロックから 4 μ m の連続切片を充分量作製し、HE 染色、ジアスターゼ消化後 PAS (dPAS)・アルシアンブルー (Alcian Blue, AB) pH 2.5 重染色 (dPAS・AB pH 2.5) および HID (High iron diamine)¹⁵⁾・AB pH 2.5 重染色 (HID・AB pH 2.5) を行った。さらに必要に応じムチカルミン染色、AB pH 1.0 染色、AB pH 2.5 染色、dPAS 染色を行った。また avidin-biotin-peroxidase complex method (ABC 法)¹⁴⁾¹⁵⁾を用いて 16 種のレクチンを染色した。レクチンは表 1 に示すごとく結合能を有する特異糖鎖により 5 グループに分けられる¹¹⁾¹⁶⁾。すなわち D-Mannose (D-Glucose)-binding lectins, 2-Acetamido-2-deoxy-D-Glucose-binding lectins, 2-Acetamido-2-deoxy-D-Galactose-binding lectins, D-Galactose-binding lectins, L-Fucose-binding lectins である。16 種のレクチンはビオチン標識レクチン (E. Y. Lab., Inc., U.S.A.) を使用した。ABC 法の手順は 0.3% H₂O₂ 加メタノールで 20 分処理後 1% 牛血清アルブミンに 1 時間から一晩浸漬、ビオチン標識レクチン (10 mg/ml PBS) と室温下で 30 分反応させ、ABC 液 (Vector Lab., Inc., U.S.A.) と室温下で 30 分反応、

0.01% H₂O₂ -0.2 mg/ml DAB (3,3'-Diaminobenzidine, SIGMA CHEMICAL COMPANY U.S.A.) で発色、ヘマトキシリンにて核染後、型のごとく脱水封入した。なお各反応ステップには、0.01 M pH 7.2 PBS で充分洗浄した。上記の ABC 法の陰性対照として、ビオチン標識レクチンとの反応の代わりに PBS を 30 分反応させた。

III. 判定

検鏡に際し肝内胆管系上皮を肝内胆管付属腺上皮、胆管上皮、細胆管上皮とに分け、さらに肝内胆管付属腺を、胆管壁固有の結合織帯内にある壁内腺と、その外にあって粗な結合織帯内にある壁外腺とに分けた⁷⁾。肝細胞および毛細胆管、また胃粘膜においては、幽門腺、胃腺窩上皮、十二指腸上皮についてもそれぞれ観察した。

レクチン結合能の判定はそれぞれの上皮につきレクチン陽性部位と平均陽性細胞率で示した。レクチン陽性部位は陽性部の上皮内局在により、内腔縁が染まるもの、胞体内粘液が染まるもの、内腔縁下の粘液陽性部が染まるもの、核上部が顆粒状に染まるもの、細胞質非粘液部がびまん性に染まるものに類型化でき、個々の症例の陽性部位を最も多い代表的陽性部位で表現したが、重複する場合はそれらを併記した。

陽性細胞率は個々の症例で各上皮全体に対し陽性細胞が占める%を算定し、100% ($\geq 90\%$) を 5, 80% (70-89%) を 4, 60% (50-69%) を 3, 40% (30-49%) を 2, 20% (10-29%) を 1, 偽陽性 (10% $>$) を 0.5, 陰性 (0%) を 0 として点数で表現した。そして微弱な染まりの場合は、偽陽性と判定した。平均陽性細胞率はこうして得られた点数を全症例で平均して算出して得た。統計学的な有意差の検定は、Mann-Whitney の U 検定で行い、 $p < 0.05$ を有意と定めた。本来、免疫組織化学的染色法は定性的染色法であるが、本研究では、以上のように陽性細胞率を点数で表現することにより、定量および統計学的有意差の検定を試みた。

IV. 電顕的観察

正常肝の一例の酸性粘液型粘液腺と低分泌型粘液腺とにおいて電顕的観察を行った。2.5% グルタルで固定、1% オスミウム酸で後固定、エタノール脱水後エポキシ樹脂で包埋した。超薄切片作製後、酢酸ウラニール・クエン酸鉛で二重染色を施し、透過型電子顕微鏡

Tetragonolobus; MPA, Maclura Promifera; PBS, Phosphate buffered saline; PEA, Pisum Sativum; PHA-E, Phaseolus Vulgaris E; PNA, Arachis Hypogaea; RCA, Ricinus Communis; SBA, Glycine Max; STA, Solanum Tuberosum; UEA-I, Urexa Europaeus I; VFA, Vicia Faba; WGA, Triticum Vulgaris.

(日立 H-300) で観察した。

成 績

I. 粘液染色

1. 肝内胆管付属腺

dPAS 染色は中性粘液を, AB pH 2.5 染色はシアロムチンを, HID 染色はスルフォムチンを染色する¹⁷⁾. これらの染色性により肝内胆管付属腺を酸性粘液型粘液腺と低分泌型粘液腺 (従来漿液腺と呼ばれていたもの), さらに肝内結石症では, 中性粘液型粘液腺とに分類できた. 以下にそれぞれの特徴を示す.

1) 酸性粘液型粘液腺

AB pH 2.5 染色にそまるシアロムチンよりも, HID 染色陽性のスルフォムチンが多く存在し (共に酸性粘液), 中性粘液は少量であった (写真 1a, 1b). その原

形質は低円柱状で, 内腔側に多量の粘液が貯留し, そのため核は基底側に圧平されていた. 電顕的観察では光顕上粘液陽性部に低電子密度の粘液顆粒が核上の原形質内に充満し, organelle に乏しい (写真 2). 正常肝と肝内結石症肝, 壁外腺と壁内腺との間には粘液の量的違いはあるものの, 個々の腺細胞には上記の粘液染色性に違いはなかった.

2) 中性粘液型粘液腺

この型の粘液腺は, 酸性粘液型粘液腺とほぼ同様の細胞形態を示したが, その含有する粘液は中性粘液が主体で, 酸性粘液とくにスルフォムチンが著減している粘液腺である (写真 3a, 3b). この中性粘液型粘液腺は肝内結石症の壁内腺でよく増生しており, 本来壁内腺の乏しい正常肝ではほとんど認められなかった.

3) 低分泌型粘液腺

Table 1. Carbohydrate-binding specificity of five groups of lectins

Lectin	Carbohydrate-binding specificity
D-Mannose(D-Glucose)-binding lectins	
Con-A	α -D-Man > α -D-Glc > α -GlcNAc
VFA	α -D-Man > α -D-GlcNAc
PHA-E	β -D-Gal (1→4) - β -D-GlcNAc- (1→2) - α -D-Man
LcH	α -D-Man > α -D-Glc, α -D-GlcNAc
PEA	α -D-Man > α -D-Glc > α -D-GlcNAc
2-Acetamido-2-deoxy-D-Glucose-binding lectins	
STA	β -D-GlcNAc- (1→4) - [β -D-GlcNAc- (1→4)] ₂ - β -D-GlcNAc
WGA	{ β (1→4) -D-GlcNAc } ₂ , D-GlcNc
2-Acetamido-2-deoxy-D-Galactose-binding lectins	
DBA	α -D-GalNAc
SBA	α -D-GalNAc > β -D-GalNAc \gg α -D-Gal
HPA	α -D-GalNAc, α -D-GlcNAc, α -D-Gal
D-Galactose-binding lectins	
PNA	β -D-Gal (1→3) -D-GalNAc > D-GalNH ₂ = α -D-Gal
GS-I	α -D-Gal > α -D-GalNAc
MPA	α -D-Gal
RCA-I	β -D-Gal
L-Fucose-binding lectins	
UEA-I	α -L-Fucose
Lotus	α -L-Fucose, α -O-me-Fucose

Con-A, Concanavalia Ensiformis; VFA, Vicia Faba; PHA-E, Phaseolus Vulgaris E; LcH, Lens Culinaris; PEA, Pisum Sativum; STA, Solanum Tuberosum; WGA, Triticum Vulgaris; DBA, Dolichos Biflorus; SBA, Glycine Max; HPA, Helix Pomatia; PNA, Arachis Hypogaea; GS-I, Griffonia Simplicifolia I; MPA, Maclura Promifera; UEA-I, Ureux Europeus I; Lotus, Lotus Tetragonolobus.

この粘液腺は、正常肝、肝内結石症肝ともに壁外腺内に多く認められ、低円柱上皮よりなるが、核は卵円形で胞体の中央やや基底側寄りに存在し、内腔縁および内腔縁下から核上部までの胞体に、種々の程度に少量の粘液を有していた。酸性粘液とくにスルフォムチンの割合が多く、中性粘液は少量であった(写真4)。電顕的観察では粗面小胞体に乏しくミトコンドリアも比較的少量であり、内腔側に少数の粘液顆粒が証明されたものがあつた(写真5)。

2. 胆管上皮

正常肝および肝内結石症肝では共に、内腔縁および内腔縁下に少量の粘液を認め、シアロムチン、スルフォムチンの酸性粘液の割合が多く中性粘液は少なかった(写真6)。

3. 細胆管上皮

細胞形態上は低分泌型粘液腺に似ているが、粘液は陰性か内腔縁に微量の酸性粘液を見るのみであった。毛細胆管を含め肝細胞には粘液は証明されなかった。

4. 胃粘膜上皮

幽門腺の粘液はdPAS染色のみ陽性で中性粘液を多量に有していた。(写真7a)。胃腺窩上皮では内腔縁と内腔縁下から核上部に同中性粘液を認めた(写真7b)。十二指腸上皮では内腔縁のみに少量の中性粘液

とシアロムチンを認めた(写真7c)。

II. レクチン陽性部位

レクチン陽性部位と粘液陽性部位との関係から、16種のレクチンを粘液非親和性細胞質親和性群、粘液親和性細胞質親和性群、粘液親和性細胞質非親和性群の三群に大別することができた。レクチン陽性部位は正常肝と肝内結石症肝および壁外腺と壁内腺とで基本的に同じであつた。

粘液非親和性細胞質親和性群は粘液陽性部には染らず細胞質非粘液部に染まるもので、この群に含まれるレクチンはCon-A, VFA, PHA-Eの3種であつた。肝内胆管上皮とその付属腺および胃粘膜上皮のいずれの上皮でも、これらは細胞質非粘液部に陽性となつた(写真8a, 9a, 10a, 11a, 11b, 11c, 13a)。

粘液親和性細胞質親和性群は粘液陽性部にも細胞質非粘液部にも陽性となるもので、この群に含まれるレクチンはLcH, PEAの2種であつた。酸性・中性粘液型粘液腺および中性粘液型である幽門腺では胞体内粘液が陽性で(写真8b)、低分泌型粘液腺では細胞質非粘液部と内腔縁および内腔縁下粘液陽性部が陽性であつた(写真9b)。他の上皮では主に細胞質非粘液部が陽性で、細胆管では内腔縁、胃腺窩上皮では内腔縁下粘液陽性部も染まったが、胆管上皮および十二指腸

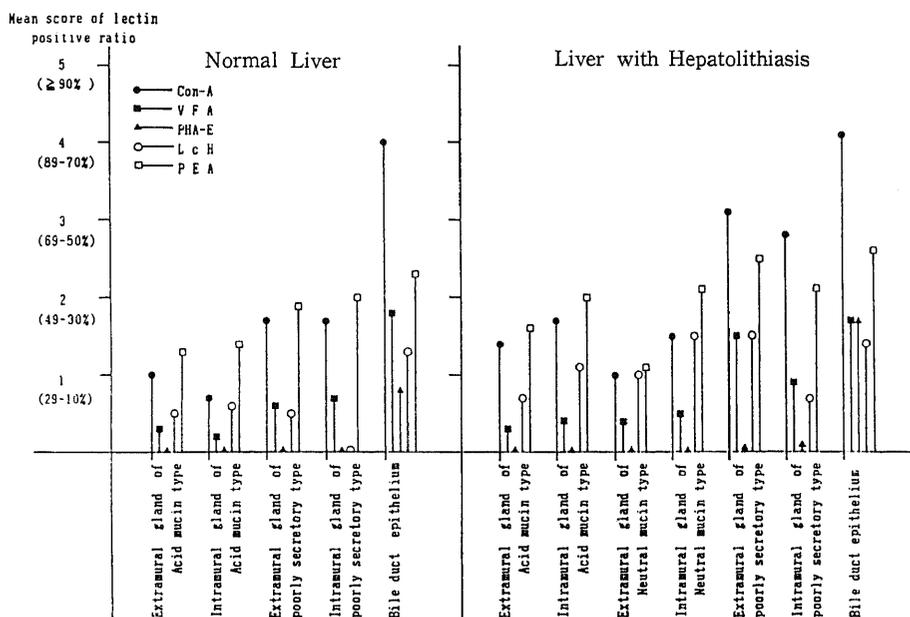


Fig. 1. The mean score of lectin positive ratio of D-Mannose (D-Glucose)-binding lectins. The mean score is equivalent to the percentage of lectin positive cells in the parenthesis. Con-A, Concanavalia Ensiformis; VFA, Vicia Faba; PHA-E, Phaseolus Vulgaris E; LcH, Lens Culinaris; PEA, Pisum Sativum.

上皮では粘液染色陽性の内腔縁には染まらなかった(写真10b)。なお胆管上皮, 胃腺窩上皮, 十二指腸上皮では核上部も陽性であった。

粘液親和性細胞質非親和性群は粘液陽性部に染まるが細胞質非粘液部には染まらないもので, この群に含まれるレクチンは残りの11種のレクチンすなわち, STA, WGA, DBA, SBA, HPA, PNA, GS-I, MPA, RCA-I, UEA-I, Lotusであった。酸性・中性粘液型粘液腺では胞体内粘液が(写真8c), 低分泌型粘液腺では内腔縁および内腔縁下粘液陽性部が染まり(写真9c), 胆管上皮では内腔縁および内腔縁下粘液陽性部が(写真10c), 細胆管では内腔縁が染まった(写真13b)。また幽門腺, 胃腺窩上皮, 十二指腸上皮ではそれぞれ粘液陽性部が染まった(写真12a, 12b, 12c)。

毛細胆管はその内腔縁が, 正常肝, 肝内結石症肝ともにWGA, MPA, RCA-Iと反応した(写真14a, 14b矢印)。また肝細胞の細胞質は主としてCon-A, VFAに陽性であったが, 肝内結石症肝ではGS-I, MPAも良く染まっていた(写真14c, 14d)。

III. 平均陽性細胞率

1. 肝内胆管系上皮

1) D-Mannose (D-Glucose) -binding lectins

Con-A, VFA, PEAでは, 肝内胆管付属腺の平均陽

性細胞率は, 正常肝, 肝内結石症肝とも酸性・中性粘液型粘液腺よりも低分泌型粘液腺の方がより高かった(図1)。例えば肝内結石症肝壁外腺では, いずれも有意に高かった。また肝内結石症肝の方が正常肝に比べ低分泌型粘液腺での平均陽性細胞率が増加しており, Con-A, VFA, LcHでは有意であった。胆管上皮の平均陽性細胞率は, どのレクチンも肝内胆管付属腺のものより高く, Con-Aはいずれの付属腺よりも有意に高かった。正常肝と肝内結石症肝との差は見られなかった。細胆管では正常肝でPEAが3.7と高率であり, 肝細胞ではCon-A, VFAがそれぞれ4.7, 4.1と高率に陽性となった。

2) 2-Acetamido-2-deoxy-D-Glucose-binding lectins

肝内結石症肝では正常肝に比べ, 酸性・中性粘液型粘液腺での平均陽性細胞率が増加しており, STAは有意に高かった(図2)。肝内結石症肝の胆管上皮では, 平均陽性細胞率が肝内胆管付属腺よりも低かった。WGAは細胆管でも3.7と高率に陽性であり, 毛細胆管にも陽性となった。

3) 2-Acetamido-2-deoxy-D-Galactose-binding lectins

HPAの平均陽性細胞率は, 低分泌型粘液腺で他の

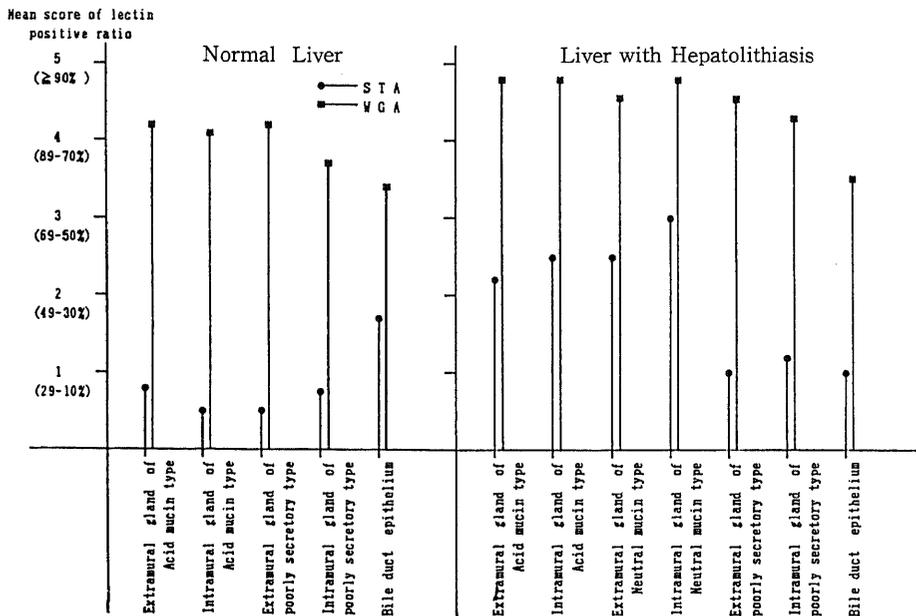


Fig. 2. The mean score of lectin positive ratio of 2-Acetamido-2-deoxy-D-Glucose-binding lectins. Illustrations similar to those on Fig.1. STA, Solanum Tuberosum; WGA, Triticum Vulgaris.

肝内胆管付属腺より低下傾向を示し、またSBAは肝内結石症の壁内中性粘液型粘液腺で増加していた(図3)。また肝内結石症肝においては正常肝に比べHPA、DBAの平均陽性細胞率が増加傾向を示したが、有意差は見られなかった。胆管上皮ではどのレクチンも1.5以下と低率で、HPAでは肝内胆管付属腺に比し有意に低下していた。細胆管でも同様に低率であった。

4) D-Galactose-binding lectins

正常肝壁外の低分泌型粘液腺では、MPAの平均陽性細胞率が壁内のものより有意に増加していた以外には、肝内胆管付属腺の各上皮間に有意差はなかった。ただ肝内結石症肝の壁内中性粘液型粘液腺では、PNA、GS-Iが正常肝に比べ増加傾向が見られた(図4)。胆管上皮ではMPAの平均陽性細胞率が付属腺より有意に低かったが、他は同程度の陽性率であった。細胆管ではMPA、RCA-Iがそれぞれ3.0、3.3と比較的高い陽性率を示したが、PNA、GS-Iが共に0.3とごく低率であった。毛細胆管ではRCA-Iが正常肝でも1.8と中程度の陽性率であり、肝細胞ではGS-I、MPAが肝内結石症肝でそれぞれ1.8、2.7と中程度の陽性率であった。

5) L-Fucose-binding lectins

肝内胆管付属腺の酸性・中性粘液型粘液腺では、壁外壁内ともに肝内結石症肝の方が正常肝に比べ平均陽性細胞率が有意に高く、また肝内結石症肝では低分泌

型粘液腺よりも有意に高かった(図5)。胆管上皮では酸性・中性粘液型粘液腺に比べ低下傾向にあったが、肝内結石症肝においては正常肝より増加傾向にあった。細胆管では0.5以下とごく低率であった。

全体的に見ると、同じ特異糖鎖と結合するレクチンでも各上皮の平均陽性細胞率は区々であったが、それぞれのレクチンの平均陽性細胞率には、酸性粘液型粘液腺と中性粘液型粘液腺の間でも有意差はなく、また壁外腺と壁内腺の間では有意差は認められなかった。しかし、大まかには、細胞質非粘液部と反応するレクチン群の平均陽性細胞率は、酸性・中性粘液型粘液腺よりも低分泌型粘液腺の方で、また肝内胆管付属腺より胆管上皮の方で高い傾向にあり、正常肝より肝内結石症肝においてこの傾向がより強く現れていた。他方、粘液部と反応するレクチン群の平均陽性細胞率は、前者のレクチン群と逆に、低分泌型粘液腺よりも酸性・中性粘液型粘液腺の方で高く、胆管上皮より肝内胆管付属腺の方で高い傾向にあり、この傾向は肝内結石症肝において強かった。

2. 肝内胆管付属腺と胃幽門腺との比較

幽門腺においては胞体内粘液と反応するレクチンの多くが高い平均陽性細胞率を示した(図6)。この平均陽性細胞率を肝内結石症肝の壁内中性粘液型粘液腺、酸性粘液型粘液腺、正常肝の壁内酸性粘液型粘液腺と比較してみると、幽門腺に最も近いのは、結石肝の壁

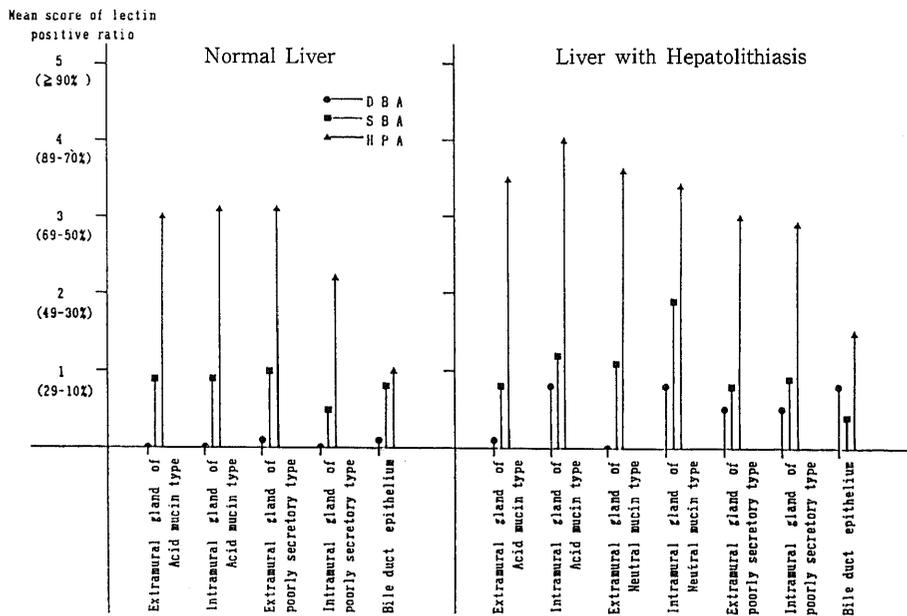


Fig. 3. The mean score of lectin positive ratio of 2-Acetamido-2-deoxy-D-Galactose-binding lectins. DBA, Dolichos Biflorus; SBA, Glycine Max; HPA, Helix Pomatia.

内中性粘液型粘液腺であり、ついで壁内酸性粘液型粘液腺、さらに正常肝の壁内酸性粘液型粘液腺の順となった。ちなみに幽門腺粘液は中性粘液であった。

3. 胆管上皮と胃腺窩上皮、十二指腸上皮との比較

2-Acetamido-2-deoxy-D-Galactose-binding lectins, D-Galactose-binding lectins, L-Fucose-binding lectins では、平均陽性細胞率は胃腺窩上皮において最も高く、十二指腸上皮、胆管上皮の順に低下した。

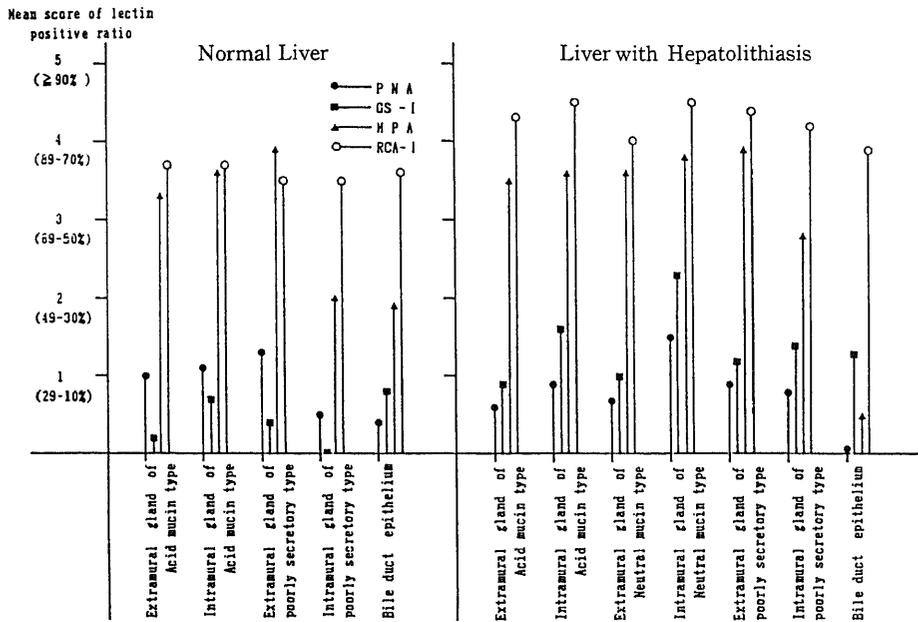


Fig. 4. The mean score of lectin positive ratio of D-Galactose-binding lectins. PNA, Arachis Hypogaea ; GS-I, Griffonia Simplicifolia I ; MPA, Maclura Promifera.

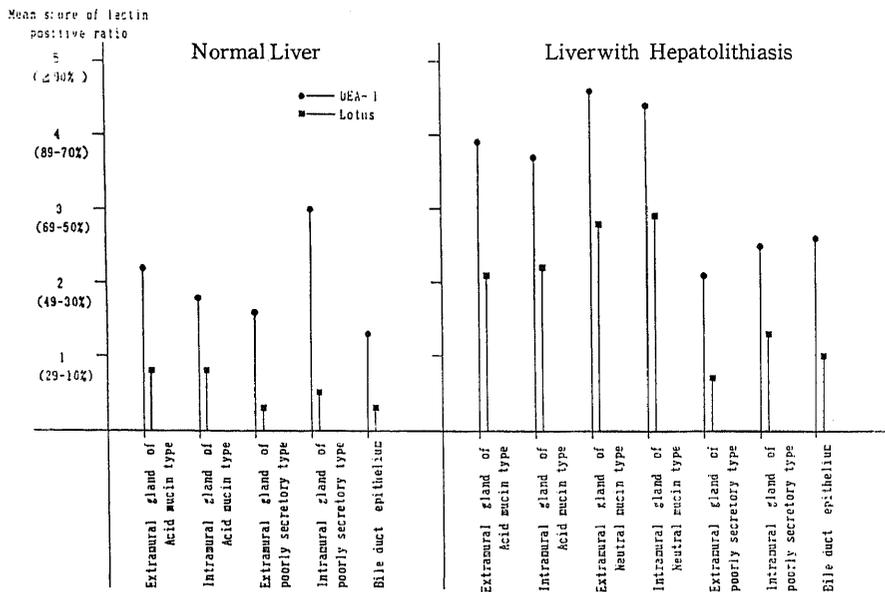


Fig. 5. The mean score of lectin positive ratio of L-Fucose-binding lectins. UEA-I, Ureux Europeanus I ; Lotus, Lotus Tetragonolobus.

細胞質非粘液部に陽性となる Con-A, VFA, PHA-E の平均陽性細胞率は、十二指腸上皮において最も高かった。LcH, PEA, STA, WGA では、胆管上皮において最も高く、十二指腸上皮、胃腺窩上皮の順となった。

考 察

1. レクチン陽性部位と平均陽性細胞率から見た肝内胆管系上皮の粘液糖蛋白糖鎖の解析

本研究の結果、16種のレクチンは、その陽性部位から見て、粘液非親和性細胞質親和性群、粘液親和性細胞質親和性群、粘液親和性細胞質非親和性群の3群のレクチンに分類できる。後2群に含まれるレクチンは各上皮の粘液と反応し、レクチン結合特異糖鎖が粘液糖蛋白内に存在することになる。すなわち、2-Acetamido-2-deoxy-D-Glucose-binding lectins の2種、2-Acetamido-2-deoxy-D-Galactose-binding lectins の3種、D-Galactose-binding-lectins の4種、L-Fucose-binding-lectins の2種が粘液と反応するので、その粘液内にある特異糖鎖は N-Acetylglucosamine, N-Acetylgalactosamine, Galactose, Fucose であると考えられる¹¹⁾¹⁰⁾。さらに平均陽性細胞率が高い WGA, HPA, MPA, RCA-I, UEA-I に共通する特異糖鎖は、表1より α -D-N-Acetylglucosamine, α -D-Galactose, β -D-Galactose, α -L-Fucose であり、これらが粘液内に高率に存在するものと推定できる。以上のレクチンは肝内胆管系上皮のみならず胃粘膜上皮の粘液にも同様に陽性であった。しかしながら肝内胆管系上皮においては、粘液親和性細胞質非親和性群に属するレクチンの平均陽性細胞率が酸性・中性粘液

型粘液腺で最も高く、次いで低分泌型粘液腺、胆管上皮の順に低くなる傾向にあり、同様に胃粘膜においても幽門腺が最も高く、胃腺窩上皮、十二指腸上皮の順に低くなった。このことより平均陽性細胞率は上皮の粘液分泌能を反映するものと考えられる。さらに肝内結石症で平均陽性細胞率が増加傾向にあったのは主として酸性・中性粘液型粘液腺であり、これは著しく増生した粘液腺が粘液分泌能亢進の状態にあることを意味しており、これらが結石含有胆管の特色だと思われる。

D-Mannose (D-Glucose) -binding lectins のうち LcH, PEA は粘液にも細胞質にも反応するが、同属の Con-A, VFA, PHA-E は粘液と反応せず細胞質とのみ反応する。この違いはいったい何によるものだろうか。一般にレクチンと糖蛋白糖鎖との反応は抗原抗体反応のように一対一の反応ではなく、複数の特異糖鎖と反応したり¹⁸⁾¹⁹⁾、糖蛋白糖鎖の三次構造に左右されたりする²⁰⁾。複数の特異糖鎖とレクチンとの結合は競合反応によるものであり²¹⁾²²⁾、その解離定数により結合の強弱が決定する。たとえば α -D-N-Acetylglucosamine との結合の強いレクチンは、粘液部に陽性を示すが、結合の弱いレクチンは、化学的に同属であっても、粘液と反応しない。粘液とも細胞質とも反応するレクチン群は、 α -D-N-Acetylglucosamine と比較的好く結合し、かつ細胞質に豊富な α -D-Mannose や α -D-Glucose と結合するためと考えられる。

消化管の粘液では一般に糖残基として Galactose, Fucose, N-Acetylglucosamine, N-Acetylgalactosamine, シアル酸が主であって、Mannose や

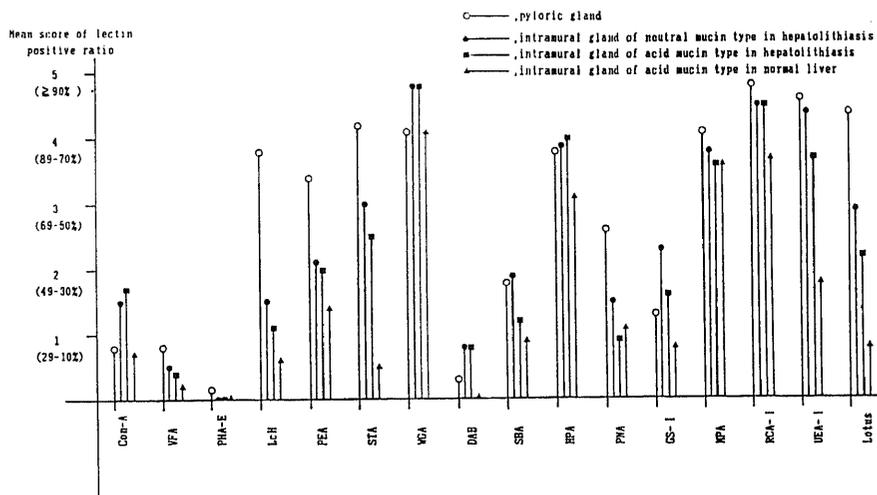


Fig. 6. The comparison in the mean score of lectin positive ratio between the intrahepatic mucinous glands and pyloric glands.

Glucoseは少ないとされており²³⁾²⁴⁾、胆汁の粘液分析でも同様である^{25)~28)}。またLeeらはヒト胆嚢胆石症、実験胆嚢胆石症²⁶⁾および胆泥症例²⁷⁾において、正常胆汁と胆石胆汁および胆嚢胆汁と肝胆汁との間に粘液糖蛋白の質的变化が認められないとしている。本研究では肝内胆管上皮の粘液糖蛋白に α -D-N-Acetylglucosamine, α -D-Galactose, β -D-Galactose, α -L-Fucoseが高率に存在し、 α -D-Glucoseおよび α -D-Mannose残基が含まれないこと、また正常肝と肝内結石症肝の肝内胆管付属腺粘液に質的变化が見られず、胃粘膜との間にも差異がないことを裏付けることが出来た。

II. 中性粘液型粘液腺の増生機転

Chouら²⁹⁾はヒト肝外胆管の付属腺の組織化学的研究でシアロムチン、スルフォムチンと少量の中性粘液を認めており、またEsterlyら³⁰⁾は正常胆嚢粘膜表層上皮の粘液はスルフォムチンからなり、病的状態ではシアロムチンが優位になるとしている。肝内胆管系上皮の粘液でも、酸性粘液とくにスルフォムチンが主体であり肝内結石症で増加する。しかしそれとは別に、肝内結石症ではとくに壁内腺で中性粘液型粘液腺が増生してくるので、酸性・中性の両粘液が胆管壁から多量に分泌される。胆嚢でも慢性炎症で中性粘液を有する腺増生を認めることがあるが、これは胆嚢上皮の幽門腺化生によると考えられている¹¹⁾¹²⁾。しかし、肝内胆管付属腺のレクチン陽性部位からみると、酸性と中性の粘液腺のレクチン反応に差がなく、また壁外腺と壁内腺、正常肝と肝内結石症肝の間にもレクチン結合能に質的差が認められなかった。従って、肝内結石症と正常肝の間には、粘液の量的違いのみが著しいと考えられる。

寺田⁷⁾は肝外および肝内胆管の壁外腺は胆管系固有の腺組織であるが、壁内腺は胆管壁の刺激に基づいて生じた被覆上皮の壁内嵌入により生じたものであろうとしている。従って肝内結石症において中性粘液型粘液腺が主に壁内で著しく増生し、同じ中性粘液型粘液腺である幽門腺類似のレクチン結合部位とレクチン陽性細胞率を示すことから、中性粘液型粘液腺は胆嚢同様に幽門腺に化生した壁内腺の増生と考えられる。

III. 低分泌型粘液腺の意義

肝内胆管付属腺は光顕的観察により粘液腺と漿液腺とからなる混合腺とされている⁷⁾。一般に漿液腺細胞は、胞体が暗く好塩基性で、混合腺では漿液半月を形成する。電顕的には高電子密度の漿液顆粒が存在し、粗面小胞体がよく発達しておりミトコンドリアにも富んでいる³¹⁾³²⁾。本研究の結果、この漿液腺は、粘液腺と基本的に同一種類の腺であり、粘液分泌機能の低い状

態のものとして推定され、低分泌型粘液腺と呼ぶのが適当と考えた。その理由の第一は、低分泌型粘液腺は光顕・電顕観察で粘液を有しており、レクチン結合能も酸性・中性粘液型粘液腺と基本的に類似する。第二に、低分泌型粘液腺と酸性・中性粘液型粘液腺との中間・移行像が認められる。したがって漿液腺という名称より低分泌型粘液腺の方がより妥当であると考えられ、分泌活動の休止状態にあるものもこれに含まれる。

肝内結石症の壁外腺では一つの腺房の辺縁部に酸性粘液型粘液腺があり、中心部に低分泌型粘液腺が見られ、両者の中間細胞が出現することがあるので、壁外腺増生のなかでもっとも重要なのが低分泌型粘液腺の増生であろう。これに対し壁内腺では、中性粘液型粘液腺の増生が目立ち、酸性粘液型のものも混在し、形態上それらがしばしば胆管被覆上皮と連続しているの、その由来は胆管被覆上皮にあると思われる。

IV. 肝内結石症における粘液の意義

従来から胆嚢結石と粘液との関係が指摘されており、胆石症では正常より胆汁中の粘液糖蛋白が増加し²⁵⁾²⁶⁾³³⁾、結石内に粘液糖蛋白が組織化学的³⁴⁾、生化学的³⁵⁾に、分光学的³⁶⁾³⁷⁾に証明されている。組織学的には胆嚢粘膜に粘液過分泌像が認められ^{38)~41)}、実験的胆嚢結石では結石形成以前に粘液腺組織が出現する^{38)40)42)~45)}、in vitroの結石形成実験では胆嚢粘液とビリルビンが結合し^{46)~48)}、核形成を増進させる⁴⁹⁾。このように粘液が結石の核形成および結石の成長増大に関与していると考えられる。Leeら²⁷⁾は胆嚢胆泥症例の検討で、胆泥中に多量の粘液が含まれると同時に、胆嚢上皮の粘液過分泌像と幽門腺化生を認めたとしており、胆石の核となってコレステロール結晶の形成につながるとしている。閉塞性黄疸に伴って肝内胆管に胆泥と微小結石を認めることがあり⁵⁰⁾、組織学的には、その主成分は過剰な粘液（中性および酸性）とビリルビンおよびビリルビカルシウム顆粒からなっており、これらが胆泥ならびに微小結石形成を促進するものと考えられる。しかしながら肝内結石症において増加する粘液の糖蛋白糖鎖には正常と変化がなく、その分泌量増加が第一義的に結石形成に関与するものと考えられる。粘液は本来粘性と弾力性を有するものであるから、分泌量増加が胆汁停滞を生じさせ、核形成を促進する一因となりうると考えられる。

結 論

1. 肝内胆管上皮およびその付属腺のレクチン結合能の所見から、用いた16種のレクチンを三群に大別できた。粘液非親和性細胞質親和性群はCon-A, VFA, PHA-Eの3種、粘液親和性細胞質親和性群はLcH,

PEA の 2 種, 粘液親和性細胞質非親和性群は STA, WGA, DBA, SBA, HPA, PNA, GS-I, MPA, RCA-I, UEA-I, Lotus の 11 種であった。

2. レクチンの糖蛋白糖鎖結合の特異性から, 肝内胆管系上皮の粘液糖蛋白内には α -D-N-Acetylglucosamine, α -D-Galactose, β -D-Galactose, α -L-Fucose が高率に存在すると考えられた。逆に α -D-Mannose, α -D-Glucose は粘液内には存在せず, 細胞質内非粘液部に存在すると考えられた。以上の所見から, 肝内胆管系上皮群が多様な粘液糖蛋白を分泌, 保有することが示唆された。

3. 肝内胆管付属腺を粘液染色により胆管壁内外の酸性粘液型粘液腺と中性粘液型粘液腺と低分泌型粘液腺に分類した。低分泌型粘液腺は従来漿液腺とされていたものであるが, 中性・酸性粘液型粘液腺への移行像を見ることがレクチン結合部位から, 粘液分泌能の低い状態にある粘液腺組織と考えられた。

4. 肝内胆管付属腺のレクチン結合能には酸性粘液型粘液腺と中性粘液型粘液腺との間および, 壁外腺と壁内腺との間で有意差は認められなかった。また肝内結石症肝と正常肝との間でも粘液に質的差は見られず, その量的増加が結石の形成増大に関与するものと考えられた。

5. 肝内結石症の壁内腺には, 中性粘液型粘液腺の増生が目立ち, そのレクチン陽性細胞率の値が中性粘液型粘液腺である幽門腺の値に近かった。したがって, 胆管被覆上皮由来の増生壁内腺が, 幽門腺化生を起こして, 中性粘液型粘液腺のパターンをとると考えられた。

6. 毛細胆管には WGA, RCA-I が肝細胞には Con-A, VFA, GS-I, MPA が陽性であった。

謝 辞

御指導と御校閲を賜りました恩師太田五六教授に深謝の意を表します。また御協力, 御援助を戴きました野々村助教授, 中沼講師をはじめ教職員の方々に御礼申し上げます。

文 献

- 1) Goldstein, I. J. & Hayes, C. E.: The lectins: Carbohydrate-binding proteins of plants and animals. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **35**, 127-340 (1978).
- 2) 大沢利昭, 森 良一編: レクチン。講談社サイエンティフィック。東京。1976.
- 3) Lis, H., Sharon, N.: Lectins: Their

chemistry and application to immunology. Sela, M. (ed.), p.429, *In* The antigens. Vol.4, Academic press, New York, 1977.

- 4) 佐藤栄一: レクチンの組織化学およびその応用。病理と臨床, **2**, 1418-1426 (1984).
- 5) Ham, A. W.: *Histology*, p709, 7th ed., J. B. Lippincott Co., Philadelphia and Tronto, 1974.
- 6) Leeson, C. R. & Leeson, T. S.: *Histology*, p390, 3rd ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia, London and Tronto, 1976.
- 7) 寺田忠史: ヒト正常肝, 肝内結石症および肝内胆管拡張症における肝内胆管付属腺の形態学的研究。十全医会誌, **93**, 599-619 (1984).
- 8) 中沼安二, 太田五六, 永川宅和, 松原藤継: 肝内結石症の病理形態像。日消会誌, **78**, 874-882 (1981).
- 9) Yamamoto, K.: Intrahepatic periductal glands and their significance in primary intrahepatic lithiasis. *Jpn. J. Surg.*, **12**, 163-170 (1982).
- 10) 中沼安二, 太田五六, 山口幸二: 肝内結石症の形態学的検索—全国調査報告—, 昭和 58 年度厚生省難治性疾患肝内結石症調査研究班・成因分科会病理小委員会, 肝内結石症の形態学的観察とその病因的考察—全国調査報告その他。p1-34, (1984).
- 11) Laitio, M.: Morphology and histochemistry of non-tumorous gallbladder epithelium. A series of 103 cases. *Path. Res. Pract.*, **167**, 335-345 (1980).
- 12) Laitio, M. & Terho, T.: Polysaccharides of metaplastic mucosa and carcinoma of the gallbladder. *Lab. Invest.*, **32**, 183-189 (1975).
- 13) Spicer, S. S.: Diamine methods for differentiating mucosubstances histochemically. *J. Histochem. Cytochem.*, **13**, 211-234 (1965).
- 14) Hsu, S. M., Raine, L. & Fanger, H.: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.*, **29**, 577-580 (1981).
- 15) Hsu, S. M. & Raine, L.: Versatility of biotin-labeled lectins and avidin-biotin-peroxidase complex for localization of carbohydrate in tissue section. *J. Histochem. Cytochem.*, **30**, 157-161 (1982).
- 16) 辻 勉, 大沢利昭: レクチンとその糖結合特異性。蛋白質核酸酵素, **28**, 118-131 (1983).
- 17) Reid, L.: Secretory cells and their glycoproteins in health and disease. *Br. Med. Bull.*, **34**, 9-16 (1979).

- 18) **Stein, M. D., Howard, I. K. & Sage, H. J. :** Direct binding studies of *Lens culinaris* hemagglutinin with simple saccharides. *Arch. Biochem. Biophys.*, **146**, 353-355 (1971).
- 19) **Hayes, C. E. & Goldstein, I. J. :** Equilibrium dialysis and cell binding studies on *Bandeiraea simplicifolia* lectin. *J. Biol. Chem.*, **250**, 6837-6840 (1975).
- 20) **Pospisilova, J., Entlicher, G. & Kocourek, J. :** A receptor which does not conform to the so called sugar specificity of the pea phytohemagglutinin. *Biochim. Biophys. Acta*, **362**, 593-597 (1974).
- 21) **Steck, T. L. & Wallack, D. F. H. :** The binding of kidney-bean phytohemagglutinin by ehrlich ascites carcinoma. *Biochim. Biophys. Acta*, **97**, 510-522 (1965).
- 22) **Kawaguchi, T., Matsumoto, I. & Osawa, T. :** Studies on competitive binding of lectins to human erythrocytes. *Biochemistry*, **13**, 3169-3173 (1974).
- 23) **Reid, L. & Clamp, J. R. :** The biochemical and histochemical nomenclature of mucus. *Br. Med. Bull.*, **34**, 5-8 (1978).
- 24) **Clamp, J. R. :** Mucus in health and disease. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **89**, 1-15 (1977).
- 25) **Bouchier, I. A. D., Cooperband, S. R. & Elkodsi, B. M. :** Mucous substances and viscosity of normal and pathologic human bile. *Gastroenterology*, **49**, 343-353 (1965).
- 26) **Lee, S. P., Lim, T. H. & Scott, A. J. :** Carbohydrate moieties of glycoproteins in human hepatic and gallbladder bile, gallbladder mucosa and gall stones. *Clin. Sci.*, **56**, 533-538 (1979).
- 27) **Lee, S. P. & Nicholls J. F. :** Nature and composition of biliary sludge. *Gastroenterology*, **90**, 677-687 (1986).
- 28) **Pearson, J. P., Kaura, R., Taylor, W. & Allen, A. :** The composition and polymeric structure of mucus glycoprotein from human gallbladder bile. *Biochim. Biophys. Acta*, **706**, 221-228 (1982).
- 29) **Chou, S. T. & Gibson, J. B. :** The histochemistry of biliary mucins and the changes caused by infestation with *Clonorchis sinensis*. *J. Pathol.*, **101**, 185-197 (1970).
- 30) **Esterly, J. R. & Spicer, S. S. :** Mucin histochemistry of human gallbladder : changes in adenocarcinoma, cystic fibrosis, and cholecystitis. *J. Nat. Cancer Inst.*, **40**, 1-11 (1968).
- 31) **Bloom, W. & Fawcett, D. W. :** A textbook of histology. 12th ed., ch. 4, W. B. Saunders Co., Philadelphia, London and Tronto, 1975.
- 32) **Fawcett, D. W. :** The Cell. 2nd ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia, London and Tronto, 1981.
- 33) **Matsushiro, T., Nemoto, T., Endo, M. & Yoshizawa, Z. :** Glycoproteins and sulfated glycoproteins isolated from human bile. *Clin. Chim. Acta.*, **30**, 645-655 (1970).
- 34) **Wormack, N. A., Zeppa, R. & Irvin, G. L. :** The anatomy of gallstones. *Ann. Surg.*, **157**, 670-686 (1963).
- 35) **King, J. S. & Boyce, W. H. :** Analysis of renal calculous matrix compared with some other matrix materials and with uromucoid. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 455-461 (1959).
- 36) **Sutor, D. J. & Wooley, S. E. :** The organic matrix of gallstones. *Gut*, **15**, 487-491 (1974).
- 37) **Sutor, D. J. & Wooley, S. E. :** A statistical survey of the composition of gallstones in eight countries. *Gut*, **12**, 55-64 (1971).
- 38) **Lee, S. P. & Scott, A. J. :** The evolution of morphologic changes in the gallbladder before stone formation in mice fed a cholesterol-choleic acid diet. *Am. J. Pathol.*, **108**, 1-8 (1982).
- 39) **Elving, G. :** Crypts and ducts in the gallbladder wall. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, **49**, Suppl. 135, p1-45, (1960).
- 40) **Lee, S. P. :** Hypersecretion of mucus glycoprotein by the gallbladder epithelium in experimental cholelithiasis. *J. Pathol.*, **134**, 199-207 (1981).
- 41) **Wormack, N. A. :** The development gall stones. *Surg. Gyne. Obst.*, **133**, 937-945 (1971).
- 42) **Lee, S. P. & Scott, A.J. :** Further observations in lincomycin-induced cholelithiasis in Guinea-pigs. *J. Pathol.*, **131**, 117-125 (1980).
- 43) **Hayward, A. F., Freston, J. W. & Bouchier, I. A. D. :** Changes in the ultrastructure of gallbladder epithelium in rabbits with experimental gallstones. *Gut*, **9**, 550-556 (1968).
- 44) **Freston, J. W., Bouchier, I. A. D. & Newman, J. :** Biliary mucous substances in dehydrocholesterol-induced cholelithiasis. *Gastroenterology*, **57**, 670-678 (1969).
- 45) **Wahlin, T. :** Effects of lithogenic diets on

mouse gallbladder epithelium. *Virchows Arch. B Cell pathol.*, **22**, 273-286 (1976).

46) Nagashima, H., Masubuchi, M. & Yoshizawa, Z.: Sulfated glycoproteins capable of coagulating calcium carbonate isolated from pathological human bile. *J. Biochem.*, **75**, 779-786 (1974).

47) Yamashita, T.: An experimental study on coagulating effect of various mucosubstances on calcium carbonate suspension. *Tohoku J. exp. Med.*, **105**, 75-85 (1971).

48) Smith, B. F. & LaMont, J. T.: Bovine gallbladder mucin binds bilirubin in vitro. *Gastroenterology*, **85**, 707-712 (1983).

49) Levy, P., Smith, B. F., Atkinson, D. & LaMont, J. T.: Human gallbladder mucin enhances in vitro nucleation of cholesterol monohydrate crystals (abstr). *Gastroenterology*, **84**, 1382 (1983).

50) 齋藤勝彦, 太田五六: 肝外胆道閉塞に伴った早期肝内結石症の検討 (抄録). *肝臓*, **27**, 1211 (1986).

Legends for photographs

Photo 1. The extramural mucous glands of the stone-containing duct stained by dPAS·AB pH 2.5 (a) and HID·AB pH 2.5 (b). AB-positive (a) and HID-positive (b) acid mucin predominates largely dPAS-positive neutral mucin. ×200.

Photo 2. Electron micrograph of the extramural mucous glands. There are many mucous granules containing low electron density materials in the cytoplasm mostly of supranuclear region and scanty organelles.

Photo 3. The intramural mucous glands of the stone-containing duct stained by dPAS·AB pH 2.5 (a) and HID·AB pH 2.5 (b). Note dPAS-positive (a) and AB- and HID-negative (b) neutral mucin in the cytoplasm. ×200.

Photo 4. The extramural poorly secretory glands of the stone-containing duct stained by dPAS·AB pH 2.5. There is a little amount of mucin in the luminal border and subborder area. AB-positive acid mucin predominates. ×200.

Photo 5. Electron micrograph of the extramural poorly secretory glands. There are a few mucous granules (arrows) in the apical portion and scanty rough endoplasmic reticulum and

mitochondria.

Photo 6. The bile duct epithelium in normal liver stained by dPAS·AB pH 2.5. There is a little amount of mucin in the luminal border and subborder area. AB- positive acid mucin predominates. ×200.

Photo 7. Pyloric glands (a), foveolar epithelium (b) and duodenal epithelium (c) stained by dPAS·AB pH 2.5. dPAS-positive neutral mucin was predominantly found in a and b, while there is a little amount of AB-positive acid mucin in the luminal border of duodenal epithelium (c). ×200.

Photo 8. The intramural acid mucin glands of the stone-containing duct treated with Con-A (a), PEA (b) and WGA (c). Con-A incorporates with only the non-mucinous portion of the cytoplasm (a), while PEA and WGA incorporate with mucin-positive area of cytoplasm (b, c). ×200.

Photo 9. The extramural poorly secretory glands of the stone-containing duct treated with Con-A (a), PEA (b) and WGA (c). Con-A reacts with the cytoplasm (a). WGA binds with mucin-positive luminal border and subborder area (c). PEA reacts with not only the mucin-negative cytoplasm but also mucin-positive luminal border (b). ×200.

Photo 10. The bile duct epithelium in normal liver treated with Con-A (a), PEA (b) and WGA (c). Note Con-A and PEA-positive cytoplasm but mucin-positive luminal border is avoided (a, b). WGA reacts with either mucin-positive luminal border or subapical cytoplasm (c). ×200.

Photo 11. Pyloric glands (a), foveolar epithelium (b) and duodenal epithelium (c) treated with Con-A. Con-A does not bind with mucin-positive areas in the apical portions, but with the other parts of cytoplasm. ×200.

Photo 12. Pyloric glands (a), foveolar epithelium (b) and duodenal epithelium (c) treated with WGA. WGA reacts with mucin-positive areas, but not with the non-mucinous cytoplasm. ×200.

Photo 13. Bile ductular epithelium in normal liver treated with Con-A (a) and WGA (b). Con-A binds with the non-mucinous cytoplasm (a) but WGA binds with only the luminal border (b). ×

200.
Photo 14. Hepatocytes from liver with hepatolithiasis. The bile canalicular membranes are positive for RCA-I (a, arrows) and WGA (b,

arrows). Con-A reacts with the cytoplasm of almost all hepatocytes (c), while GS-I shows a focal accumulation within the cytoplasm (d). × 200.

Lectin Binding Activity of the Epithelium of the Intrahepatic Bile Duct Glands and Covering Epithelium of the Duct in Normal Human Livers, Livers with Hepatolithiasis and Gastric Mucosa.—a Comparative Study Katsuhiko Saito, 2nd Department of Pathology (Director : Prof. G. Ohta), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., **95**, 930—945 (1986)

Key words : lectin, mucus, glycoprotein, hepatolithiasis, intrahepatic periductal gland.

Abstract

Previous studies from our laboratory indicated that the proliferation of intrahepatic periductal glands is one of the characteristic histopathological features in hepatolithiasis and that the glands are capable of producing the mucin. Sixteen lectins, known to have an activity to bind the specific carbohydrate residue, were used in the present study to examine the carbohydrate moiety of the mucin of intrahepatic bile duct system in normal (twelve in number) and hepatolithiasis (twelve) livers. Lectins were stained by the avidin-biotin-peroxidase complex method and histochemical stains for mucin were performed simultaneously on serial sections. The results obtained were as follows.

(1) A battery of sixteen lectins were classified into three groups, on the basis of whether the lectin binding activities were observed in mucin-positive or -negative regions of the cytoplasm. Lectins of the first group, which did not bind with mucin-positive regions but with mucin-negative regions of the cytoplasm, included Con-A, VFA and PHA-E. Lectins of the second group, which bound both with mucin-positive and -negative portions, consisted of LcH and PEA. Lectins in the third group, which bound only with mucin-positive regions, were STA, WGA, DBA, SBA, HPA, PNA, GS-I, MPA, RCA-I, UEA-I and Lotus.

(2) Based on the findings of the carbohydrate specificity of binding with individual lectins, the mucin of intrahepatic bile duct system in normal and diseased livers contained abundant N-acetylglucosamine, galactose and fucose but contained neither mannose nor glucose. The latter two were diffusely stained in the cytoplasmic portion having no mucin.

(3) The periductal glands were divided into three types : acid, neutral, and little or no mucin. The lectin binding activity, however, did not differ between the glands of acid mucin type and those of neutral mucin type. Also, no difference in the quality of mucin was found between normal and hepatolithiasis livers.

(4) The little or no mucin type of the gland often revealed a transition to the acid or neutral mucin type in hepatolithiasis livers. This suggests that the former is a precursor of the latter two.

(5) A close similarity in the lectin binding capacity between the neutral mucin-positive periductal glands and the pyloric glands implies that periductal glands of neutral mucin type may result from the pyloric gland metaplasia.

