

## うっ血性肝線維症における伊東細胞の形態学的変化

鳥取大学医学部病理学第二教室 (主任 市原岡一教授)

鳥取大学医学部内科学第一教室 (主任 真柴裕人教授)

足立正光

Morphological changes of fat-storing cells  
in experimental constriction of the inferior vena cava in rats

Masamitsu ADACHI

*Department of Pathology and Department of Internal Medicine,  
Faculty of Medicine, Tottori University, Yonago 683, Japan*

## ABSTRACT

There were few reports which described the ultrastructural changes of chronic passive congestion of the liver. Therefore, the cellular mechanisms of fibrogenesis in congestive liver remained unknown. In this study, hepatic congestion in rats was induced by partial obstruction of the inferior vena cava. In early stages of congestion, focal necroses appeared at centrilobular areas with inflammatory cellular infiltrations. The transformed fat-storing cells proliferated in necrotic areas, and plaques of fibrous tissue formed at these sites a few days after obstruction. In late stages of congestion, transformed fat-storing cells proliferated in Disse spaces without necroses of hepatocytes and without cellular infiltrations. Finally, collagen bundles developed in Disse spaces. Fat-storing cells have been considered to have great potential for fibrogenesis in congestive liver fibrosis. And it is probable that the elevation of sinusoidal pressure or the extension of sinusoidal wall directly activates the formation of collagen by the fat-storing cells.

(Accepted on November 5, 1991)

高度の慢性心不全患者の肝にはしばしばうっ血と小葉中心性の線維化がみられ、ときにはグリソン鞘を取り囲む線維帯を形成し、うっ血性ないし心臓性肝硬変症と呼ばれる像を呈する<sup>21)</sup>。このとき小葉内の線維化は肝細胞の壊死による細網線維の凝集だけではなく新たな collagen の産生がおこっているとされている<sup>10)19)29)</sup>。しかしこのような病態でいかなる細胞が collagen 合成に関与するかは不明であった。最近、小葉内の collagen 合成細胞としての伊東細胞の働きが重要視されている<sup>2)8)11)13)14)15)27)</sup>。伊東細胞は哺乳類の肝の Disse

腔にある細胞で通常はビタミン A の貯蔵や類洞の支持といった働きをもつが、アルコール性肝線維症<sup>13)15)</sup>や四塩化炭素障害肝の線維化<sup>11)14)</sup>等の病態では細胞質の構造を transform させ collagen 合成を行なうと考えられている。しかしうっ血肝の線維化においては伊東細胞の働きを検索した報告はほとんどなく、今回の実験の目的はこの点を明らかにすることにある。

実験的うっ血肝作製法として以前から胸腔内<sup>9)29)</sup>や肝と横隔膜の間<sup>10)18)</sup>で下大静脈を狭窄させる方法が行なわれてきたが、いずれも手技的に

煩雑で成功率も低く、また線維化をきたすまでに長期間の観察を要した。今回の実験では Nayak<sup>18)</sup>らの方法に準じるが、より短期間かつ確実に線維化を生じるよう一部改良した下大静脈狭窄法を行った。

### 材料と方法

実験動物には体重150~200gのWister系雄性ラットを用い、24時間の絶食の後ペントバルビタール20~30mg/kgを腹腔内に注入して麻酔した。腹部を正中切開した後、背部に10mlのデスポシリンジを置き肝鎌状間膜を切離すると下大静脈が露出した。これに絹糸をかけ外径1mmのポリエチレンカテーテルを添えてしっかりと結紮した後、カテーテルを抜去すると下大静脈の径は元の径の約1/4となった。腹壁を筋層、皮膚の2層で縫合し手術を終了した。各操作は無菌的に行ない、出血量も軽微であった。

手術24時間後、48時間後、7日後、6週間後にラットの肝を摘出し以下の手技にしたがって観察した。まず光顕的観察のため肝を10%緩衝ホルマリン液によって灌流固定し、左内側葉<sup>12)</sup>から組織を切り出し、パラフィン包埋の後ヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色・鍍銀染色を行なった。同時に腎・脾を10%緩衝ホルマリン液で浸漬固定しHE染色をした。次に電顕的観察のために肝を1.5%グルタルアルデヒド液で灌流固定し、直ちに左内側葉から1mm角に組織を切り出し1.5%グルタルアルデヒド液で浸漬固定、0.1Mリン酸緩衝液で洗浄後、1%4酸化オスミウム液で後固定した。固定後エタノール上昇系列で脱水、酸化プロピレンで透徹し、EPON812樹脂に包埋した。超薄切した切片を、酢酸ウランとクエン酸鉛で2重染色し、透過型電子顕微鏡 (日立H-300型) で観察した。続いて蛍光顕微鏡での観察のために、同様の手術をした一群のラットに屠殺2週間前にビタミンA 132万 IU/kg<sup>27)</sup>を分割して皮下投与した。10%緩衝ホルマリン液で肝を固定後、マイクロスライサー (DOSAKA EM CO.) で厚さ30 $\mu$ mに薄切し、波長330nmの紫外光の蛍光顕微鏡で観察した。

### 結 果

#### 1. 肉眼所見

うっ血24時間では肝は暗赤色調で腫大し、小葉

構造が強調されていた。うっ血6週間では肝表面は凹凸不整で、灰白色の結合組織によって比較的微細な結節を作っていた (図2)。しばしば大網が癒着していた。

#### 2. 光学顕微鏡所見

うっ血24時間では、中心静脈と周囲の類洞は著明に拡張し、一部の中心静脈近傍で肝細胞が巣状に壊死し、出血と好中球・組織球の浸潤を認めた。肝細胞の空胞変性がびまん性に認められた (図3)。鍍銀染色では壊死部の線維形成は見られなかった。うっ血48時間では、壊死部の細胞浸潤は減少し結合組織が増加していた。肝細胞の空胞変性も見られなくなった。新たな肝細胞壊死は見られなかった。鍍銀染色ではやはり線維の増加は見られなかった。うっ血7日間では、壊死の部分が結合組織で置換され好中球、組織球はほとんど見られなかった (図4)。またこの結合組織の周囲や中心静脈周囲で類洞外への多数の赤血球の浸出が見られた。鍍銀染色では中心静脈周囲の結合組織では膠原線維が密に集まり、周囲の類洞壁の細網線維も増加していた。うっ血6週間では、中心静脈周囲の結合組織は拡張し、隣接する中心静脈間を結ぶように伸び、小葉を分割するようになった (図5)。場所によっては結合組織がグリソン鞘を取り囲み、いわゆる反転小葉像<sup>21)</sup>を呈する部分も認められた (図6)。炎症細胞浸潤はほとんど見られなかった。鍍銀染色では結合組織内で膠原線維が著しく発達していた。

腎・脾の組織にはいずれも異常所見は見られなかった。

#### 3. 蛍光顕微鏡所見

うっ血24時間ではビタミンAの蛍光は肝小葉内に均等に分布していた。うっ血7日間では、中心静脈周囲に新たに生じた結合組織内にビタミンAの蛍光が密集していた。うっ血6週間では、拡張した結合組織に沿って蛍光が帯状に密集していた (図7)。

#### 4. 電子顕微鏡所見

うっ血24時間では巣状壊死部は肝細胞の崩壊産物や赤血球・好中球・マクロファージで占められていた。壊死部周囲ではDisse腔の拡張、肝細胞の微絨毛の減少と空胞変性が見られた。伊東細胞の密度、形態ともに異常は見られなかった。うっ血48時間の壊死部はマクロファージが主となり、肝細胞の崩壊産物や赤血球は貪食され、減少してい

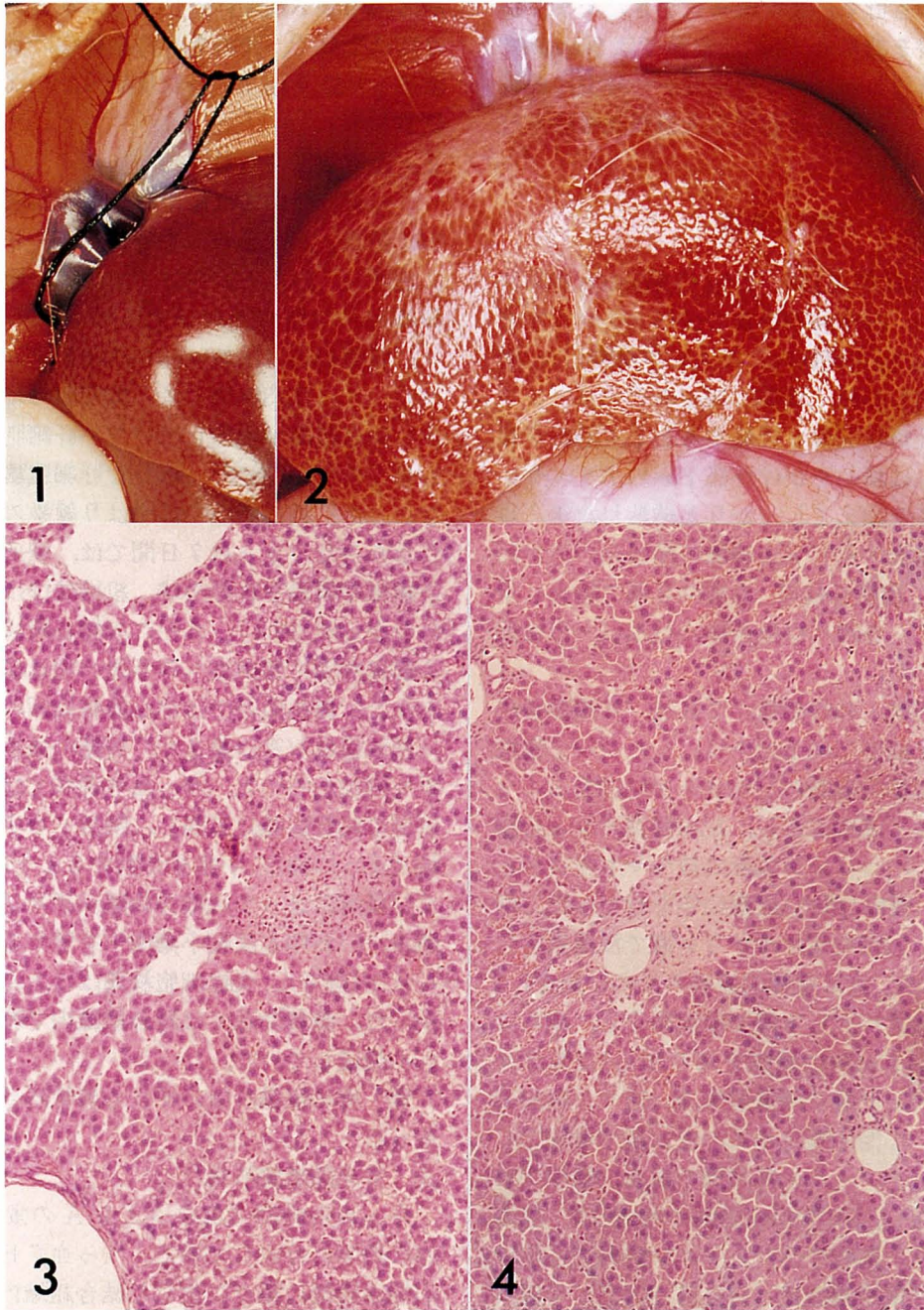


図1. 手術中のラット肝の肉眼像

肝と横隔膜の間で下大静脈に絹糸をかけている。

図2. うっ血6週間のラット肝の肉眼像

肝表面はうっ血し、明瞭な結節構造が見られる。

図3. うっ血24時間のラット肝の光顕像

中心静脈近傍の巣状壊死と好中球の浸潤が見られる。周囲の肝細胞は空胞変性している。  
HE 染色×400

図4. うっ血7日間のラット肝の光顕像

壊死部分が結合組織に置き換えられている。肝細胞の変性はみられない。類洞周囲に赤血球が浸出している。

HE 染色×400



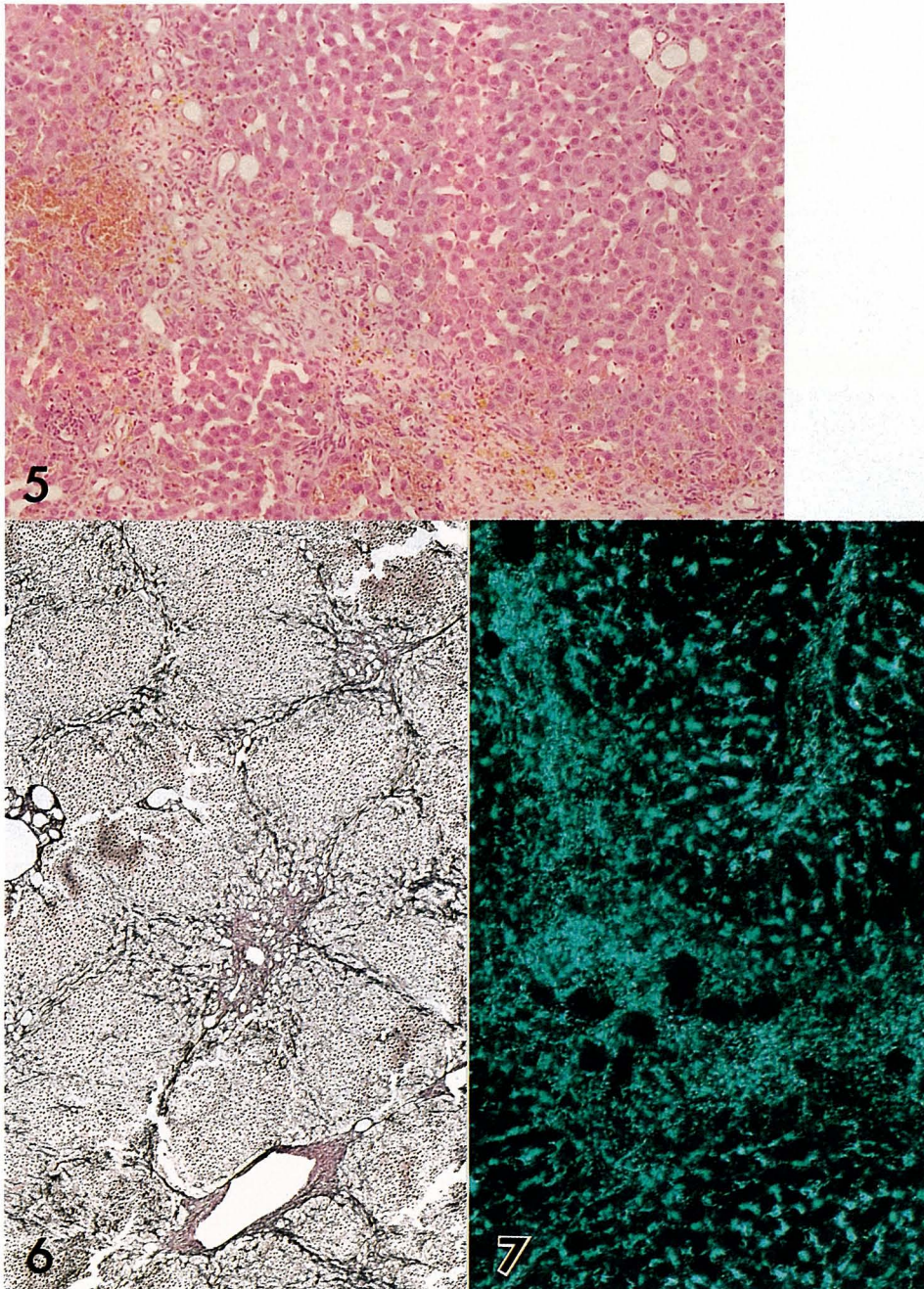


図5. うっ血6週間のラット肝の光顕像  
中心静脈をつなぐように小葉内に線維化が進行している。  
HE染色×400

図6. うっ血6週間のラット肝の光顕像  
中心静脈間をつなぎ、グリソン鞘を取り囲む結合組織形成が見られる。  
鍍銀染色×160

図7. うっ血6週間のラット肝の蛍光顕微鏡像  
中心静脈間をつなぐ結合組織に沿ってビタミンAの蛍光が帯状に集合している。  
×400



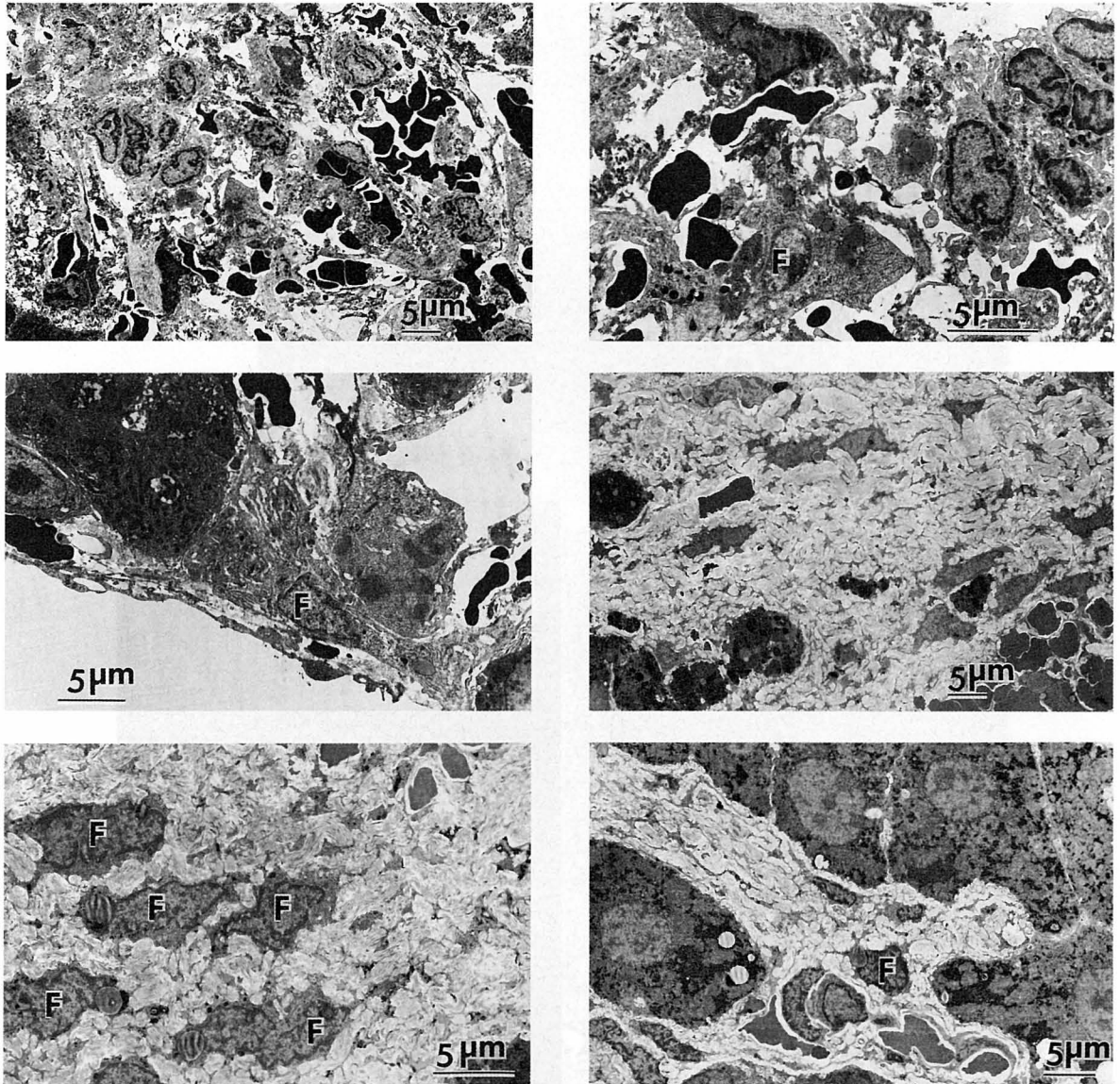


図8. うっ血48時間のラット肝の電顕像  
壊死部ではマクロファージ・好中球の浸潤が著しい。

図9. うっ血48時間のラット肝の電顕像  
壊死部の伊東細胞(F)はtransformし、粗面小胞体は拡張し脂肪滴は縮小している。

図10. うっ血48時間のラット肝の電顕像  
壊死部周囲のDisse腔でも伊東細胞(F)のtransformが見られる。

図11. うっ血6週間のラット肝の電顕像  
小葉中心部はcollagen線維束とtransformした伊東細胞によって置き換えられている。

図12. うっ血6週間のラット肝の電顕像  
小葉中心部の伊東細胞(F)は密度を増しcollagen線維束の間に突起を伸ばしている。

図13. うっ血6週間のラット肝の電顕像  
小葉内のDisse腔にもcollagen線維束とtransformした伊東細胞(F)が充満し、類洞と肝実質細胞の間を隔てている。

|     |     |
|-----|-----|
| 図8  | 図9  |
| 図10 | 図11 |
| 図12 | 図13 |

た(図8)。壊死部や周囲の Disse 腔の伊東細胞は transform し、粗面小胞体が拡張し脂肪滴の減少した線維芽細胞様の形態を示していた(図9, 図10)。伊東細胞の密度の増加は見られず、collagen 線維の増生も見られなかった。壊死部周囲の肝細胞の空胞変性はほとんど消失していた。うっ血7日間では、中心静脈周囲の結合組織は主に collagen 線維束と transform した伊東細胞でできており、若干の赤血球やマクロファージが混在していた。結合組織周囲の Disse 腔には多数の赤血球が浸出し、その間に軽度の collagen 線維の沈着と transform した伊東細胞の増加を認めた。グリソン鞘周囲の伊東細胞には変化を認めなかった。うっ血6週間では、結合組織の部位はほとんど密集した collagen 線維束で構成され(図11)、transform した伊東細胞がこれらの間に星状に突起を伸ばしていた(図12)。結合組織の辺縁では Disse 腔に collagen 線維が充満したため肝細胞は類洞との接触を絶たれていた(図13)。collagen 線維に囲まれ萎縮した肝細胞も見られた。

### 考 察

うっ血肝の実験的モデルについては多くの報告があり、その中には慢性心不全患者の肝臓とほぼ同様の組織変化を得られたとする報告もある<sup>4)9)10)18)29)</sup>。しかしこれらの多くは胸腔内で下大静脈を狭窄させる方法を採用しており、手技的に煩雑で侵襲も大きく、そのため強いうっ血が作れず、組織変化をきたすまでに長期間の観察を要していた。Nayak<sup>18)</sup>らはラットを用い、肝と横隔膜の間で下大静脈を狭窄させうっ血肝を作成したが、軽度の線維性変化しか得られなかった。Kawano<sup>10)</sup>は家兎の下大静脈をやはり肝と横隔膜の間で狭窄させたが、小葉中心性の線維化が見られるまでに30日を要した。我々は、比較的簡便、短期間かつ確実に肝の線維性変化を得るために、Nayak らの手技を一部改編し実験を行なった。すなわちエーテル麻酔をペントバルビタール麻酔に替えてより安定した麻酔状態に置き、より高度の狭窄を安全に得られるようにしたことが相違点である。

我々の実験では24時間以内に強い細胞浸潤を伴う小葉中心性の肝細胞壊死が生じ、7日後にはこの部位が結合組織に置き換わった。その後、周囲の Disse 腔に肝細胞壊死や細胞浸潤を伴わない線維化が進行した。結合組織に囲まれた肝細胞の萎

縮が見られた。これらの組織変化から、うっ血肝の線維化は2つの機序に分けて考えるのが妥当と思われた。すなわち1つは急性の循環不全による肝細胞壊死とその修復機転、もう1つはうっ血による類洞周囲の線維化である。極早期の中心性壊死は Nayak らや Kawano の報告には記載されていないが、臨床では心不全患者の急性増悪時に見られており<sup>11)</sup>うっ血肝の臨床像をより良く模していると思われる。臨床上、心不全患者の肝臓の組織変化は心不全の程度や期間とあまり相関しないが、急性増悪を繰り返す例に強い<sup>13)</sup>とされるのは、このような二つの機序が重なっているためと考えられる。

肝小葉内には通常線維芽細胞は見られないので、この部位での collagen 産生を行なうのはいかなる細胞であるか、については種々の意見がある<sup>6)16)20)25)</sup>。近年は伊東細胞にその起源を求める意見が多い。McGee<sup>14)</sup>ら、Kent<sup>11)</sup>らは四塩化炭素障害肝の中心性壊死の部位を観察し、まず伊東細胞と線維芽細胞との両方の特徴をもつ細胞が増加し、引き続いて collagen の沈着が生じることを報告した。Enzan<sup>7)</sup>はやはり四塩化炭素障害肝で一旦伊東細胞に取り込まれた<sup>3</sup>H-proline が間質の collagen に移行することを報告した。また Mak<sup>13)</sup>ら、Minato<sup>15)</sup>らはアルコール障害肝において collagen 沈着の程度に応じて伊東細胞が粗面小胞体を発達させ、より強く線維芽細胞様の形態に変化したことから伊東細胞が主たる collagen 産生細胞であるとした。うっ血肝については Tanaka<sup>23)</sup>らが慢性うっ血肝の生検標本において、酵素組織化学的に伊東細胞の collagen 合成への関与を推察しているが、電顕的検索は行っていない。今回の実験ではうっ血48時間後の壊死部位とその周囲で伊東細胞はいち早く線維芽細胞様の形態に transform しており、引き続いて伊東細胞の増殖と細胞周囲の collagen の沈着が見られた。collagen 線維束は多くが伊東細胞の細胞突起に囲まれており、その分布も伊東細胞との関連を強く疑わせた。また壊死部においては肝実質細胞や内皮細胞は壊死崩壊しており、浸潤細胞である好中球やマクロファージには Collagen 合成能力は認められないので、伊東細胞以外に collagen を産生する細胞は考え難い。一方、壊死部周囲の Disse 腔の collagen の起源については、transform した伊東細胞と共に肝実質細胞や内皮細胞も存在するので、

にわかには断定できない。しかし collagen の分布が肝細胞膜直下や内皮細胞直下に限局せず拡張した Disse 腔全体に広がっていることと、伊東細胞の特徴的な形態変化と合わせて考えると、やはり伊東細胞が collagen 産生の主たる役割を果たしていると考えるのが妥当と思われる。

近年、伊東細胞を transform させ collagen 合成能を活性化させる多くの因子が報告されている<sup>26)</sup>。大別すると ethanol 代謝物の様に外部からの化学物質に由来する因子と、マクロファージや kupfer 細胞等由来の内因性の因子に分かれる。アルコール性肝線維症では前者が関与し<sup>17)</sup>、四塩化炭素障害肝の線維化は後者が関与する<sup>22)</sup>と考えられている。今回の実験では、極早期の壊死巣には肝細胞の崩壊と好中球・マクロファージの強い浸潤が見られるのに対し、その後の小葉内の線維化では肝細胞の壊死はみられず、ほとんど細胞浸潤も見られないまま線維化が進行した。この時、壊死巣の線維化は四塩化炭素障害肝と同じく、マクロファージ等の炎症細胞由来の因子が伊東細胞を活性化させて collagen を産生させると考えて良いと思われる。しかし後者の肝細胞の壊死を伴わない Disse 腔の線維化についてはいずれの因子も当てはまらない。しかもうっ血48時間ですでに Disse 腔内の伊東細胞の transform が見られることから、極早期から持続して作用している因子であると思われる。うっ血肝に見られるこのような Disse 腔の線維化は他の病態における線維化に比べ特異的であり、Safran<sup>19)</sup>らはこれを静脈圧の上昇に対する防御機構であろうと考えたが、線維化を起こす因子については不明であると記載している。田中<sup>23)24)</sup>らは肝の様々な病態において、線維蛋白合成を促す因子として局所の循環異常による hypoxic な環境を挙げるとともに、うっ血肝においては局所の類洞圧の上昇が重要な役割を果たすのではないかと述べている。Whelan ら<sup>28)</sup>は心不全を伴わない慢性肺疾患による低酸素症患者で肝機能を詳細に調べ、低酸素症のみでは肝機能障害を来さないと報告している。今回の実験では小葉中心部の拡張した類洞周囲で線維化が進行しているのが見られた。このことから我々は、うっ血による局所の類洞圧の上昇、ないしはそれによる機械的伸展が直接伊東細胞に作用して transform を引き起こし、collagen 合成を促進する可能性を提案したいと思う。Carver<sup>5)</sup>らは機械的伸展が線

維芽細胞の collagen 合成を促進することを報告しており、線維芽細胞と近縁の細胞ないし前駆細胞であるとされる伊東細胞にも同様の性質があると考えことは十分に合理的であると思われる。今後はうっ血肝よりの分離培養によって transform した伊東細胞の特性を検討する必要があるであろう。

## 結 語

ラットに実験的にうっ血肝を作成し、うっ血肝の線維化における collagen 産生細胞について検討した。

1. ラットの下大静脈を径約 1 mm に狭窄すると、6 週間でいわゆる心臓性肝硬変症の組織像が得られた。
2. うっ血肝の線維化は 2 種類の経過で進行した。1 つは急性期の小葉中心性壊死とその修復、もう 1 つは慢性期の壊死部周囲の Disse 腔の線維化である。
3. 上記の 2 つの経過において、いずれも線維化をきたす部位の伊東細胞が線維芽細胞様に細胞形態を変化させていた。
4. うっ血肝線維症の Collagen 産生細胞として、伊東細胞が大きな役割を果たしていると思われた。
5. 伊東細胞を transform させ、その collagen 合成能を促進する因子として類洞圧の上昇とそれによる機械的伸展が考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導御校閲頂いた鳥取大学医学部病理学第二教室市原岡一教授、同内科学第一教室真柴裕人教授に深謝致します。また直接御指導頂いた島根医科大学動物実験施設権田辰夫助教授並びに、鳥取大学医学部病理学第二教室秋吉英雄助手、豊島盛久技官をはじめ教室員各位に厚く御礼申し上げます。

なお本論文の要旨は第80回日本病理学会総会、第23回日本臨床電子顕微鏡学会において発表した。

## 文 献

- 1) Arcidi, J.M., Moore, G.W. and Hutchins, G.M. (1981). Hepatic morphology in cardiac dysfunction: A clinicopathologic study of 1000 subjects at autopsy. *Am J Pathol* **104**, 159-166.
- 2) Blomhoff, R. and Wake, K. (1991). Perisinusoidal stellate cells of the liver:

- important role in retinol metabolism and fibrosis. *FASEB J* **5**, 271-277.
- 3) Boland, E.W. and Willius, F.A. (1938). Changes in the liver produced by chronic passive congestion. *Arch Int Med* **62**, 723-739.
  - 4) Bolton, C. and Barnard, W.G. (1931). The pathological occurrences in the liver in experimental venous stagnation. *J Path Bact* **34**, 701-709.
  - 5) Carver, W., Nagpal, M.L., Nachtigal, M., Borg, T.K. and Terracio, L. (1991). Collagen expression in mechanically stimulated fibroblasts. *Circ Res* **69**, 116-122.
  - 6) Clement, B., Rissel, M., Peyrol, S., Mazurier, Y., Grimaud, J.A. and Guillouzo, A. (1985). A procedure for light and electron microscopic intracellular immunolocalization of collagen and fibronectin in rat liver. *J Histochem Cytochem* **33**, 407-414.
  - 7) Enzan, H. (1984). Ito cells (fat-storing cells) and collagen formation in acute carbon tetrachloride liver injury. *Recent Adv RES Res* **24**, 48-56.
  - 8) Friedman, S.L., Roll, F.J., Boyles, J. and Bissell, D.M. (1985). Hepatic lipocytes: The principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proc Natl Acad Sci USA* **82**, 8681-8685.
  - 9) Gibson, J.B. (1959). Hepatic lesions and ascites in experimental longterm constriction of the inferior vena cava in the rat. *Brit J Exp Pathol* **15**, 183-194.
  - 10) Kawano, H. (1957). Experimental study on the histogenesis of "congestive cirrhosis" of the liver: With special reference to the histochemical reactions. *Tokushima J Exp Med* **3**, 152-175.
  - 11) Kent, G., Gay, S., Inoue, T., Bahu, R., Minick, O.T. and Popper, H. (1967). Vitamin A-containing lipocytes and formation of type collagen in liver injury. *Proc Natl Acad Sci USA* **73**, 3719-3722.
  - 12) 小暮公孝, 石崎政利, 加藤良二, 根本雅明, 中村卓次, 長町幸雄 (1986). ラット肝葉の呼称について. *肝臓* **27**, 1155-1160.
  - 13) Mak, K.M. and Lieber, C.S. (1988). Lipocytes and transitional cells in alcoholic liver disease: A morphometric study. *Hepatology* **8**, 1027-1033.
  - 14) McGee, J.O.D. and Patrick, R.S. (1972). The role of perisinusoidal cells in hepatic fibrogenesis: An electron microscopic study of acute carbon tetrachloride liver injury. *Lab Invest* **26**, 429-440.
  - 15) Minato, Y., Hasumura, Y. and Takeuchi, J. (1983). The role of fat-storing cells in Disse space fibrogenesis in alcoholic liver disease. *Hepatology* **3**, 559-566.
  - 16) 水戸廻郎, 草野満夫, 河野透 (1983). 硬変肝細胞生体内培養実験からみた硬変肝細胞の特性. *最新医学* **38**, 1089-1096.
  - 17) Moshage, H., Casini, A. and Lieber, C.S. (1990). Acetaldehyde selectively stimulates collagen production in cultured rat liver fat-storing cells but not in hepatocytes. *Hepatology* **12**, 511-518.
  - 18) Nayak, N.C., Mehrotra, R.M.L. and Mangalik, V.S. (1956). An experimental study of ascites produced after partial ligation of inferior vena cava. *Ind J Med Res* **44**, 403-413.
  - 19) Safran, A.P. and Schaffner, F. (1967). Chronic passive congestion of the liver in man: Electron microscopic study of cell atrophy and intralobular fibrosis. *Am J Pathol* **50**, 447-463.
  - 20) Sakakibara, K., Takaoka, T., Katsuta, H., Umeda, M. and Tsukada, Y. (1978). Collagen fiber formation as a common property of epithelial liver cell lines in culture. *Exp cell Res* **111**, 63-71.
  - 21) Sherlock, S. (1987). The liver in circulatory failure. Schiff, L. (ed.), *Disease of the liver*, 6th ed., pp.1051-1057. J.B. Lippincott Co., Philadelphia.
  - 22) Shiratori, Y., Geerts, A., Ichida, T., Takeo, K. and Wisse, E. (1986). Kupffer cells from CCl<sub>4</sub>-induced fibrotic livers stimulate proliferation of fat-storing cells. *J Hepatology*



- 3, 294-303.
- 23) Tanaka,M., Fukunaga,M., Watanabe,K., Kaneko,Y., Takahashi,T. and Ishikawa,E. (1981). Fat-storing cells (Ito cell) of human liver: Biological characteristics and changes occurring in circulatory disturbance. *Acta Pathol Jpn* **31**, 55-63.
- 24) 田中貢, 海原純子, 羽野寛, 下田忠和, 石川栄世 (1983). 肝線維化の病理. *最新医学* **38**, 1065-1073.
- 25) Tseng,S.C.G., Lee,P.C., Ells,P.F., Bissell, M., Smuckler,E.A. and Stern,R.(1982). Collagen production by rat hepatocytes and sinusoidal cells in primary monolayer culture. *Hepatology* **2**, 13-18.
- 26) Tsukamoto,H., Gaal,K. and French,S.W. (1990). Insights into the pathogenesis of alcoholic liver necrosis and fibrosis: Status report. *Hepatology* **12**, 599-608.
- 27) Wake,K.(1980). Perisinusoidal stellate cells (fat-storing cells, interstitial cells, lipocytes), their related structure in and around the liver sinusoids, and vitamin A-storing cells in extrahepatic organs. *Int Rev Cytol* **66**, 303-353.
- 28) Whelan,G., Pierce,A.K., Schenker,S. and Combes,B.(1969). Hepatic function in patients with hypoxemia due to chronic pulmonary disease. *Australian Ann Med* **18**, 243-247.
- 29) Zimmerman,H.M. and Hillsman,J.A. (1930). Chronic passive congestion of the liver: An experimental study. *Arch Pathol* **9**, 1154-1163.