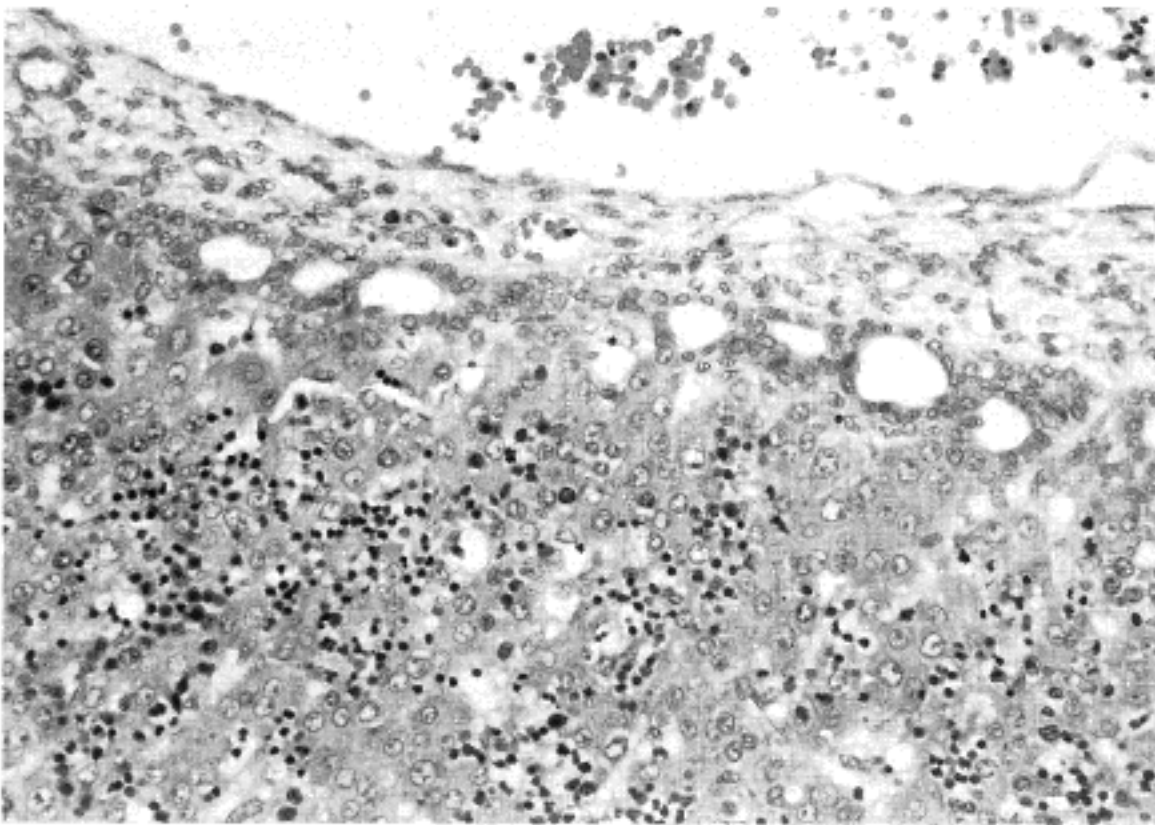


**Fig. 1.** 10 Weeks of gestation. A part of large portal vein branch is surrounded by double layers of small round cells forming ductal plate.



**Fig. 2.** 11 weeks of gestation. The lumens of the ductal plate become more tubular.

인 배아의 간문에서 관찰되기 시작하였다. 즉 제대정맥을 둘러 싸고 있는 간질층과 간실질의 경계부에 간세포보다 작고 진한 핵을 갖고 있는 한 층의 입방세포인 즉 담관판(ductal plate)이 불연속적으로 관찰되었는데, 54~55일경의 배아에서는 이 입방세포가 두 층이 되면서 그 사이에 소수의 구멍 또는 틈이 형성되었고(Fig. 1), 10주(56일)에 이 구멍의 수와 크기가 증가하였다(Fig. 2). 11주에 둥근 내강을 형성하고 있는 입방세포와 간실질 사이에 교원질이 침착되면서 국

소적으로 간실질로부터 입방세포층이 분리되기 시작하였으나 대부분은 간세포에 붙어 있는 관구조들이었다. 12주에 이 관구조 중 1~2개는 간질층으로 돌출되어 테니스 라켓처럼 보였고(Fig. 3), 13주에 이 관구조들이 간삭과 직각으로 길어지면서 주위의 것과 인접하게 되어 T자를 나란히 배열해 놓은 것 같은 형태를 보였다(Fig. 4). 14주에 간실질로부터 분리되고 독립된 담관이 형성되었는데 이들은 서로 횡으로 인접되어 있다가 내강이 소통되면서 서로 연결되었다(Fig.

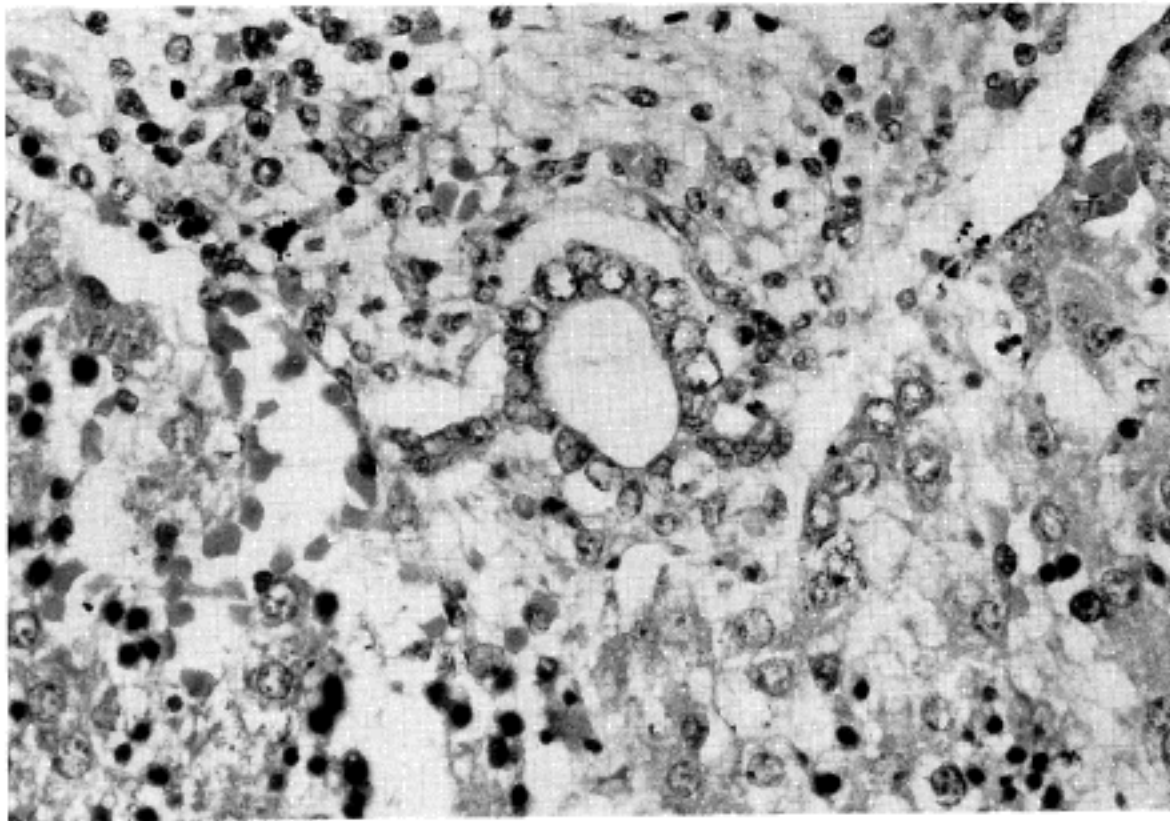


Fig. 3. 12 weeks of gestation. The tubular structure is incorporated into connective tissue.

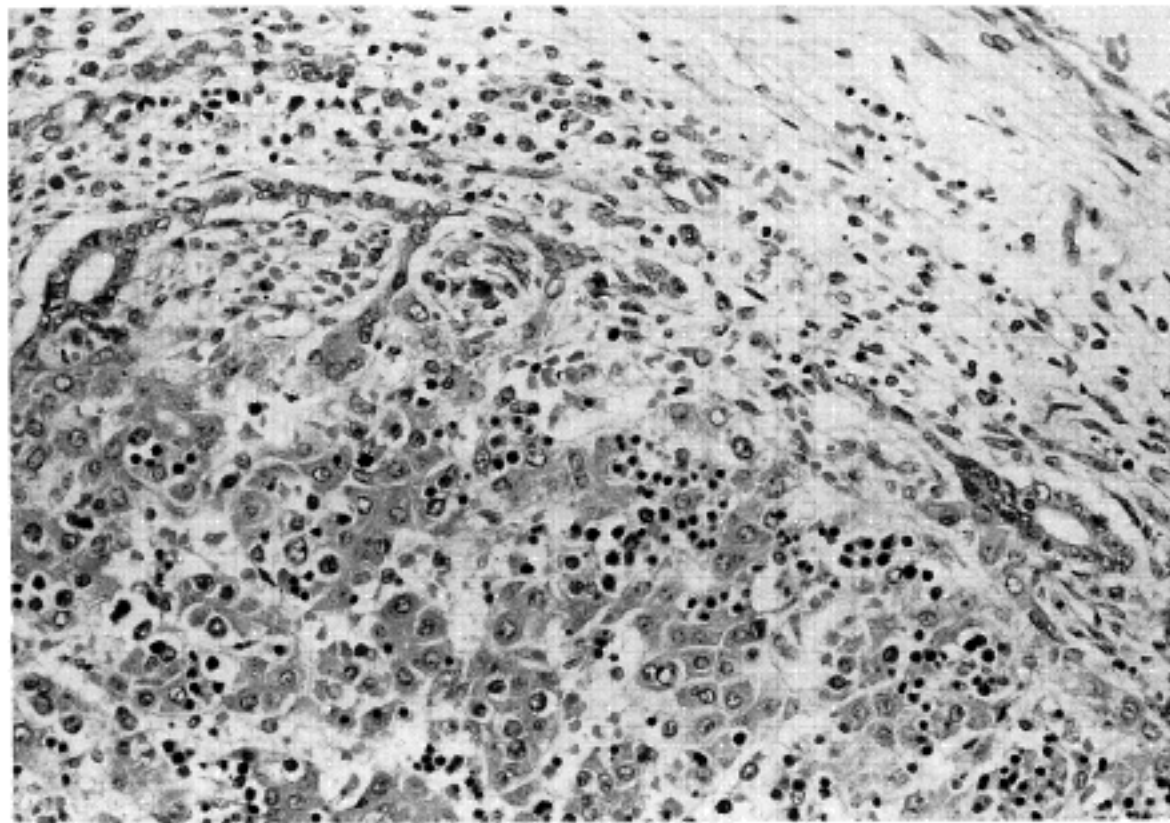


Fig. 4. 13 weeks of gestation. T-shaped ductal plate is connected to the hepatic cords.

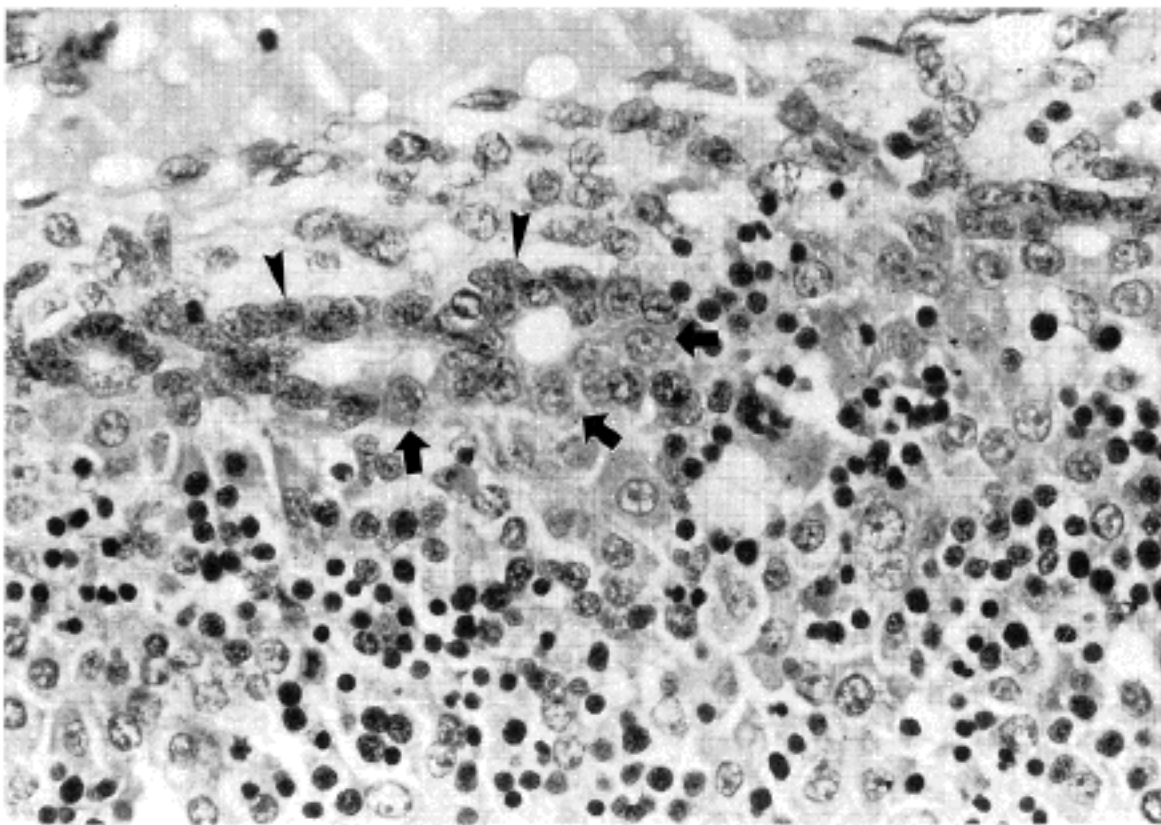
5). 20주에는 큰 문맥주변에 위치한 담관의 상피세포가 키가 큰 원주세포로 피복되었다. 이상과 같은 담관이 형성과정은 간문부에서 시작되어 연령이 증가함에 따라 간의 주변부로 파급되었고 단계적인 형태학적 변화를 반복하였다. 즉 한층의 입방세포는 10주에 간문 주변부의 간실질에서 관찰되었고, 12주에 간의 주변부에서, 13주에 소엽간 문맥강에서 관찰되었다. 독립된 담관은 16주에 간문부 주변의 간실질에서, 17주에 간의 주변부에서, 28주에 소엽간 문맥강에서 관찰되었으

며 연령이 증가함에 따라 한 문맥강내에서 관찰되는 담관의 수가 증가되어 32주경에는 간문주변부의 간실질에서는 6~7개, 간의 주변부에는 2~3개 그리고 소엽간문맥강에는 1~2개가 관찰되었다(Table 3).

내강을 갖고 있는 담관판은 대부분 두층의 입방세포로 구성되어 있으나 9~15주에는 서로 다른 두종류의 세포로 구성된 담관판들이 관찰되었는데 문맥쪽에 있는 것은 담관세포였으나 간실질쪽에 있는 것은 크기와 세포질의 양은 간세포보다 작았으나 간세포삭과 연속성



**Fig. 5.** 18 weeks of gestation. Isolated bile ducts from hepatic lobule are noted.



**Fig. 6.** 11 weeks of gestation. Two duplicated ductal plates are composed of two types of cells: duct-like cell (arrowheads) facing the vein and hepatocyte-like cell (arrows) facing the parenchyma.

이 있었고 호산성 및 과립성 세포질을 갖고 있는 것이 간세포와 유사하였다(Fig. 6). 이런 두 종류의 세포로 구성된 담관관은 11주에 가장 많이 관찰되었고 12주부터는 점차 감소하여 15주 이후에는 관찰되지 않았다. 11주 이후 관구조 또는 담관이 관찰되는 문맥강에 여전히 불연속적인 한층의 납작한 입방세포층이 남아 있었고 이 들은 반삭아의 간에서도 관찰되었다.

## 2) 면역조직학적 소견

CAM 5.2와 AE1/AE3항체는 간세포와 담관세포에 모두 반응하였으며 배아와 태아에서의 염색소견은 차이가 없었다(Table 4). 특히 CAM 5.2는 임신 6주에 간세포의 세포질에 염색되었으며 동시에 세포막을 따라 더욱 진하게 염색되었다. 태령 9주에 담관세포가 출현하면서 간세포보다 담관세포의 세포질에 더욱 강

**Table 3.** Histologic events of bile duct development

Gestational age(week)	Porta hepatis	Perihilar portal vein	Peripheral portal vein	Interlobular portal vein
9	Single DP with slit	-	-	-
10	Double DP with tubular lumen	Single DP	-	-
11	Separation from parenchyma	Double DP with slit	-	-
12	Incorporation of tubules	Double DP tubular lumen	Single DP	-
13	Isolated duct Flattened single DP	Incorporation	Double DP with Tubular lumen Separation	Single DP
14		Isolated duct Single DP	Incorporation	
15				Double DP
16	3 ducts	1 duct	Isolated duct	
17		2 ducts Single DP		
19			1 or 2 ducts	Incorporation
20	Duct lined by tall columnar cells			
21		3 ducts		
22			2 ducts	flattened single DP cell
24			Columnar cell lined duct Few DP	
27				Isolated duct
28			3 ducts	Single DP
31			5 ducts Double DP	
32		6-7 ducts		
33				1-2 ducts
37			Single or double DP	Discontinous DP

DP: ductal plate

하게 염색되었다(Fig. 7). 11주부터 담관세포에 대한 반응은 강해졌고 이것이 40주까지 유지되는 반면(Fig. 8), 간세포에 대한 반응은 11주경 다소 강해졌으나 13주 또는 14주 후 현저하게 감소하여 40주까지 약한반응이 지속되었다. Cytokeratin 19와 AE1에 대하여 간세포는 전혀 염색되지 않았고, 9주에 담관세포의 세포질에 미약한 반응을 보였고, 11주에 cytokeratin이 그리고 19주에는 AE1이 각각 강하게 염색되기 시작하여 40주까지 동일한 염색성을 보였다(Fig. 9). 11주에서 15주 사이에 관찰되었던 두 종류의 세포로 구성된 담관관을 관찰한 결과 문맥쪽에

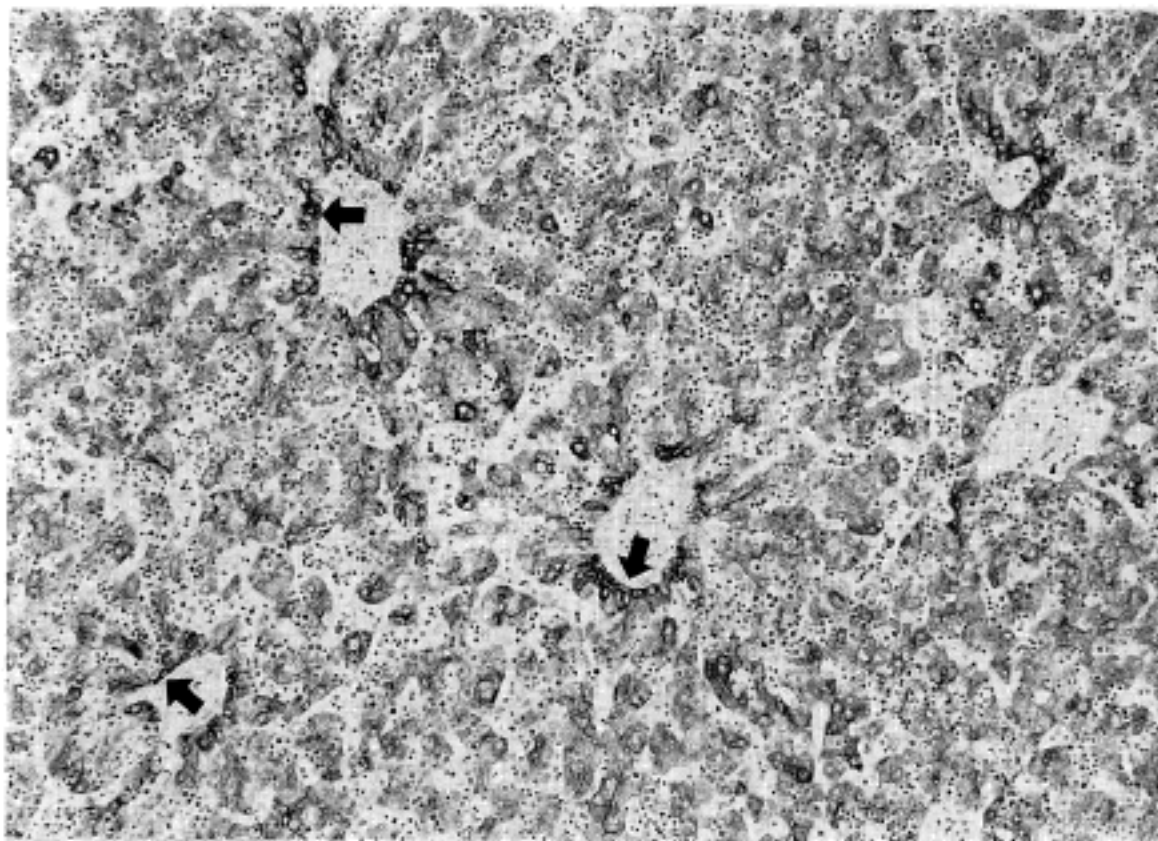
있는 세포는 담관세포와 그리고 간실질쪽에있는 세포는 간세포와 동일한 염색성을 보였다(Fig. 10).

Alpha-fetoprotein(AFP)에 대한 반응은 간세포의 세포질에 국한되어 관찰되었는데 9주에 주로 문맥 주변에 위치한 소수의 간세포에서 관찰되었고, 11주부터는 양성으로 반응하는 간세포의 수가 증가하였고, 13주부터 40주까지 간세포에 미만성으로 반응하였다(Table 5). Carcino-embryonic antigen(CEA)은 담관과 두층으로 구성된 담관관의 내강연(luminal border)을 따라 선상으로 염색되었고 간실질에서는 간세포간 담모세관(canaliculi)의 내강연을 따라 염색

**Table 4.** Immunohistochemical results of cytokeratins in this study

Gestational age(wk)	CAM 5.2		AE1/AE3		Monoclonal Anti-CK 19		AE1	
	BD	H	BD	H	BD	H	BD	H
7	0	-	0	1+		ND		ND
8	0	1+	0	1+		ND		ND
9	2+	1+	2+	1+	+/-	-	+/-	-
11	3+	2+	3+	2+	3+	-	+/-	-
13	3+	2+	2+	1+	3+	-	3+	-
14	3+	1+	2+	1+	3+	-	3+	-
18	3+	1+	3+	1+	3+	-	3+	-
.	3+	1+	3+	1+	3+	-	3+	-
.	3+	1+	3+	1+	3	-	3+	-
Term	3+	1+	3+	1+	3+	-	3+	-

BD: bile duct epithelium, H: hepatocyte, ND: not done 0: absent 1+ to 3+: degree of stain intensity

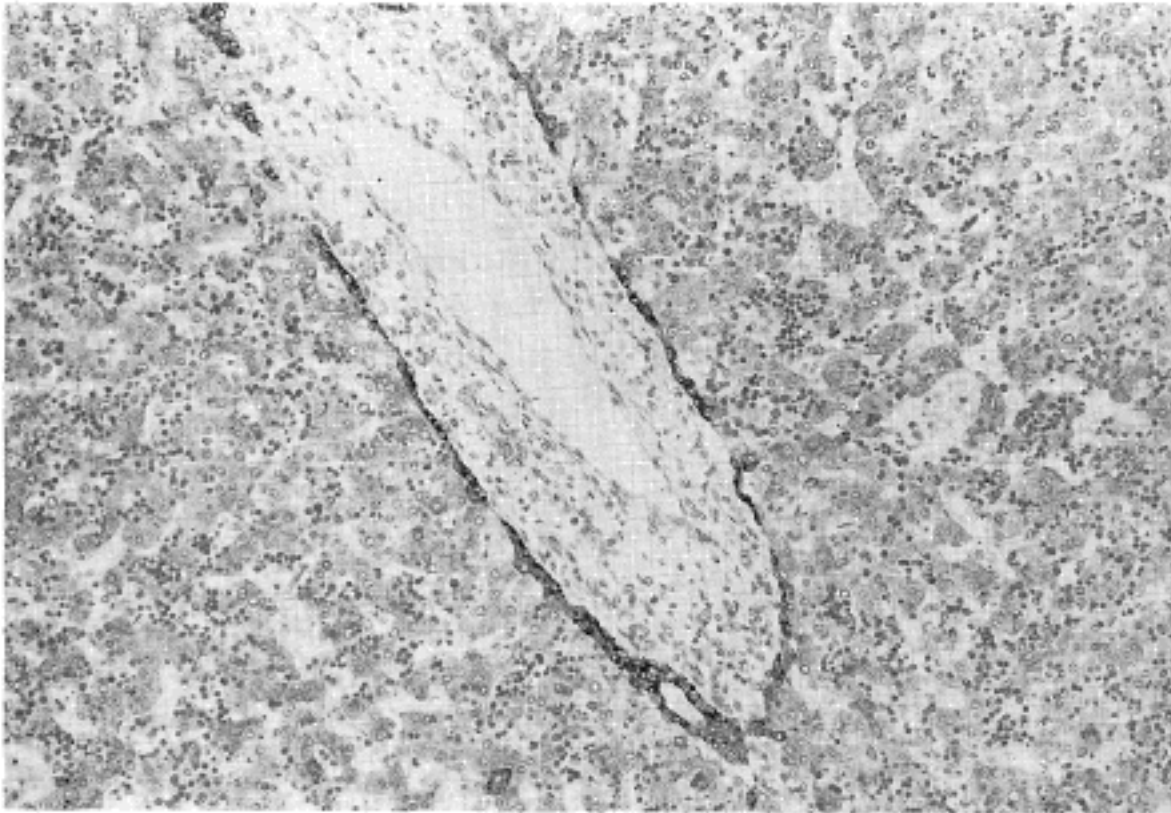


**Fig. 7.** 11 weeks of gestation. CAM 5.2 immunostain. Most branches of the portal vein are surrounded more strongly positive cells forming so-called "ductal plates"(arrows). The hepatocytes show staining of the cytoplasm and membrane.

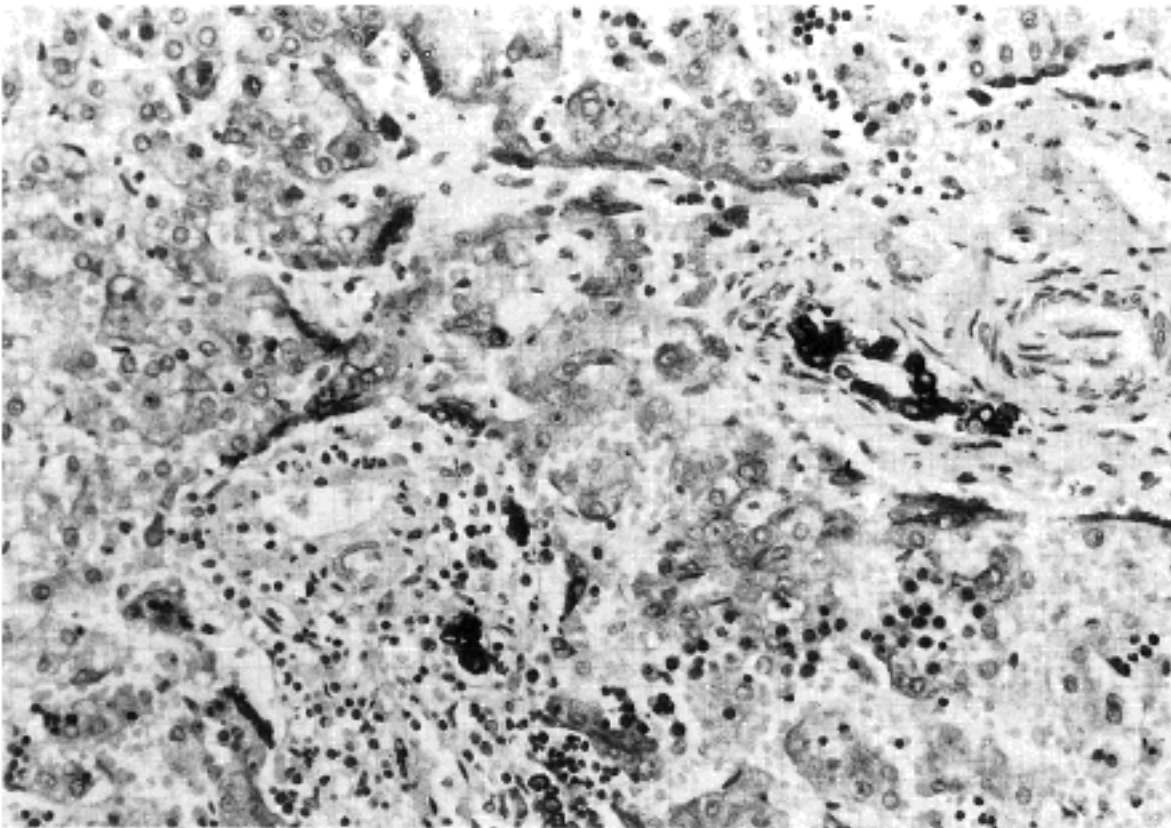
되었다. CEA에 양성인 담세포는 6주된 배아에서 소수 관찰되었는데 이들은 문맥주변에 위치한 간세포들이 로켓으로 배열되어 있었다. 임신 9주에 담관세포와 간세포의 경계부에서 선상 또는 점상으로 CEA에 반응하는 구조물들이 관찰되었는데 이안에는 일부 내강이 관찰되었다. 10주에 담관판에 있는 틈 또는 관구조도 내강을 따라 염색되었고 CEA에 염색되는 간세포사이 담모세포는 9주에 비해 수는 증가하였으나 그 모양이 원형이었다(Fig. 11). 11주부터 간세포사이 담모세포가 선상으로 염색되기 시작하였고 일부가 담관판

의 내강과 연결되었다. 12주부터 간세포간 담세포는 모두 선상구조로 관찰되었고(Fig. 12) 점차 연령이 증가함에 따라 분지형성을 하면서 간내담관과 연결도 증가되었다. 9주에서 15주까지 관찰되었던 두종류의 세포 즉 간세포와 담관세포로 구성된 관구조도 내강을 따라 염색되었다(Fig. 13).

Laminin는 담관세포의 기저부를 따라 선택적으로 선상으로 염색되었는데 초기 발달과정에 있는 담관들은 기저막의 형성이 불완전하였으며 독립된 담관 및 성숙된 담관은 담관전체를 둘러 싸고 있는 기저막을



**Fig. 8.** 13 weeks of gestation. Ductal plates appear as discontinuous ring around the portal rim. The parenchymal cells are negative for AE1.



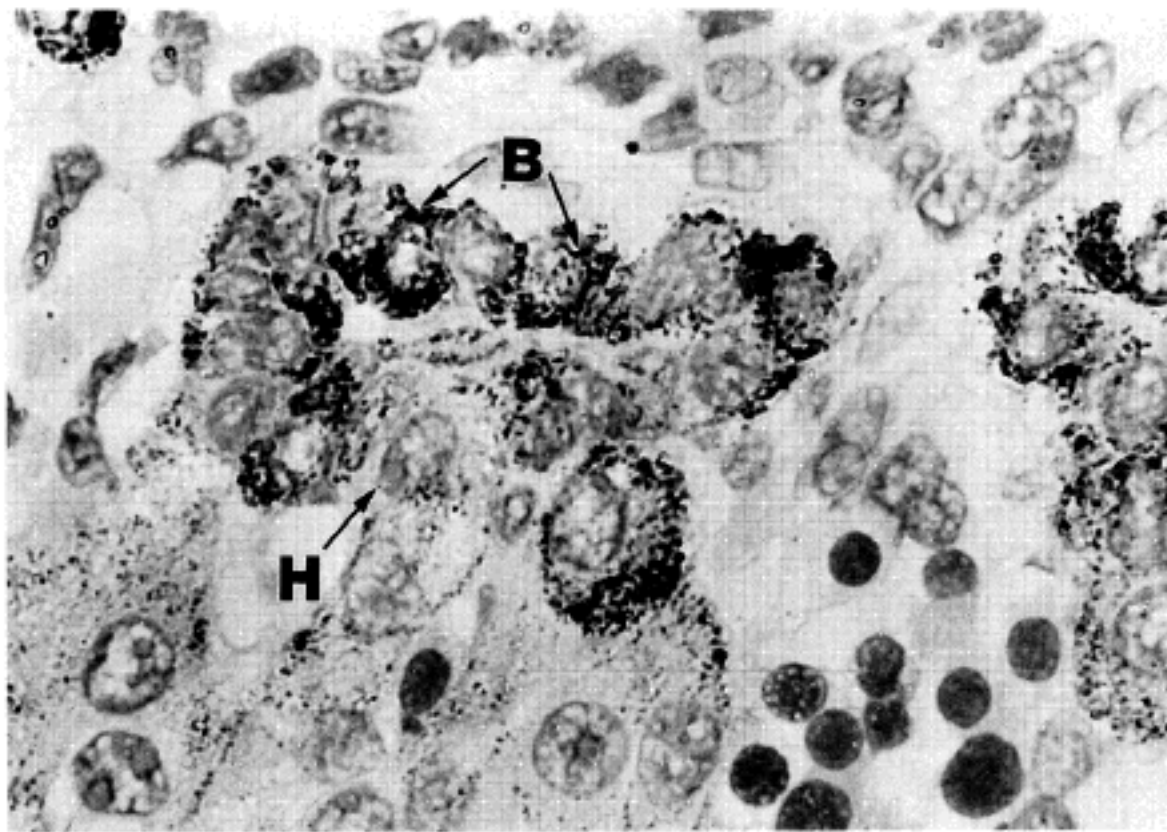
**Fig. 9.** 37 weeks of gestation. The bile ducts and clusters and strands of small cells along the margin of portal tract are strongly positive for AE1/AE3.

갖고 있었다(Fig. 14 & 15). 간세포와 담관세포로 구성된 담관관은 담관세포에만 국한되어 기저부에 염색되는 기저막을 갖고 있었고 간세포 유사세포에서는 음성이었다(Fig. 16).

### 고 찰

광학현미경적으로 간내담관의 발달은 임신 9주에 간문부에 위치한 문맥가지 주변의 결합조직성 간질과 인

접한 원시간세포들이 담관형의 세포로 변형되면서 한 층으로 배열된 담관관을 형성하였고, 곧 그 담관관은 두층이 되어 그 사이에 틈이 형성되었으며, 그 틈은 원통 또는 관상구조를 취하면서 주변 간질조직으로 돌출되었다. 이들은 간실질로부터 분리되어 독립된 담관을 형성하였고 이 담관들끼리 서로 연결 및 소통되어 문합담관을 형성하였다. 이러한 발달과정은 간문부에서부터 관찰되기 시작하여 간의 주변부로 진행됨에 따라 하나의 개체의 간에서도 문맥의 크기에 따라 위



**Fig. 10.** 11 weeks of gestation. A ductal plate reveals two different types of stainability against CAM 5.2. The duct-like cells show immunoreactivity of bile duct cells(B), and the hepatocyte-like cells show that of hepatocytes(H).

**Table 5.** Immunohistochemical results of alpha fetoprotein, carcinoembryonic antigen and laminin in this study

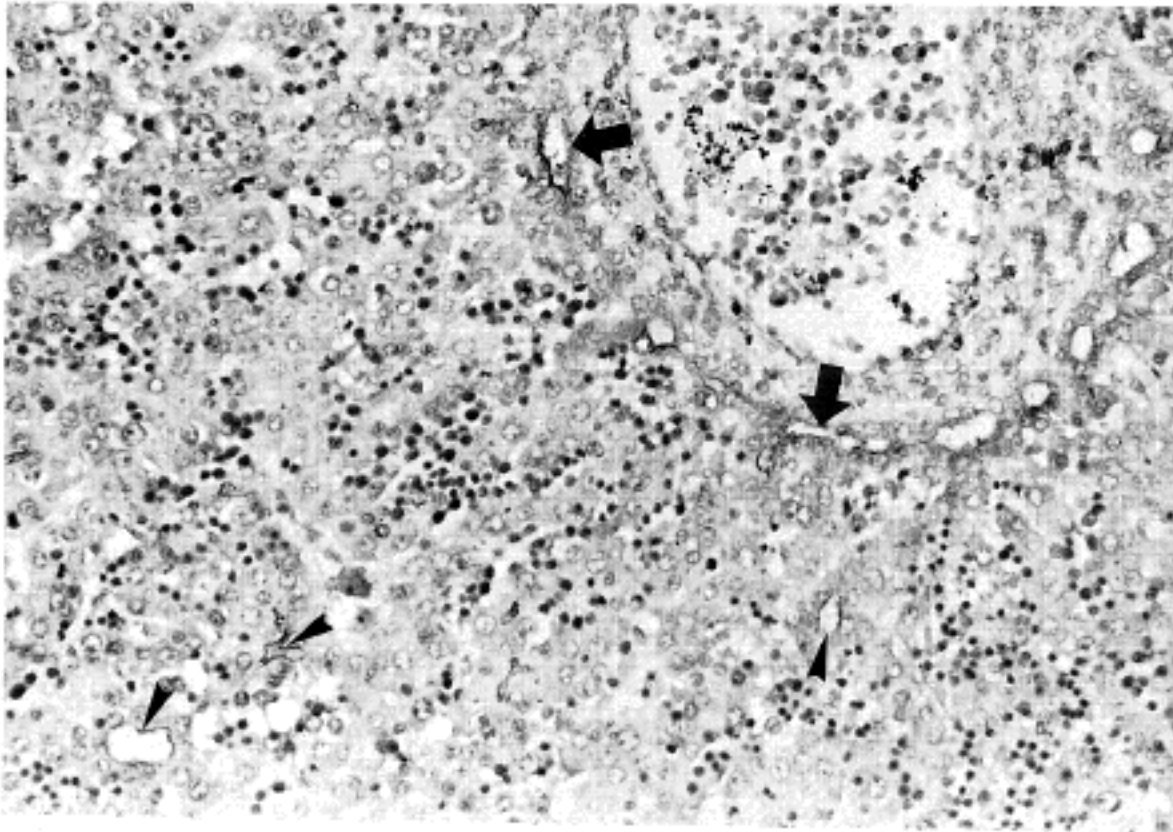
Gestational age(wk)	Alpha-FP		CEA		Laminin	
	BD	H	BD (lumen)	H (canaliculi)	BD (BM)	H
7	0	-	0	1+	0	-
8	0	-	0	1+	0	-
9	-	1+	1+	1+	1+	-
10	-	1+	2+	2+	1+	-
11	-	2+	3+	3+	2+	-
12	-	2+	3+	3+	2+	-
13	-	3+	3+	3+	2+	-
14	-	3+	3+	3+	3+	-
:	-	3+	3+	3+	3+	-
Term	-	3+	3+	3+	3+	-

+1; focal reactivity, 3+; diffuse reactivity, +2: in between +1 and +2, 0: absent, BD; bile duct epithelium, H;hepatocyte, BM; basement membrane

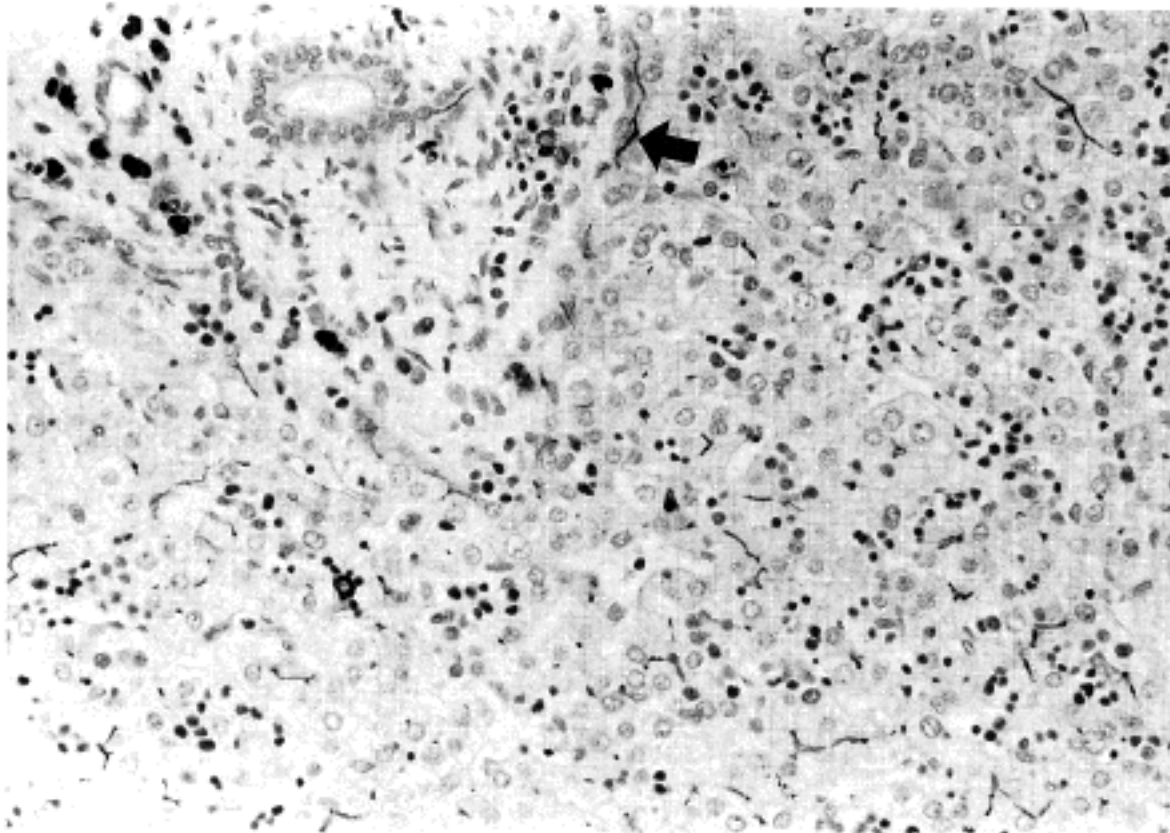
에 기술한 여러 발달단계의 담관들이 모두 관찰되었다. 즉 큰 문맥가지 주변에서의 간내담관의 발달이 작은 문맥가지 주변에서 보다 앞서 있었다.

본 연구에서 파라핀에 포매된 간조직을 이용하여 광학현미경적 관찰과 동시에 면역 조직화학적 염색을 병행하므로 간내 담관세포의 발달과정을 분석하는 것에 상당한 장점을 발견하였다. Cyto-keratin은 상피세포의 중간세사(intermediate filament)를 구성하고 있는 주된 구조단백질로서, 세포의 종류에 따라 분자량이 다른 cytokeratin 폴리펩타이드가 발현된다<sup>7)</sup>. 사

람에서는 분자량이 다른 19종류의 cytokeratin이 알려져 있으며 쥐와 사람의 간세포는 cytokeratin 8, 18(Moll's catalog number)이, 담낭상피세포와 담관세포암종 및 간내 담관상피세포는 cytokeratin 7, 8, 18, 19등이 발현됨이 알려져 있다<sup>8,9)</sup>. 최근에 쥐와 사람의 간내담관의 발달에 이러한 여러가지 cytokeratin을 이용한 논문들이 보고된 바 있으나 그 결과가 연구자 마다 달라 혼동을 주고 있다<sup>10,11)</sup>. Shah 및 Gerber는 임신 4주부터 간세포가 CAM 5.2와 AE1에 양성으로 반응하며, 24주 부터 간세포에서 AE1의



**Fig. 11.** 10 weeks of gestation. The reactivity for CEA is noted along the luminal border of double ductal plates(arrows) and intrahepatic canaliculi(arrow-heads).



**Fig. 12.** 28 weeks of gestation. The canaliculi appear as arborizing lines between the hepatocytes. There is a linear immunostain(arrow) between the ductal plate and the hepatocyte.

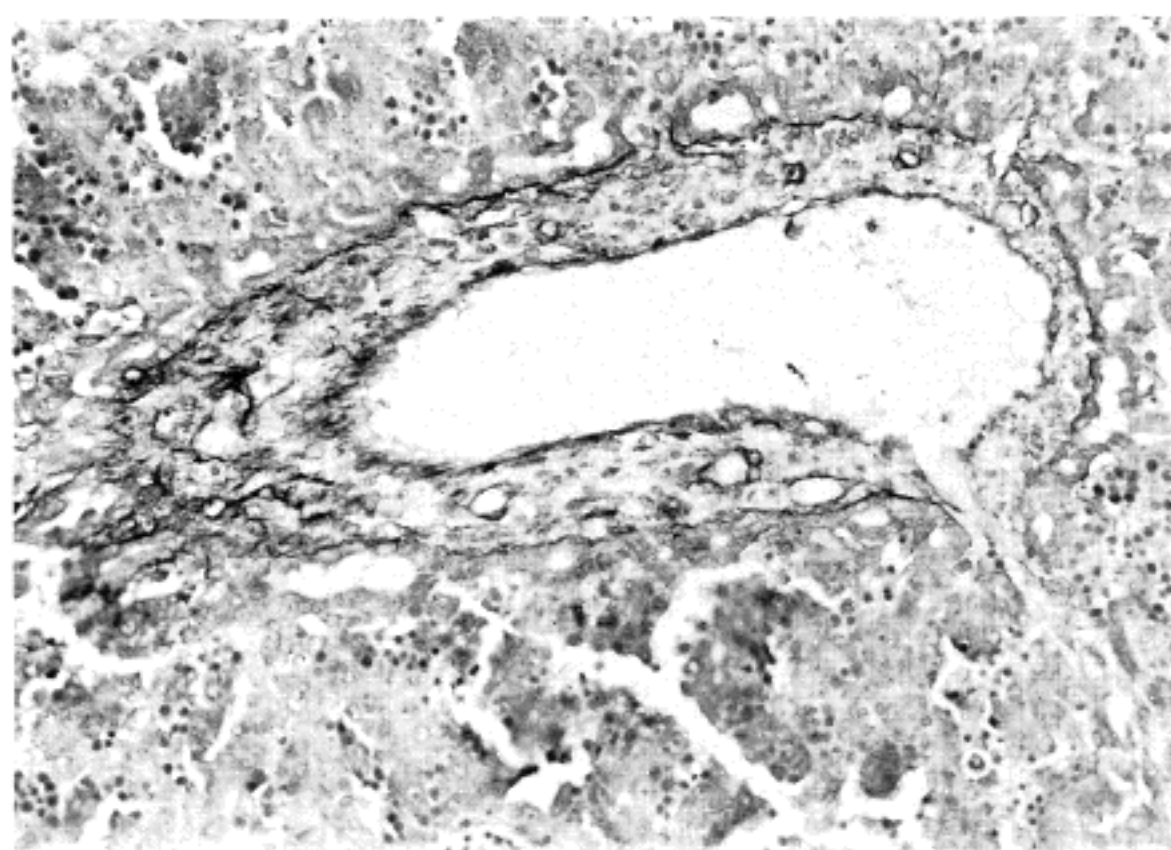
반응이 소실되고, 담관관은 6주 부터 관찰되어 CAM 5.2, AE1과 34bE12에 양성으로 반응하였다고 기술하였다<sup>10)</sup>. 그러나 Shah등의 연구결과에는 두 가지 문제점이 있다. 첫째는 담관관의 관찰시기이다. 즉 임신 6주에 담관관이 관찰되었다고 하나 본 연구를 포함하여 사람에게 임신 9(재태기간 7주) 이전에 담관관이 관찰되지 않음을 이미 잘 알려져 있다. 따라서 그들이 임신 6주에 담관관을 관찰하였을 가능성 보다는 재태기간과 임신연령을 동일한 것으로 혼동하여 사용하였

을 가능성이 있다. 둘째는 AE1이 임신 24주 이전에 간세포에 반응하였다고 하나 본 연구와 Van Eyken 등의 결과에서는 임신 전기간에 걸쳐 간세포에 음성이었다. 따라서 그들이 관찰한 간세포의 AE1에 대한 반응은 면역조직화학적 염색과정에서 초래된 위양성일 가능성이 있을 것으로 사료된다<sup>11)</sup>. Van Eyken의 연구 결과는 CAM 5.2가 6주부터 간세포에 반응하고 9주에 관찰된 담관관에도 강양성이다. 14주 부터 간세포와 담관세포가 모두 cyto-keratin 8과 18에 반응





**Fig. 13.** 11 weeks of gestation. The ductal plate consisting of two types of cells shows CEA positivity along the luminal border(arrows).

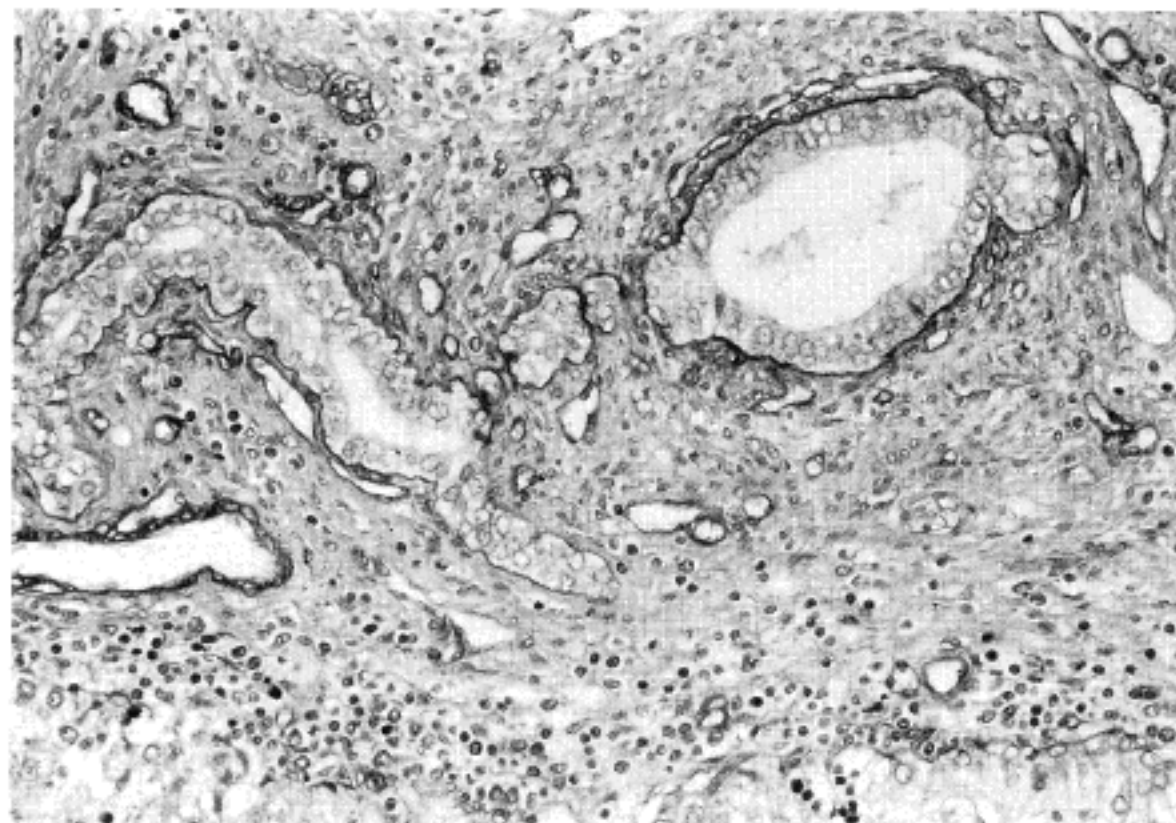


**Fig. 14.** 10 week of gestation. Laminin is expressed as a discontinuous linear positivity along the ductal plate.

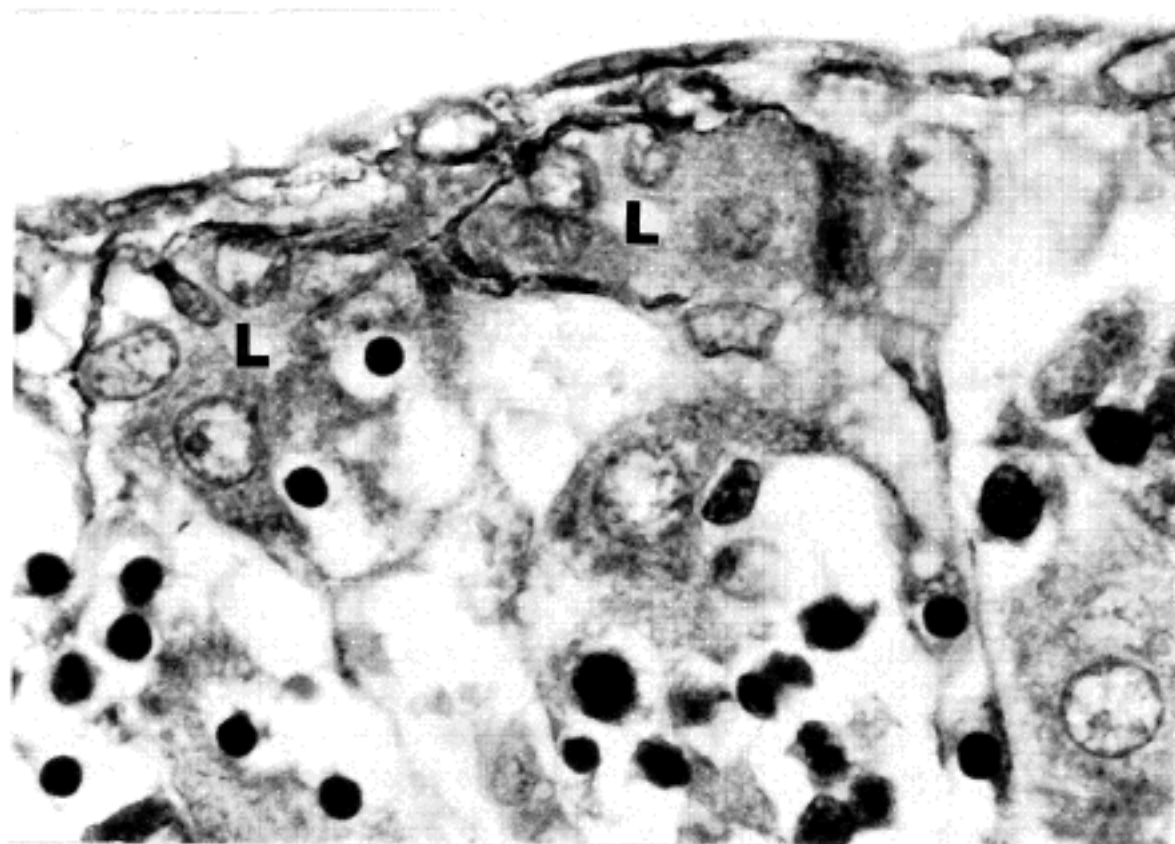
하나 담관세포에 더 강하게 염색되며, cytokeratin 19는 14주 부터 담관세포에만 염색되며 cytokeratin 7은 임신 20주 부터 담관세포에 미약하게 반응하기 시작하여 25주가 되서야 강하게 반응하였다<sup>11)</sup>. 이것은 cytokeratin 8, 18, 7 및 19단클론항체들 이용한 연구이기는 하나 연구대상에서 임신 14주 이전의 것이 포함되지 않아 미진한 점이 남아 있다. 본 연구에서는 단클론항체 cytokeratin 19와 이들 함유하고 있는 AE1을 이용하여 염색한 결과 담관관에 출현하는 시

기인 임신 9주부터 담관세포가 반응함을 알 수 있었다. 즉 간세포와 담관세포는 발생시 부터 각자 고유한 cytokeratin을 표현하며 이것은 임신 전기간에 걸쳐 변하지 않으며 성인의 것과 동일한 cytokeratin 표현 양상임을 알 수 있었다.

본 연구에서 cytokeratin 이외에 AFP, CEA, 및 laminin등에 관한 염색을 병행한 결과 흥미로운 소견들이 관찰되었다. CEA가 담관세포기원의 암종의 세포질에 양성으로 반응하는 것은 잘 알려져 있다. 그러



**Fig. 15.** 31 week of gestation. Laminin staining reveals juxtaposition of bile ducts that are surrounded completely by the basement membrane.



**Fig. 16.** 10 week of gestation. Two ductal plates(L) reveal that the laminin-positive basement membrane surrounding the ductal cells only.

나 본 연구에서는 간내담관세포는 음성인 반면 담관, 담관관 및 간세포간 담관세포는 내강을 따라 선상으로 반응하였다. 한편 담관관과 인접해 있는 간세포외의 경계부에 점상 또는 선상으로 염색되는 구조물이 관찰된 점과 CEA가 간실질에서 담관관에 반응하는 것으로 미루어 볼 때 담관관 직하부에서 관찰된 CEA 양성인 선상구조물은 담관관과 유사할 것으로 추측되며, 이는 담관세포에 인접해 있는 간세포가 간내담관의 발달과 밀접한 관계가 있음을 시사해 주는 소견으로 해

석하였다. 태아의 간세포에서 AFP이 분비되는것은 잘 알려져 있으나 AFP이 형성되는 정확한 시기는 기술된 바 없으며 다만 임신 16주경 부터 양수에서 검출되는 것이 알려져 있었다. 본 연구에서 임신 9주 부터 AFP에 반응하는 간세포가 극소수 관찰되었고 13주 이후에는 간세포에 미만성으로 반응하는 것으로 보아 AFP는 초기 태아시기 부터 간세포에서 합성됨을 알 수 있었다.

간세포와 담관세포는 그 크기, 핵-세포질의 비율,

핵의 형태 및 세포질의 양상이 서로 달라서 광학현미경적으로 구분이 되었다. 그러나 미세구조는 담관세포가 세포질내 미세사(microfilament)가 좀더 많고 기저막에 쌓여 있는 것 외에는 간세포와 담관세포가 거의 동일한 것으로 알려져 있다. 따라서 기저막의 유무가 담관세포임을 확인 할 수 있는 중요한 구조물이다. 기저막은 상피세포를 간질성 교원질로부터 구분해 주는 구조물로 그 구성 성분은 60%가량이 제 4형 콜라겐이며 그외의 성분으로는 laminin이 주성분이다. 저자들은 제 4형 콜라겐과 laminin에 대한 염색을 시행하였는데 임신 9주 부터 담관세포의 기저부에서 laminin에 반응하는 기저막이 관찰되었으나 제 4형 콜라겐은 음성이었고 이것은 오히려 미만성으로 간세포에 미약하게 염색되었다. 정상 간세포에는 제 4형 콜라겐이 없으므로 간세포에 대한 반응은 비특이적인 염색으로 해석하였다. 본 연구에서 laminin 염색을 시행한 결과 담관세포는 발달 초기 부터 기저막이 형성되어 있음을 알 수 있었고 따라서 기저막은 아마도 담관세포에서 부터 만들어 질 것으로 추정되었다. 또한 문맥에서 관찰되는 서로 인접해 있는 담관들은 laminin염색 결과로 볼때 각각의 기저막에 싸여 있는 독립된 담관임을 알 수 있었고, 이 독립된 담관들의 내강이 소통되고 연결되어 간내담관계를 형성해가는 모습이였다. 이러한 소견은 간내 담관이 간의 담관의 유입에 의해 형성되기 보다는 간내부에서 형성되어 서로 융합 및 연결되어 형성되는 것임을 뒷받침하는 소견이었다.

이상의 면역조직화학적 및 광학현미경적 소견은 간내담관계의 발달이 교원질을 갖고 있는 문맥강에서 교원질과 인접하고 있는 간세포에서 기원함을 시사하고 있다. 담관형태의 세포로 발달하게 하는 유도인자로는 간 문맥강을 싸고 있는 교원질이 관여함은 이미 알려진 사실이며 간세포의 조직배양에서 섬유모세포를 추가하면 담관과 유사한 구조의 성장양식을 보인다는 사실도 알려져 있다<sup>12,13)</sup>. 본 연구에서도 담관세포의 출현은 콜라겐을 함유하고 있는 문맥강에서만 관찰되었으나 교원질을 확인하기 위하여 Masson trichrome 염색을 시행하였으나 전 재태기간에 걸쳐 문맥강에 있는 콜라겐은 음성이었다. 이는 태아의 간 조직에 있는 교원질은 미성숙 콜라겐임을 암시하는 것이라고 생각하였다.

내강이나 틈이 있고 두 종류의 세포로 구성된 두층의 담관관에서 문맥강쪽에 연해 있는 세포는 현미경적으로 또 면역화학적으로 담관형의 세포와 동일하였으며, 간실질에 연해 있는 것은 광학현미경적으로는 간세포와 담관세포의 중간 크기로 세포질의 양상이 간세포와 유사하였고 면역조직화학적 소견도 간세포와 동일하였다. 저자들은 문헌에서 이와같이 두 종류로 구성된 담관관에 관한 기술은 찾아 볼 수 없었다. 다만 광학현미경적으로 간세포와 담관세포사이에 이행형을 관

찰하였다는 보고는 있으며 전자현미경하에서도 세포의 크기, 모양 및 미세구조가 담관세포와 간세포의 특성을 갖고 있다고 기술되고 있다. 일부 학자들은 이행형 세포에 대한 반론에 대하여 이러한 구조가 대단히 드물기 때문에 조직표본 제작과정의 인공산물일 가능성도 제기하고 있다. 그러나 그들이 기술한 이행형 세포가 저자들이 본 연구에서 관찰한 간세포-유사세포는 담관발달에 관여하는 간세포에서 담관세포로 분화해 가는 단계에서 관찰되는 이행세포일 가능성이 있다고 생각하였다.

## 결 론

총 50예의 사람 배아 및 태아의 간조직을 대상으로 출생전 간내담관의 생성 및 형태 발달을 광학현미경과 면역조직화학적 방법을 이용하여 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 간내 담관세포는 문맥가지 주변의 교원질과 인접한 세포에서 기원하며 임신 9주에 간문부체서 부터 형성되기 시작하여 태령이 증가함에 따라 간의 원위부로 진행되었고 만삭아(40주)의 간에서도 미성숙 담관세포가 아직 남아 있었다.
- 2) 간세포와 담관세포는 발생 초기 부터 고유한 cytokeratin을 발현하며 이는 전 재태기간에 걸쳐 일정하였고 그 양상은 성인의 것과 동일하였다.
- 3) 이상의 소견으로 미루어 사람의 간내담관은 문맥가지 주위의 결합조직이 간세포를 담관세포로 유도함으로써 형성된다고 판단되었다.

## 참 고 문 헌

- 1) Bloom W. *The embryogenesis of human bile capillaries and ducts. Am J Anat* 1926; 36: 451-65.
- 2) Streeter GL. *Developmental horizons in human embryos. Contrib Embryol* 1948; 32: 133-203.
- 3) Hammer JA. *Ueber die erste Entstehung der nicht kapillaren intrahepatischen Gallengänge beim Menschen. Z Mikrosk Anat Forsch* 1936; 5: 59-89. Cited by Jorgensen, 1976
- 4) Wilson JW, Groat CS, Leduc EH. *Histogenesis of the liver. In: fetal and infant liver function and structure. Whipple HE., Ed. vol 111, New York: Ann NY Acad Sci* 1963: pp8-24.
- 5) Enzan H, Ohikita T, Fujita H, Iijima S. *Light and electron microscopic studies on the development of periportal bile ducts of the human embryo. Acta Pathol Jap* 1974; 24: 427-47.
- 6) Jorgensen MJ. *The ductal plate malformation: A study of the intrahepatic bile-duct lesion in infantile polycystic disease and congenital hepatic fibrosis. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A Suppl.*

- 1976; 257: 33-88.
- 7) Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, Huang JW, Woodlock-Mitchell J, Sun TT. *Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: Monoclonal antibody studies. Cell* 1982; 30: 361-72.
- 8) Van Eyken P, Sciote R, Van Damme B, de Wolf-Peeters C, Desmet VJ. *Keratin immuno-histochemistry in normal liver. Cytokeratin pattern of hepatocytes, bile ducts and acinar gradient. Virchow Arch-A* 1987; 412: 63-72.
- 9) Vanstapel MJ, Butron M, Desmet VJ. *Keratin immunohistochemistry in normal and pathological human liver. Hepatology* 1984; 4: 1037 Abstract
- 10) Shah KD, Gerber MA. *Development of intrahepatic bile ducts in humans. Immunohistochemical study using monoclonal cytokeratin antibodies. Arch Pathol Lab Med* 1989; 113: 1135-38.
- 11) Van Eyken P, Sciote R, Callea F, Van Der Steen K, Moerman P, Desmet VJ. *The development of the intrahepatic bile ducts in man: A keratin immunohistochemical study. Hepatology* 1988; 8: 1586-95.
- 12) Shiojiri N. *The origin of intrhepatic bile duct cells in the mouse. J Embryol and Exp Morphol* 1984; 79: 25-39.
- 13) Hillis WD, Bang FB. *Cultivation of embryonic and adult liver cells on a collagen substrate. Exp Cell Res* 1959; 17: 557-60.
- 14) Clearfield HR. *Embryology, malformations, and malposition of the liver. In: Berk Je, Haubrich WS, Kalser MH, Roth JLA, Schaffner F, eds. Bockus Gastroenterology. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1985; 2659-65.*
-

## 사람의 간내담관의 발달에 관한 형태학적 및 면역조직학적 연구

인제대학교 및 서울대학교\* 의과대학 병리학교실

서 연 립 · 지 제 근\*

### Development of Intrahepatic Bile Duct in Human Embryos and Fetuses; Histologic and Immunohistochemical Observations

Yeon-Lim Suh, M.D. and Je G. Chi\*, M.D.

*Departments of Pathology, Inje University College of Medicine  
and Seoul National University College of Medicine\**

Sequential development pattern of the intrahepatic bile ducts is analyzed histologically and immunohistochemically using 50 embryonal and fetal liver specimens. Serial sections are made to reconstruct the intrahepatic biliary system, and monoclonal antibodies were used for differential antigenic expression of the biliary system.

By 9 weeks of gestation a layer of small round cells, namely plate cells, became first noticed around large portal vein branches close to the hepatic hilum. These plate cells extended subsequently to more distal branches. The ductal plates became duplicated to contain cleft-like spaces and tubular structures. These tubules gradually became incorporated into surrounding connective tissue around the portal vein, and gave the appearance of the individualized bile duct. At term(40 weeks of gestation) the smallest branches of the portal vein were still surrounded by a discontinuous ductal plate.

The ductal plate cells showed strong positive reaction for CAM 5.2 and AE1/AE3. They also expressed CK 19 and AE1 from 9 weeks of gestation on. The immunoreactivity of bile duct cells for cytokeratins persisted throughout the whole gestational period. Carcinoembryonic antigen was expressed along the luminal border of the bile duct, duplicated ductal plate and intrahepatic bile canaliculi. Laminin was demonstrated along the basement membrane of the bile duct cells from 9 weeks of gestation.

Few duplicated ductal plates were composed of two different types of cells, duct-like cells and hepatocyte-like cells. The duct-like cells and hepatocyte-like cells showed same immunoreactivity with the hepatocytes and the bile duct cells, respectively, suggesting that the intrahepatic bile duct cells are actually coming from the hepatocytes around the branches of the portal vein. (**Korean J Pathol 1994; 28: 8~21**)

**Key Words:** Intrahepatic bile duct, Development, Human, Immunohistochemistry, Liver

접 수: 1993년 6월 8일, 게재승인: 1993년 11월 3일

주 소: 서울시 종로구 연건동 28번지, 우편번호 110-744

서울대학교 의과대학 병리학교실, 지제근

\*본 논문은 1991년 인제대학교 장학재단 및 서울대병원 임상연구비의 지원에 의하여 이루어졌음.

## 서 론

사람의 간내담관은 임신 9주까지는 나타나지 않다가 정둔장 18 mm부터 관찰된다. 사람의 간내담관의 발달에 관한 지식은 간내담관의 발육부전 및 폐쇄증과 같은 선천성 기형과 간의 병적인 상태에서 관찰되는 담관의 증식반응을 이해하는데 중요한 것임에도 불구하고 아직도 그 기원과 발달기전에 관해서는 정설이 없으며 세가지 가설만이 제창되었다. 가설중 첫째는 간문의 위치하는 담관의 상피세포가 간내부로 자라 들어가서 담관을 형성한다는 것이고<sup>3)</sup> 둘째는 간실질 세포가 그 자리에서 담관상피세포로 재분화 한다는 것이며<sup>4,5)</sup> 셋째는 위의 두 가설의 병합설로 세담관은 태아의 간세포에서 발생하고 소엽 담관과 큰담관은 담관세포에서 기원한다는 가설이다<sup>6)</sup>. 이들 세가설중에서 최근에는 간세포 기원설이 주목을 받고 있으며 많은 문헌에서 간내담관은 문맥분지 주변의 간세포에서 발생한다는 근거를 광학현미경 및 전자현미경적 관찰 또는 효소조직화학적 방법등을 통해서 제시하고 있다. 그러나 아직도 간내담관의 발달에 관한 정설은 없다.

본 연구에서 저자들은 사람의 배아 및 태아의 간내담관의 발달과정에 관하여 연령에 따라 형태학적 소견을 관찰하고 동시에 간 및 담관세포에 특이하게 반응하는 면역항체들을 이용하여 간내담관세포의 기원을 규명하고자 하였다.

## 연구대상 및 방법

연구대상은 총 50예의 사람 간조직으로 10예는 배아에서, 40예는 태아에서 얻었다. 연령은 임신연령 (gestational age)으로 표시하였으며 Table 1과 같다. 배아와 초기의 태아는 자궁의 임신 또는 기사 의학적 이유로 적출된 자궁에서 얻은 것으로 신선한 것만을 선택하였고 그외의 태아는 서울대학교 의과대학 병리학교실의 부검목록에서 정상으로 진단되었던 태아의 간조직을 선택하였다. 배아 및 초기태아는 신선상태에서 정둔장, 체중, 발길이 등을 측정한 후 포르말린

에 고정 및 파라핀에 포매하여 4 um 두께로 연속절편을 하였으며, 10~15주 까지의 태아는 불력절편을 하였다. 태아의 간 조직은 포르말린에 고정하였고 파라핀에 포매한 후 헤마톡실린-에오진 염색을 시행하였으며 10주 이상의 태아간은 선별적으로 Masson trichrome과 reticulin염색을 하였다. 면역조직화학적 염색은 배아 및 태아 38예를 대상으로 파라핀에 포매되었던 조직을 이용하여 avidin biotin complex법에 따라 염색하였다. 본 연구에 사용한 면역항체는 모두 단클론항체로써 CAM 5.2(Moll's Catalog numbers 8, 18, 19; Becton Dickinson, Calif), mouse anti-human cytokeratin 19(Dakopatts, Denmark), AE1/AE3(BioGenex, Calif), AE1(Triton biosciences, Calif), rabbit anti-human alpha-1-fetoprotein(Dako, Denmark), laminin(BioGenex, Calif), Carcinoembryonic antigen(BioGenex, Calif)등을 사용하였다(Table 2).

## 결 과

### 1) 간내 담관의 형태학적 발달

간에서의 담관의 발달은 임신 9주(배령 52~53일)

**Table 1.** Age distribution of 50 cases used in this study

Fetal age(wk)	No. of cases
7~10	10(6)
11~14	9(9)
15~18	6(4)
19~22	5(4)
23~26	5(4)
27~30	5(4)
31~34	5(4)
35~38	5(3)

\*Number in the parenthesis refers to cases studied with immunohistochemical methods.

**Table 2.** Summary of cytokeratin expression in this series

Antibodies	Specificity	Source	Reactivity
CAM 5.2	CKs 8, 18, 19	Becton-Dikinson	H and BD
AE1/AE3	CKs 8, 18, 19	Triton-Biosciences	H and BD
AE1	CKs 19	Triton-Biosciences	BD
Monoclonal antiCK 19	CKs 19	Dako	BD

H; hepatocyte, BD; bile duct cell