

大腸組織における酵素抗体法による fibronectin の組織化学的研究

近畿大学医学部第1外科

松田 泰次 浜田 宏 安富 正幸

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY ON FIBRONECTIN OF THE LARGE INTESTINE BY IMMUNOPEROXYDASE TECHNIQUE

Taiji MATSUDA, Hiroshi HAMADA and Masayuki YASUTOMI

The 1st Department of surgery, Kinki University School of Medicine

酵素抗体法間接法を用いて、各種大腸組織における fibronectin (FN) の免疫組織化学的検討を行った結果、(1) 固定法では凍結切片で最も強い FN 活性が得られ、次いで凍結融解法であった。ホルマリン固定切片では活性低下がみられた。(2) FN は大腸正常粘膜上皮の基底膜および間質細胞に認められたが、粘膜上皮細胞内、細胞間隙および luminal border には認められなかった。(3) 大腸癌では FN 反応は一般には間質細胞以外には認められなかったが、高分化腺癌では基底膜にごく弱く認められることもあった。(4) 腺腫では基底膜に FN 反応が陽性のものと陰性のものがあり、異型性が高度になるほど FN 反応は減弱あるいは消失する傾向が認められた。

索引用語：fibronectin, 免疫組織化学, 酵素抗体法

I はじめに

fibronectin は1948年に Morrison¹⁾によりはじめてヒト血漿中より抽出され、fibrinogen の存在下に低温で沈澱することから、cold insoluble globulin と名づけられた。一方、Ruoslahti²⁾³⁾(1973, 1974), Hynes⁴⁾(1973), Yamada⁵⁾(1974)らが培養線維芽細胞より分子量200,000~250,000の高分子 glycoprotein を抽出し、これが cold insoluble globulin と免疫化学的に同種の蛋白であることが報告⁶⁾され、Kuusela⁷⁾(1976)らにより両者をあわせて fibronectin と名付けられた。しかし、fibronectin の生物学的役割に関しては十分に解明されていない。培養細胞を用いた研究^{8)~11)}では、fibronectin は組織構築あるいは malignant transformation に関与するといわれている。一方、in vivo で fibronectin の役割に関してはほとんど検討されていない。

本研究は酵素抗体法を用いて、手術的に切除された大腸組織における fibronectin の組織化学的研究を行い、fibronectin の局在を明らかにするとともに、組織

構築や malignant transformation との関係について検討した。

II 研究方法

1. 組織材料および組織固定法

組織材料は1975年より1982年までに近畿大学第1外科において、大腸癌およびポリープの診断のもとに切除された大腸組織である。切除後1時間以内に主病巣、主病巣辺縁部、正常粘膜および併存病変など数ヶ所から小組織片を採取した(図1)。大腸癌の組織学的分類は大腸癌取扱い規約¹²⁾に従い、大腸ポリープの組織学的分類は Morson の分類¹³⁾に従って、metaplastic polyp (hyperplastic polyp), adenoma 等に分類し、さらに adenoma を異型度によって異型 I 度, II 度, III 度の3段階に分類した¹⁴⁾(表1)。この分類は Jackman-Bearhs の分類¹⁵⁾とはほぼ一致している。

採取した各組織について、凍結切片、凍結融解法、10%緩衝ホルマリン固定などの方法で組織固定を行った。

2. 酵素抗体法

表1 大腸ポリープの組織学的分類

Schmieden-Westhues (1927)	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III			
Jackman-Beahrs (1968)	hypertrophic mucosal tag	adenomatous polyp mild	adenomatous polyp moderate	adenomatous polyp severe	Ca. in situ	invasive Ca.
Morson (1968)	metaplastic polyp	adenoma				
Kozuka (1975)	I	II III IV (grade based on pseudostratification)			V	
Muto (1975)	metaplastic polyp	atypia minimal	atypia mild	atypia moderate	severe	carcinoma
著者 (1980)	hyperplastic polyp	I	adenoma II	adenoma III	Ca. in situ	invasive Ca.

図1 組織材料

切除後1時間以内に主病巣, 主病巣辺縁部, 正常粘膜および併存病変など数カ所から小組織片を採取する。

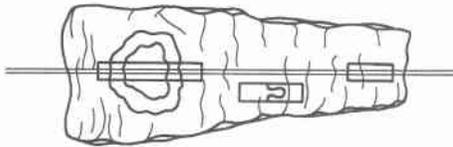


図2 正常粘膜上皮における fibronectin (FN) の局在。(凍結融解法)

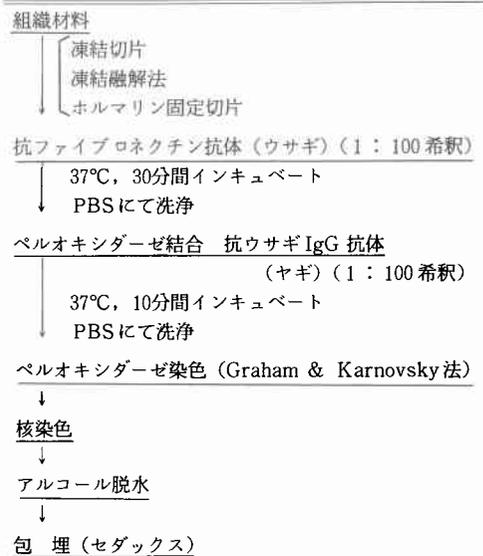
FN 活性は凍結切片についてよく保たれ, 組織構造の歪みも著明でない。



抗 fibronectin 血清は rabbit anti-fibronectin antibody (E-Y 社) および monoclonal mouse anti-fibronectin antibody (Sera-Lab 社) を用いた。

各種切片について酵素抗体法間接法を応用し, fibronectin の組織化学的染色を行った(表2)。まず 0.01M 磷酸緩衝液(以下 PBS と略す)により100倍希釈した anti-fibronectin antiserum を各切片上に滴下・被覆し, moist chamber 内で37°C, 30分間インキュベートする。各切片を PBS で5分間3回洗浄する。余分な PBS をろ紙で除いたのち, 各切片上に PBS によ

表2 ファイブロネクチンの免疫組織化学的研究方法



り100倍希釈したペルオキシダーゼ標識抗体(Miles社)を滴下し, 組織片を被覆したのち37°C, 10分間インキュベートする。PBSで十分洗浄し反応を停止する。以上の操作で fibronectin と結合した peroxidase は Graham & Karnovsky の方法に従って発色させる。ヘマトキシリンにより核染色を行った。

fibronectin 反応の判定基準は対照群と同程度または全くみられないものを陰性(-), 明らかな反応を陽性(+), とくに強い反応を認める場合は強陽性(++)とした。

III 研究成績

1. 各種固定法の fibronectin 反応に及ぼす影響に関する検討

fibronectin の immunoperoxidase 反応に及ぼす組織固定法の影響に関して検討した結果, 凍結切片で最も fibronectin 活性がよく保たれていた。凍結融解法は

図3 癌辺縁部における FN の局在。(ホルマリン固定切片)

基底部の FN 反応は癌に隣接した非腫瘍性腺管では陽性で、癌部では陰性である。

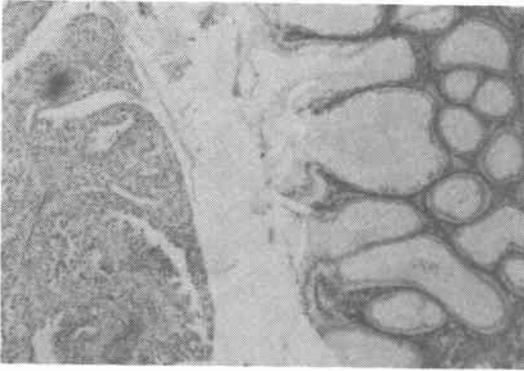
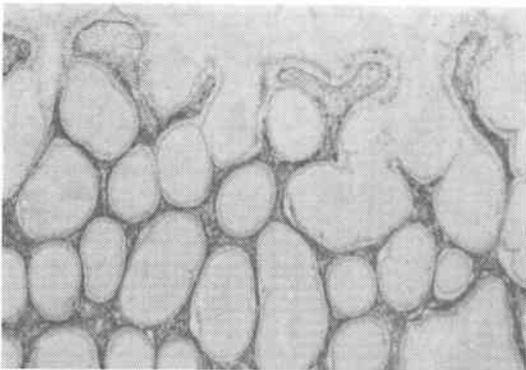


図4 正常粘膜上皮における FN の局在。(凍結切片)

FN 反応は腺管上皮の基底膜に最も強く、さらに間質細胞にも認められる。



凍結切片についてホルマリン固定切片では fibronectin の活性は低下するが、基底膜(基底部)の反応は正常組織では陽性で、癌部で陰性となることより、その有用性が認められた(図3)。

2. 凍結切片における fibronectin の組織化学的検討

以上の所見より凍結切片および凍結融解法は活性が強く、fibronectin の形態学的検討に適した組織固定法であることが判明したので、fibronectin の局在性について、主にこの2つの固定法を用いて検討した。

a. 正常大腸粘膜上皮

図4は正常大腸粘膜上皮の酵素抗体法による fibronectin 反応である。粘膜上皮の基底膜にそって腺上皮をとり囲むように褐色のペンチジン反応が認められる。これが fibronectin の局在である(図4)。強拡大

図5 図4の拡大像

FN は粘膜上皮細胞の内部、細胞膜および luminal border には認められない。

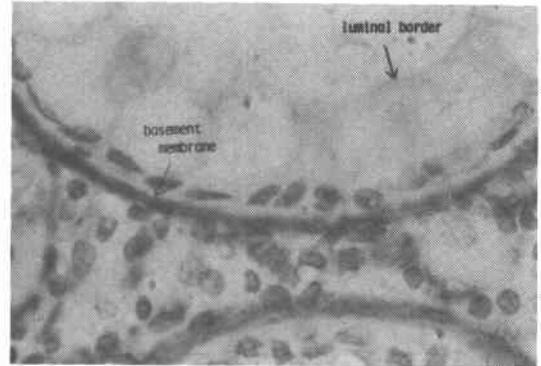


図6 高分化腺癌の組織像。HE 染色。(凍結切片)



では基底膜にそって強い fibronectin 反応が認められ、さらに間質細胞の細胞質にも弱い反応が認められるが、粘膜上皮細胞の内部、細胞膜および luminal border にはほとんど認められない(図5)。

b. 大腸癌組織

大腸高分化腺癌(図6)の fibronectin 反応を図7に示す。正常粘膜上皮で見られた基底部の fibronectin は認められず、間質細胞のみ弱い反応が認められる。腺癌組織においては図8に示すごとく間質細胞の反応は正常粘膜の間質に比べるとむしろ強いものが多い。しかし、間質細胞の粗な癌組織では当然反応はあまりみられない。一方、低分化腺癌(図9)では細胞膜、細胞内および個々の癌細胞間にも fibronectin 反応はほとんど認められない(図10)。印環細胞癌では印環細胞および粘液には fibronectin はみられず、印環細胞間の索状組織にみられる線維組織に fibronectin 反応を認める(図11, 12)。

図7 図6の隣接切片におけるFN反応。(凍結切片)
FN反応は腺管の基底膜には認められない。

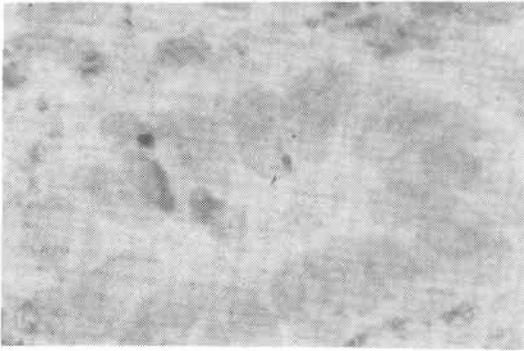


図10 図9の隣接切片におけるFN反応。(凍結切片)
FNは癌細胞の細胞膜および細胞内には認められない。

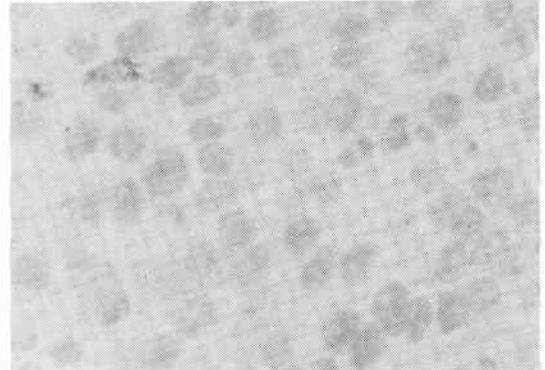


図8 高分化腺癌におけるFNの局在。(凍結切片)
間質のFN反応は正常に比べ強いが、基底膜にはFN反応は見られない。

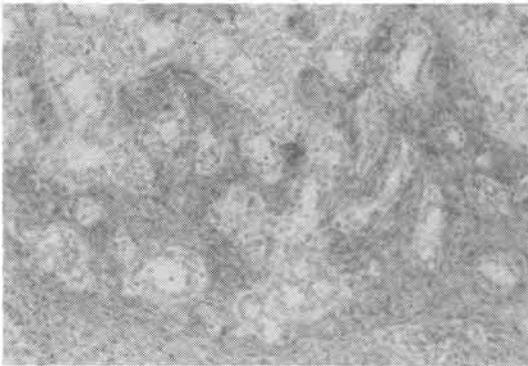


図11 印環細胞癌の組織像。HE染色(凍結切片)

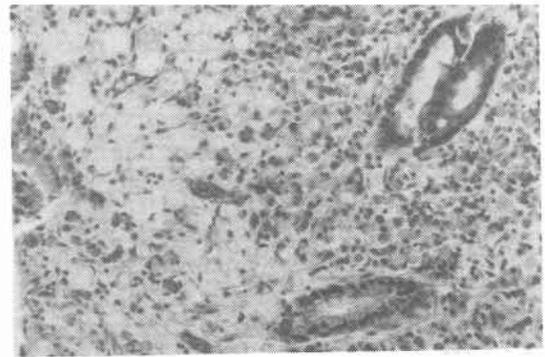


図9 低分化腺癌の組織像。HE染色。(凍結切片)

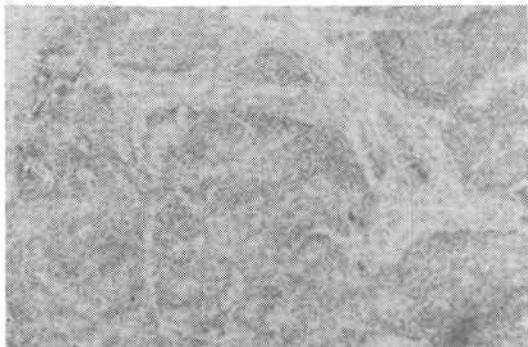
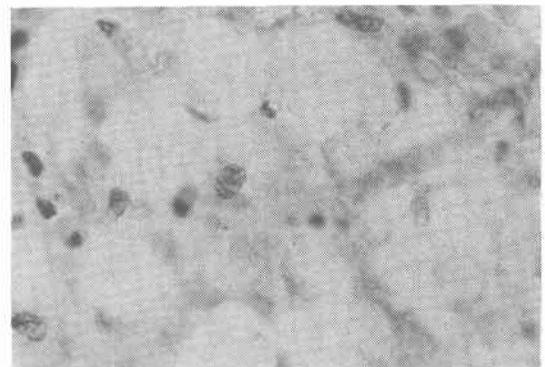


図12 図11の隣接切片におけるFN反応。(凍結切片)
FNは印環細胞の内部および細胞膜には認められない。



C. 腺腫

大腸腺腫の凍結切片では fibronectin 反応は基底膜に一致してすべて強陽性であった。図13に示すごとく

腺管上皮の基底膜にそって fibronectin 反応が強陽性に認められ、さらに間質も陽性である。図14は腺腫内癌における fibronectin 反応を示したものである。図15

図13 腺腫におけるFNの局在。(凍結切片)

FN反応は基底膜と間質細胞の2カ所に認められる。

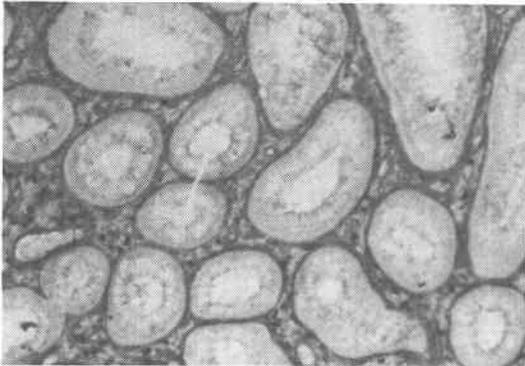


図14 腺腫内癌におけるFNの局在。(凍結切片)

FN反応は異型度の比較的軽度な腺管では基底膜に陽性であるが、異型度の高度な腸管では認められない。

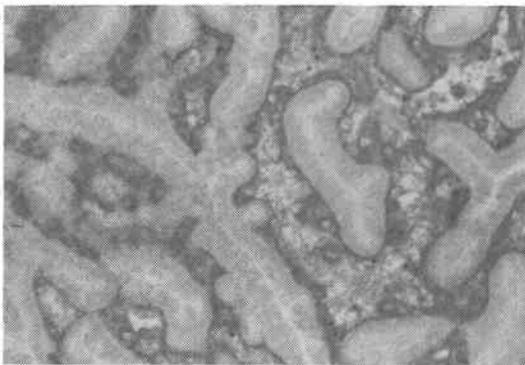
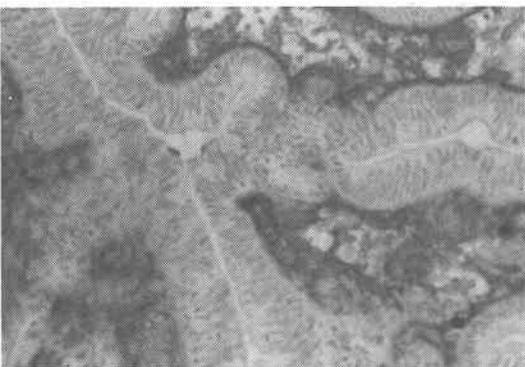


図15 図14の拡大像。(凍結切片)



はその拡大像である。異型度の比較的軽度な異型度 I ~ II 度の腺管では上皮細胞基底膜の反応陽性であるが、同一腺腫内でも粘膜内癌との鑑別が困難な異型高

図16 異型 I 度腺腫の組織像。HE 染色(ホルマリン固定切片)

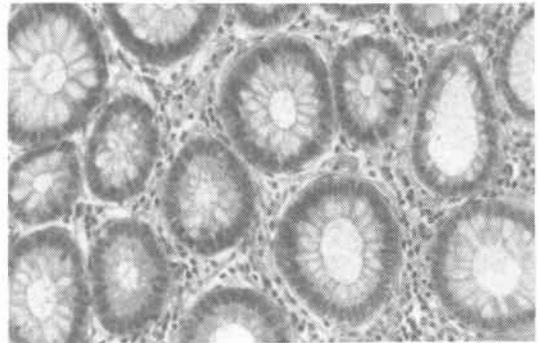


図17 図16の隣接切片におけるFN反応。FNは基底膜に証明される。

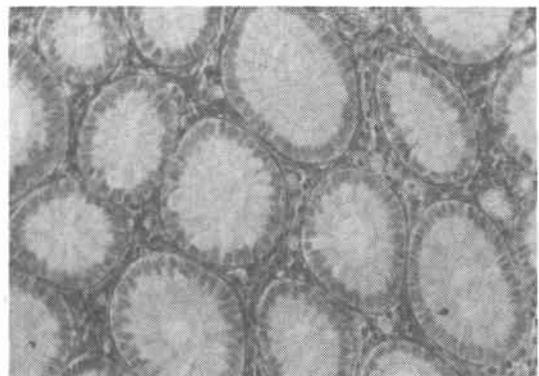


図18 異型 II 度腺腫の組織像。HE 染色(ホルマリン固定切片)



度な部分の腺管では、高分化腺癌と同様に反応は弱くなるか、ほとんど認められない。

3. ホルマリン固定切片における fibronectin の組織

図19 図18の隣接切片における FN 反応。
FN 反応はやや弱い基底膜に認められる。

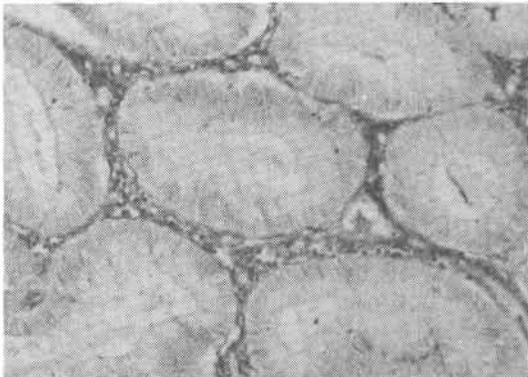
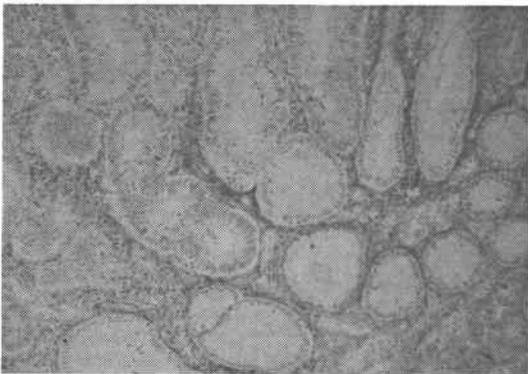


図20 異型II度腺腫の FN 反応。
FN 反応は非腫瘍性腺管の基底膜に認められるが、
腺腫では非常に弱いか消失している。



化学的研究

前述のごとく、ホルマリン固定切片では fibronectin 反応は低下するが、基底膜（基底部）の反応は正常上皮では陽性であり、癌では陰性であることから、癌の組織化学的指標として fibronectin を使用しうるのではないかと考えた。そこで、ホルマリン固定組織により腺腫および癌の fibronectin の組織化学的研究を行った。

腺腫39個を前述した基準により異型 I 度、II 度、III 度の3群に分類し、異型度と fibronectin 反応について検討した。異型 I 度群に属する腺腫は10個で、うち3個は強陽性(++)、7個は陽性(+)で、陰性(-)のものはなかった。図16は異型 I 度腺腫の HE 染色である。HE 染色では腺管は大小不同、分岐がみられるが軽度である。細胞レベルでは核は比較的大型でヘマトキシリン濃染性をおびるが極性はよく保たれて基底膜上に

一層に規則正しく並んでいる。この腺腫の fibronectin 反応は基底膜に強陽性で間質細胞も陽性である(図17)。

異型 II 度に属する腺腫は11個で fibronectin 反応陽性(+)は6個、陰性(-)は5個で、強陽性(++)例はなかった。図18は基底膜の fibronectin 反応陽性となった異型 II 度腺腫の HE 染色である。腺管の大小不同、融合像が著明になり、細胞レベルでは、核は重層がみられるが、腺上皮の高さの半分程度の基底部分にとどまっている。粘液も中等度減少している。fibronectin 反応は基底膜と間質の2カ所に認められる(図19)。図20は異型 II 度腺腫で基底膜の fibronectin 反応陰性(-)となった症例である。異型 III 度に属する腺腫は12個で fibronectin 反応陰性(-)は9個、陽性(+)は3個であった。図21は異型 III 度腺腫の HE 染色である。腺管は間質に乏しく、back to back の配列を示し、一部は乳頭状で、核は、重層が著明で一部腺上皮の最上部にまで達し、腺管上皮の粘液産生能は著明に減少している。fibronectin 反応は図22に示すごとく、基底膜には認められず隣接する非腫瘍性上皮では陽性である。

4. ホルマリン固定切片での形態学的異型度と fibronectin 反応の関係について

ホルマリン固定切片における大腸腺腫の形態学的異型度と fibronectin 反応の関係を表3に示す。

異型 I 度腺腫では正常粘膜上皮と同様陰性例はなく、すべて陽性あるいは強陽性反応を示した。異型 II 度腺腫、異型 III 度腺腫では強陽性例を示したものはなく、すべて陰性(-)あるいは陽性(+)であり、しかも陰性例は異型 II 度腺腫では11例中5例(45%)に対し、異型 III 度腺腫は12例中9例(75%)と陰性例が増加している。腺腫の異型度と基底膜の fibronectin 反応の強

図21 異型III度腺腫の組織像。HE 染色(ホルマリン固定切片)



図22, 図21の隣接切片における FN 反応。(ホルマリン固定切片)

FN 反応は非腫瘍性腺管では基底膜に陽性であるが, 異型III度腺管では認められない。

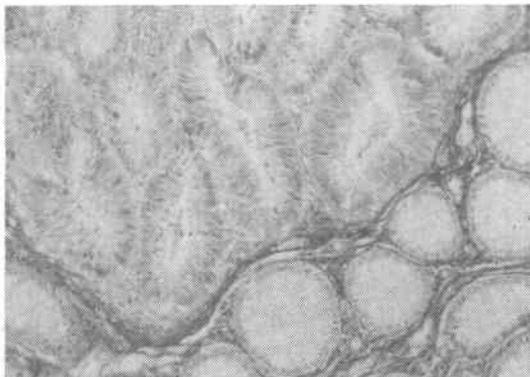


表3 大腸組織における組織学的異型度と FN 反応の関係 (ホルマリン固定切片)

組織像	FN反応	-	+	++	計
		正常粘膜上皮	0	3	
腺腫	I	0	7	3	10
	II	5	6	0	11
	III	9	3	0	12
腺腫内癌		6	0	0	6

度とは相関々係がみられ, 異型度が高度になるに従って基底膜の fibronectin 反応陰性例が増加する傾向がみられた。

IV 考 察

fibronectin の意義に関してはいまだ不明の点も多く, しかもほとんどが *in vitro* の研究であって, *in vivo* あるいは *in situ* での細胞化学的研究はほとんど行われていない。本研究では癌とその関連組織における fibronectin の意義を検討するために, ヒト大腸組織を用いて酵素抗体法による fibronectin の免疫組織化学的研究を行った。すでに, 培養線維芽細胞を用いた研究で fibronectin は pericellular matrix を形成し, 細胞-基質間接着に関与していることが報告されている。fibronectin が細胞-細胞間接着に関与しているという報告¹⁶⁾もあるが, その後の検討¹⁷⁾ではこれも細胞-基質-細胞接着と解するべきだとされている。本研究でも正常大腸粘膜における fibronectin が腺上皮細胞周囲の基底膜に存在し, 上皮細胞内および細胞膜にはほとんど認められなかった。このことは前述の *in vitro* の研究における pericellular matrix と *in vivo*

での基底膜を対比してみれば, 理論的に培養細胞での所見と合致していると考えられる。また Wartiovaara¹⁸⁾らは *in vitro* でマウス腎から採取した未分化細胞が分化して kidney tubuli を形式する際に, 間質細胞の周囲にびまん性に存在していた fibronectin が tubulus のまわりに集まってくることを証明している。本研究でも管状の腺管の基底膜に fibronectin が局在し, Wartiovaara らの報告を裏付ける結果を示している。さて, *in vitro* での fibronectin のもう1つの重要な意義は malignant transformation の際に見られる fibronectin の減少である。Hynes¹⁹⁾は培養線維芽細胞を用いて fibroblast の transformation により fibronectin が減少することを認め, LETS (large external transformation sensitive protein) と名付けた。その後も同様の報告が多数なされている。また transformation した腎細胞 TRK がブチル酸処理により正常細胞に再転換する際に, fibronectin が細胞基質内に再出現することが知られている²⁰⁾。さらに Ali²¹⁾あるいは Yamada⁹⁾²²⁾らは形質転換された培養線維芽細胞に fibronectin を加えることにより, 細胞の接着性および形態がより正常となることを報告した。このように *in vitro* の研究では fibronectin が malignant transformation に大きく関与していることが明らかにされてきている。

in vivo での大腸癌における fibronectin の局在を検討した報告はほとんどなく, Stenman²³⁾ (1981) が蛍光抗体法を用いて種々の固形腫瘍における fibronectin の局在について検討した報告の中の一部で, 結腸癌3例について述べている。Stenman は間質細胞と基底膜をひっくくめて tumor stroma として一括しているが, 著者らは正常上皮の項で述べたごとく, fibronectin の局在様式を上皮細胞基底膜と間質細胞内の2つの部位にわけて検討した。癌ではこの2カ所の fibronectin の局在性に差異があることが認められ, Stroma cell の fibronectin 反応は正常と同様すべてで陽性であるのに対し, 基底膜(基底部)の fibronectin 反応はすべてで認められなかった。このことは前述した *in vitro* での fibronectin と malignant transformation の関係を *in vitro* で証明するものと考えられる。さらに未分化型癌では癌巢内すなわち癌細胞内, 細胞膜(細胞間隙)に fibronectin は認められなかった。この所見は未分化癌で腺管形成がなく, 分化型にくらべて正常とのかけ離れがより大きいとする臨床病理学的見解と関係があると考えられる。

一方、間質の fibronectin (主に線維芽細胞あるいは血管壁細胞で産生される) は正常、腺腫および癌のすべてに認められ、とくに癌組織の間質においては明らかに陽性であった。このことと、fibronectin が結合織の増生とともに増量するという報告²⁴⁾⁻²⁸⁾を参考にすれば、組織の間質における fibronectin の増加は癌に対する host reaction による間質増加の結果もたらされた二次的な fibronectin の増加であろう。

大腸腺腫では凍結切片により、腺腫内癌を除いて腺腫の間で多少の差はあるが、すべて基底膜の fibronectin 反応は陽性であったのに対し、ホルマリン固定切片では基底膜の fibronectin 反応は強陽性のものから陰性のものまで存在することが認められた。そこで腺腫の上皮異型度と基底膜にみられる fibronectin 反応の関係について検討すると、異型度が高度になるに従って基底膜に見られる fibronectin 反応が弱くなる傾向が見られた。すなわち、このことは Hynes らによる *in vitro* の研究結果と一致し、正常上皮が異型上皮そして癌化といった異型化つまり transformation と密接に関連して fibronectin 量の減少がみられることが判明した。従来、*in vivo* はもちろん *in vitro* でも、大腸腺腫における fibronectin の研究はほとんど報告されておらず、本研究結果は malignant transformation と fibronectin の関係を追求するうえで、非常に重要な所見であると考えられる。さらに臨床的には本法が腺腫の異型度の病理学的診断に有用であることが示唆された。

V. 結 語

大腸組織における fibronectin の局在について、酵素抗体法により光顕的に検討し、以下の成績を得た。

(1) 組織固定法に関しては凍結切片で fibronectin の活性が最も強く、次いで凍結融解法であり、これらの固定法では良好な所見が得られた。ホルマリン固定法では CEA 活性の低下がみられるが、このことにより癌と正常を識別でき、しかも一般臨床病理標本を用いることができる。などの点でホルマリン固定切片の本法における有用性が認められた。

(2) 正常大腸組織の fibronectin の局在部位は粘膜上皮の基底膜および粘膜固有層の stroma cell の細胞質にのみ認められ、上皮細胞内および細胞-細胞間には認められなかった。

(3) 大腸癌組織では高分化型腺癌では fibronectin はすべての症例で基底膜には認められなかった。未分化型癌、印環細胞癌では癌細胞内、細胞膜には

fibronectin 反応は認められなかった。一方、間質の反応は症例により一定しておらず、強陽性のものから陰性のものまでみられた。

(4) 腺腫では凍結切片ではすべて基底膜に沿って fibronectin 強陽性反応が認められた。ホルマリン固定切片では腺腫の異型度と fibronectin 反応は相関々係にあり、異型度が高度になるほど fibronectin 反応が減弱あるいは消失するものが多いことが認められた。

以上の所見より、本法は *in vitro* での malignant transformation あるいは細胞接着能に関する fibronectin の役割を検討するうえで有用な方法であると考えられた。

(本研究の一部は厚生省がん研究助成金および文部省科学研究助成金(557309)の援助による。)

文 献

- Morrison, P.R., Edsall, J.T. and Miller, S.G.: Preparation and properties of serum and plasma proteins. XVIII. The separation of purified fibrinogen from fraction I of human plasma. *J Am Chem Soc* 70: 3103-3108, 1948
- Ruoslahti, E., Vaheri, A., Kuusela, P., et al.: Fibroblast surface antigen; a new serum protein. *Biochem Biophys Acta* 322: 352-358, 1973
- Ruoslahti, E. and Vaheri, A.: Novel human serum protein from fibroblast plasma membrane. *Nature (Lond.)* 248: 789-791, 1974
- Hynes, R.O.: Alteration of cell-surface proteins by viral transformation and by proteolysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 70: 3170-3174, 1973
- Yamada, K.M. and Weston, J.A.: Isolation of a major cell surface glycoprotein from fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 71: 3492-3496, 1974
- Ruoslahti, E. and Vaheri, A.: Interaction of soluble fibroblast surface antigen with fibrinogen and fibrin. Identity with cold-insoluble globulin of human plasma. *J Exp Med* 141: 497-501, 1975
- Kuusela, P., Ruoslahti, E., Engvall, E., et al.: Immunological interspecies cross-reactions of fibroblast surface antigen (Fibronectin). *Immunology* 13: 639-642, 1976
- Hynes, R.O. and Humphrynes, K.C.: Characterization of the external proteins of hamster fibroblasts. *J Cell Biol* 62: 438-448, 1974
- Yamada, K.M., Yamada, S.S. and Pastan, I.: Cell surface protein partially restores mor-

- phology, adhesiveness, and contact inhibition of movement to transformed fibroblasts. Proc Natl Acad Sci USA 73 : 1217—1221, 1976
- 10) Smith, H.S., Riggs, J.L. and Mosesson, M.W. : Production of fibronectin by human epithelial cells in culture. Cancer Res 39 : 4138—4144, 1979
 - 11) Vaheri, A., Ruoslahti, E., Westermark, B., et al. : A common cell-type specific surface antigen in cultured human glial cell and fibroblasts : Loss in malignant cells. J Exp Med 143 : 64—72, 1976
 - 12) 大腸癌取扱い規約, 大腸癌研究会編, 金原出版社, 1980
 - 13) Morson, B.C. : Some peculiarities in the histology of intestinal polyp. Dis Colon Rectum 5 : 337—344, 1962
 - 14) 松田泰次 : 癌を中心とした大腸組織における酵素抗体法によるCEA (carcino-embryonic antigen) の細胞組織学的研究. 近大医誌 6 : 45—77, 1981
 - 15) Jackman, R.J. and Beahrs, O.H. : Tumors of the large bowel. 2nd Saunders, Philadelphia, 1969
 - 16) Yamada, K.M., Yamada, S.S. and Pastan, I. : The major cell surface glycoprotein of chick embryo fibroblasts is an agglutinin. Proc Natl Acad Sci USA 72 : 3158—3162, 1975
 - 17) Hedman, K., Vaheri, A. and Wartiovaara, J. : Cell surface protein, fibronectin, of human fibroblast cultures has a membrane-associated and a predominant pericellular matrix form. J Cell Biol 76 : 748—760, 1977
 - 18) Wartiovaara, J., Stenman, S. and Vaheri, A. : Changes in expression of fibroblasts surface antigen (SFA) in induced cytodifferentiation and in heterokaryon formation. Differentiation 5 : 95—89, 1976
 - 19) Hynes, R.O. and Bye, J.M. : Density and cell cycle dependence of cell surface proteins in hamster fibroblasts. Cell 3 : 113—120, 1974
 - 20) Hayman, E.G., Engvall, E. and Ruoslahti, E. : Butyrate restores fibronectin at cell surface of transformed cells. Exp Cell Res 127 : 478—481, 1980
 - 21) Ali, I.U., Mautner, V., Lanza, R., et al. : Restoration of normal morphology, adhesion and cytoskeleton in transformed cells by addition of a transformation sensitive surface protein. Cell 11 : 115—126, 1977
 - 22) Yamada, K.M. and Olden, K. : Adhesive glycoproteins of cell surface and blood. Nature 275 : 179—184, 1978
 - 23) Stenman, S. and Vaheri, A. : Fibronectin in human solid tumors. Int J Cancer 27 : 427—435, 1981
 - 24) Linder, E., Vaheri, A., Ruoslahti, E., et al. : Distribution of fibroblast surface antigen in the developing chick embryo. J Exp Med 142 : 41—49, 1975
 - 25) Wartiovaara, J., Stenman, S. and Vaheri, A. : Changes in expression of fibroblast surface antigen (SFA) during cytodifferentiation and heterokaryon formation. Differentiation 5 : 85—89, 1976
 - 26) Thesleff, I., Stenman, S., Vaheri, A., et al. : Changes in the matrix proteins, fibronectin and collagen, during differentiation of mouse tooth germ. Devel Biol 70 : 116—126, 1979
 - 27) Kurkinen, M., Alitalo, K., Vaheri, A., et al. : Fibronectin in the development of embryonic chick eye. Devel Biol 69 : 589—600, 1979
 - 28) Kurkinen, M., Vaheri, A., Roberts, P.J., et al. : Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. Lab Invest 43 : 47—51, 1980