

한우의 흉골 발생에 관한 형태학적 연구

이한경 · 양홍현 · 백영기
전북대학교 수의과대학 해부학교실
(1989. 1. 30 접수)

A morphological study on the sternal development of Korean cattle

Han-kyoung Lee, Hong-hyun Yang, Young-ki Paik
College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University
(Received Jan 30, 1989)

Abstract: This study was undertaken to obtain basic data of the sternal development in Korean native cattle from the earliest sternal formation to the ossification using histological and histochemical methods. Thrity three sterna were collected from a series of embryos and fetuses ranging from 11 to 225mm (estimated age 37~120days) in crown rump length.

The bilateral sternal bars were observed in the 2nd group(CRL 21~30mm) of Korean cattle embryos. Those bars initiated to be fused in the 3rd group (CRL 31~40mm) and completed in the 7th group(CRL 71~80mm).

The ossification centers were detected in the 8th group(CRL 81~90mm) also bilateral ossification centers were found in the same group. The typical epiphyseal plates, endochondral bone and calcium deposit were found in the 9th group(CRL 91~100mm). Osteocytes, osteoblasts, osteoclasts and myeloid cells appeared in ossification centers in the 10th group(more than CRL 101mm).

The alcianophilia responded markedly in the 9th group that was decreased and showed slightly positive reaction in territorial matrix of the 10th group. Marked positive reaction to PAS was observed in bony trabeculae in the 10th group. The positive reaction to calcium deposit by trichrome stain was observed initially in the hypertrophied zone of epiphyseal plate in the 9th group and was conspicuous in the calcified zone of epiphyseal plate in the 10th group. The 1st positive reaction to the von Kossa stain was observed in the 9th group.

Key words: sternal development, Korean native cattle.

서 론

태생기 골격의 발생은 태령 추정 및 각종 기형 발생 등의 지표가 되므로 오래전부터 사람을 비롯하여 가축 실험동물등에서 많은 연구가 이루어졌다.

흉골은 추골, 늑골과 함께 흉강을 형성하며 흉부복측 중앙부에 위치하여 흉강장기를 보호하는 기능과 더불어 흉부근육의 부착점이 되는 중요한 골이므로 흉골의 비정상적인 발생이나 성장은 흉곽의 선천적 기형을 유발케되고 심하면 생명을 잃게 된다.¹

Rathke²에 의해서 흉골의 발생이 흉골봉(sternal band 또는 sternal bar)으로부터 시작된다고 보고된 이래 Flower³, Whitehead와 Waddell⁴은 각종 동물에서 흉골 발생의 근원에 관하여 보고하였다. Hanson⁵은 돼지 태아에서 흉골봉의 형성과 융합 시기, 그리고 골화중심에 대하여 보고하였고, Hodges⁶는 돼지 태아의 골격에 질산은을 침착시키고 방사선을 이용하여 골화중심의 출현시기를 규명하였다. Hanson⁵은 돼지 태아에서 흉골을 비롯한 여러 부위의 골로부터 골화중심의 발생시기를 관찰하고 인종과 성별로 분리하여 보

고하였다. 또한 Wright et al⁷은 태자의 골격은 배아 발생의 지표가 되며 모체내의 환경 변화를 반영한다고 전제하고 Long-Evans계 흰쥐에서 toluidine blue와 Arizalin red 염색을 이용하여 골화의 초기 발생에 대하여 보고하였다. Lindsay⁸는 소에서 골화중심을 관찰하고 태령과 관련된 시기별 특징을 보고한바 체측 중배엽의 간엽세포가 치밀해져 양측성 흉골봉을 형성하고 융합되면서 연골내골화가 이루어지는 과정을 구체적으로 기술하였다.

최근에는 닭 태아의 흉골 조직을 배양하여 각종 collagen에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며⁹, 사람의 흉골편 발생 시기에 관한 연구¹⁰, 그리고 흉골—늑골—쇄골의 관절 발생에 관한 연구 보고가 있었다.¹¹ 또한 Ariyuki¹²는 흰쥐에서 결석과 ergocalciferol이 흉골 발생을 지연시키는 요인이 된다고 발표하였다.

이와같이 각종 동물에서의 흉골 발생 과정이 다각적으로 연구되어 왔으나 한우에서의 연구는 아직 보고되어 있지 않은 실정이다. 저자는 한우에서의 흉골봉의 형성과 융합시기, 골화중심의 출현과 골화과정, 골화에 관여하는 물질들의 변화상을 발생 시기별로 관찰하여 동물 발생의 기초 자료를 얻기 위하여 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

연구 재료: 전라북도 일원의 도축장에서 수집한 한우 배자 및 태자에 대하여 선천적 기형여부를 확인하고 Vernier caliper로 태자의 두미장(Crown Rump Length, 이하 CRL로 표기)을 측정한 후 10% 중성 포르마린에 고정하여 사용하였다.

연구 방법

시험군 배정: 시험 재료는 Evans와 Sack¹³, Canfield,¹⁴ 김등¹⁵의 방법에 의하여 CRL을 기준으로 CRL 11~225mm(추정 태령 28~120일) 사이의 배자 및 태자 33두를 CRL 11mm부터 100mm까지는 10mm 간격으로 9개 군으로 분리하고 각군에 3두씩 배치하였으며 CRL 101mm이상의 태자를 제 10군으로 하여 6두를 배치하였다.

일반 조직학적 관찰: 실험 재료의 흉골 부위 및 흉골을 해부현미경하에서 절출하여 근육을 제거하고 일반적인 조직표본 제작 방법에 의하여 파라핀에 포매하고 6 μ m두께의 연속 절편을 제작한 후 hematoxylin-eosin 염색을 하여 광학현미경으로 일반적인 조직변화를 관찰하였다.

조직화학적 관찰

Alcian blue-PAS 복합 염색: 연골내의 산성점액다

당류(acid mucopolysaccharides)와 glycogen 분포 상태를 관찰하기 위하여 일반 조직 표본 제작 방법으로 제작된 조직 표본을 Mowry¹⁶의 방법에 따라 alcian blue (pH 2.5)-PAS 복합 염색을 시행하여 그 반응의 정도를 관찰하였다.

Trichrome 염색: 연골 및 연골외막 주변의 칼슘 침착, collagen의 변화등을 관찰하기 위하여 일반 조직 표본 제작 방법으로 제작된 조직 표본을 Pollak¹⁷ (Pollak rapid method)의 방법으로 trichrome염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

von Kossa 염색: 연골내 골화가 진행됨에 따른 연골내의 칼슘 침착의 시기를 규명하기 위하여 일반 조직 표본 제작 방법으로 제작된 표본을 Mallory¹⁸의 방법에 의하여 von Kossa 염색하고 광학현미경으로 반응의 정도를 관찰하였다.

결 과

일반 조직학적 소견

제 1군(CRL 11~20mm, 추정 태령 37일)에서는 늑연골 말단 부위의 간엽세포가 다소 치밀해지기 시작하는 시기로서 후에 흉골봉으로 발생될 부위를 예측할 수 있었으나 연골아세포는 관찰되지 않았다(Fig 1).

제 2군(CRL 21~30mm, 추정 태령 50일)의 초기에는 간엽세포가 치밀해져 양측성의 흉골봉이 형성되었으며 더욱 진행된 재료에서는 완전한 흉골봉이 형성되고 연골전구세포가 관찰되었다(Fig 2).

제 3군(CRL 31~40mm, 추정 태령 50일)에서는 흉골봉 선단 부분에서부터 융합이 시작되었으며 연골아세포와 연골세포가 다수 관찰되었다(Fig 3).

제 4군(CRL 41~50mm, 추정 태령 52일)에서는 흉골봉의 선단 부분은 완전히 융합되었고 제 6, 7, 8늑연골부위에서는 융합의 중심부에서 약간의 간엽세포가 관찰되었다.

제 5군(CRL 51~60mm, 추정 태령 58일)에서는 제 1~6 늑연골 부위의 흉골봉은 완전히 융합되었으나 제 7, 8 늑연골 부위의 흉골봉은 완전하게 융합되지 않았으며 흉골봉 구성 세포는 대부분 미성숙 연골세포들로 구성되었다.

제 6군(CRL 61~70mm, 추정 태령 60일)에서는 제 5군에서의 비슷한 조직학적 소견을 나타내었으나 연골세포가 다소 성숙해져 연골소강이 명확해지고 연골기질부가 확대되었다(Fig 4).

제 7군(CRL 71~80mm, 추정 태령 62일)에서는 흉골봉의 융합이 이루어져서 완전한 연골성 흉골을 형성하였다(Fig 5).

제 8군(CRL 81~90mm, 추정 태령 68일)에서는 처음으로 골화중심이 관찰되었으며, 특히 제6,7늑연골 부위에서는 양측성 골화중심이 관찰되었다(Fig 6).

제 9군(CRL 91~100mm, 추정 태령 70일)에서는 골화중심을 기점으로 골단연골판이 형성되기 시작하였으며 연골소주 내에서는 연골 내골이 관찰되었다(Fig 7).

제 10군(CRL 101~225mm, 추정 태령 75일~120일)에서는 많은 골세포와 골아세포, 파골세포, 골수세포가 관찰되었으며 불규칙한 골소주가 문합상을 나타내면서 골수강을 형성하였다(Fig 8, Fig 9).

조직화학적 소견

Alcian blue-PAS 복합 염색 소견: 제 1군부터 9군까지는 구역기질이 강한 alcian호성 반응을 나타내었으나 그 정도는 태령이 증가할수록 다소 약하게 관찰되었고 구역간기질에서는 alcian blue와 PAS에 모두 음성반응을 나타내었다(Fig 10, Fig 11). 제 10군에서는 구역기질의 alcian호성이 미약하게 인정되었고 제 10군의 골소주에서는 PAS에 부분적으로 강하게 반응되었다(Fig 12).

Trichrome 염색 소견: 제 1군부터 제 9군까지는 초자연골이 미약한 청색반응을 나타내었고 제 9군의 골단연골내의 비대연골대 하단에서는 미약한 양성 반응을 나타내었으나 칼슘의 침착은 인정되지 않았다(Fig 13, Fig 14). 제 10군에서는 collagen이 양성 반응을 나타내었으며 골단연골내의 석회화대의 칼슘 침착 부위에서는 강한 양성 반응을 나타내었다(Fig 15).

von Kossa 염색 소견: 제 8군까지는 von Kossa 염색에 반응을 나타내지 않았으나(Fig 16), 제 9군의 골화중심에서 미약한 양성 반응을 나타내었으며(Fig 17), 제 10군의 골단연골판 석회화대에서는 강한 양성 반응을 나타내었다(Fig 18).

고 찰

흉골 발생은 연골성 늑골의 말단 부위가 복경중선 쪽으로 성장해 나오면서 흉부 양측에서 척추 중배엽의 간엽세포가 종축으로 집적되어있는 부위와 만나는데 이것을 흉골봉(sternal bar)이라 하며, 이 흉골봉은 성장함에 따라 서서히 흉부 정중선에서 융합되고 분절화되어 흉골편을 형성하게 된다.¹

Hanson⁵은 돼지를 대상으로 한 연구에서 24mm의 배자에서 흉골봉이 완전해 지고 115mm 태자에서는 융합이 시작되며 131mm 태자에서는 골화중심이 처음으로 출현한다고 보고하였다. Lindsay⁸는 소에서 조직학적 방법으로 연골 전구세포가 된 흉골 전구체를 관찰할 수 있는 시기는 추정 태령 50일령 이었으며 추정 태령

53일에 흉골봉이 출현하였고 64일에 융합이 완전해졌으며 75일에는 골화중심이 처음으로 관찰되었다고 보고 하였다. 또한 Wright et al⁷은 Long-Evans계 흰쥐에서 태령 17.5일에 연골성 흉골이 형성되고 18.5일에는 골화중심이 출현하며 19.5일에는 골이 나타난다고 보고 하였다. 한우를 대상으로 한 본 연구에서는 제 1군(CRL 11~20mm, 추정 태령 34일)에서 이미 늑연골 말단 부위의 간엽세포가 집적되어 흉골 전구체를 형성하기 시작하였다. 또한 양측성으로 발생된 흉골봉이 그 선단 부위부터 서서히 융합되어 완전한 하나의 흉골로 형성되어감을 인정할 수 있었다. 그리고 제 2군(CRL 21~30mm, 추정 태령 45일)에서 완전한 양측성의 흉골봉을 형성하였으며, 제 3군(CRL 31~40mm, 추정 태령 50일)에서 흉골봉 선단 부분이 융합되기 시작하여 제 7군(CRL 71~80mm, 추정 태령 60일)에서 융합이 완전해졌다. 이러한 결과는 Lindsay⁸가 소에서 관찰한 완전한 흉골봉 형성 시기(추정 태령 53일)와 흉골봉 선단부위가 융합된다는 시기(추정 태령 53일)는 본 연구의 결과와 일치하지 않으나 융합이 완전해진 시기(추정 태령 64일)는 본 연구의 결과와 거의 일치한 보고이다. 또한 본 연구에서는 제 8군(CRL 81~90mm, 추정 태령 68일)에서 처음으로 골화중심이 관찰된 것은 Lindsay⁸의 연구 결과에 비하면 다소 이른 시기에 나타났다.

Hanson⁵은 131mm의 돼지에서, 그리고 Lindsay⁸는 추정 태령 128일령의 소에서 각각 처음으로 양측성 골화중심이 관찰되었다고 보고하였으나 본 연구에서는 이들의 결과보다 빠른 시기인 제 8군(CRL 81~90mm, 추정 태령 68일)에서 관찰되었다.

연골내골화 형식을 취하는 골조직은 그 골화 과정중에 필수적으로 골단연골판이 형성된다고 하며 그 형태와 기능, 세포들의 특징에 대하여 Carlson,¹⁹ Banks²⁰가 보고한 바와 같이 본 연구에서도 골화중심이 처음 관찰된 시기인 제 8군에서 골단연골판이 형성되기 시작하여 제 9군에서는 예비연골대(zone of resting chondrocytes), 증식연골대(zone of proliferating chondrocytes), 비대연골대(zone of hypertrophied chondrocytes), 석회화대(zone of calcified cartilage)의 전형적인 형태를 이루었다.

Carlson et al¹⁹이 조직학적으로 골단연골판을 관찰한 바, 예비연골대는 지질과 응집된 glycogen을 함유하고 있으며 증식연골대로 가면서 점차로 세포들은 증식되고 지질과 glycogen이 감소하며 4~8개의 세포들이 난형으로 군집을 이룬다고 한 바와같이 본 연구에서도 연골 세포들의 배열상이 이와 흡사하였다.

연골기질의 구성 성분은 1차적으로 glycosaminoglycans(GAGs)로 되어 있으며 대부분 chondroitin-4-sulfate와 chondroitin-6-sulfate로 되어 있는데 어린 동물 및 태생기 동물에서는 chondroitin-4-sulfate가 차지하는 양이 많아져서 더 성장한 태자에서는 구역기질과 구역간기질에서 염기호성이 증가한다고 하였다.²⁰ 본 연구에서도 H-E 염색을 하여 관찰한 결과 태자가 성숙해지면서 염기호성이 강해졌다.

Hill²¹은 어린 돼지의 골 조직의 Alcian blue, von Kossa 염색도를 관찰한 바, 구역기질 및 구역간기질에서 생후 15일 이후부터 명확한 양성 반응이 나타난다고 하였으며 Sheppard와 Mitchell²²은 연골내막의 glyco-gen 양성 반응과 연골 기질에서의 산성결핵다당류가 양성 반응을 나타내는 이 부위에 proteoglycan이 다량 함유되어 세포중식이 왕성함을 시사한다고 하였다. 본 연구에서는 제 9군(CRL 91~100mm)의 구역기질에서 alcian호성 반응이 부분적으로 강한 양성 반응을 나타내었고 제10군(CRL 101mm 이상)에서는 구역기질 및 구역간기질에서 모두 미약한 양성 반응을 나타내어 골화가 진행되고 있음을 알 수 있었다.

Pals et al²³은 소 태자의 골단연골판은 성숙연골에 비하여 collagen 함량이 적게 나타난다고 보고하였고 김등¹⁵은 소 태자의 대퇴골에서 연골내골화가 진행됨에 따라 collagen 함량이 점차 증가한다고 보고하였다. 본 연구에서는 제 9군의 비대연골대 하단 연골기질 부위에서 처음으로 collagen 양성반응이 미약하게 관찰되었고 동일군의 석회화대 골침에서는 다소 강한 양성 반응이 관찰되었다. 제10군(CRL 101mm 이상)의 골소주의 연골내골 형성부위에서는 강한 collagen 양성 반응이 나타났고 적색의 양성 반응도 강하게 관찰되어 왕성한 칼슘 침착이 일어나고 있음을 알 수 있어서 Pals 등¹⁵과 김등²³의 보고와 일치한 결과를 보였다.

또한 본 연구의 제 9군(CRL 91~100mm)의 골화중심에서는 처음으로 von kossa 염색에 양성 반응을 나타내어 이 시기부터 칼슘 침착이 시작됨을 시사하였으며 제10군(CRL 101mm 이상)의 골화중심에서는 강한 von Kossa 양성 반응이 나타나 활발하게 골화가 진행되고 있음을 나타내었다.

이상의 연구 결과를 종합하면 한우 배자 및 태자에서 흉골봉이 형성되는 시기는 제 2군이었으며 골화중

심이 관찰되는 시기는 제 8군(추정태령 68일)부터 이었고 제 9군(추정태령 70일)에서부터는 골단연골판이 형성되고 칼슘이 침착되어 연골내골화가 진행되는 시기임을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 한우 배자 및 태자의 태령 추정에 도움이 될 수 있을 것으로 사료되고, 태생기에 유발될 수 있는 각종 기형의 발생 시기와 모체측의 환경등을 연구하는데 있어서 기초 자료가 될 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

수집된 한우 배자 및 태자중 CRL 11~225mm(추정태령 28~120일) 사이의 33두로부터 흉골 부위를 절취하여 흉골의 형성 과정을 일반 조직학적 및 조직화학적 방법으로 관찰하였던 바, 다음과 같은 결론을 얻었다.

양측성의 흉골봉은 제 2군(CRL 21~30mm, 추정태령 37일)에서 관찰되었고 그 선단 부분부터 융합되기 시작하여 제 7군(CRL 71~80mm, 추정 태령 62일)에서 완전히 융합되어 하나의 연골성 흉골을 형성하였다.

골화중심은 제 8군(CRL 81~90mm, 추정 태령 68일)에서 처음 관찰되었고 양측성 골화중심도 동일군에서 인정되었다.

골단연골판이 형성된 시기는 제 9군(CRL 91~100mm, 추정 태령 70일) 부터이며 이 시기부터 칼슘의 침착이 시작되면서 연골내골이 관찰되었다.

제10군(CRL 101mm 이상, 추정 태령 75~120일)의 골화중심에서는 골세포, 골아세포, 파골세포, 골수세포가 관찰되었고 골소주가 문합상을 나타내었다.

Alcian 호성 반응은 제 9군의 구역 기질에서 강한 양성을 나타내었으나 제10군의 구역기질 및 구역간기질에서 미약한 양성 반응을 나타내었다. 또한 제10군의 골소주에서는 부분적으로 강한 PAS 양성 반응을 나타내었다.

제 9군의 골단연골판 비대연골대 하단에서 처음으로 trichrome양성 반응을 나타내었고 제10군의 석회화대에서는 강한 양성 반응을 나타내었다.

von Kossa 양성 반응은 제 9군의 골화중심에서 부터 인정되었고 제10군의 골단연골판 석회화대에서는 강한 양성 반응을 나타내었다.

Legends for figures

- Fig 1.** The massed mesenchymal cells(arrow) were observed in the distal portion of the cartilagenous ribs in the 11~20mm CRL Korean cattle embryo. H-E stain. $\times 40$.
- Fig 2.** The longitudinal sternal bar(arrow) was observed in the distal portion of the cartilagenous ribs in the 21~30mm CRL Korean cattle embryo. H-E stain. $\times 100$.
- Fig 3.** The bilateral sternal bars were partially fused(arrow) in the 31~40mm CRL Korean cattle embryo. H-E stain. $\times 100$.
- Fig 4.** The matrix material and its basophilia were more increased and lacunae were observed markedly than those of younger group in the 61~70mm CRL Korean cattle fetus. H-E stain. $\times 100$.
- Fig 5.** The bilateral sternal bars were completely fused in the 71~80mm CRL Korean cattle fetus. H-E stain. $\times 100$.
- Fig 6.** The bilateral ossification centers(arrow) were observed initially in the 81~90mm CRL Korean cattle fetus. H-E stain. $\times 40$.
- Fig 7.** The typical epiphyseal plates were observed in the 91~100mm CRL Korean cattle fetus. H-E stain. $\times 100$.
- Fig 8.** The bony spicules, osteocytes, osteoblasts were observed initially in the ossification centers in the early 10th group (longer than 100mm CRL) of Korean cattle fetus. H-E stain. $\times 100$.
- Fig 9.** The osteocytes, osteoblasts, osteoclasts, myeloid cells, endochondral bone formation and anastomosed bony spicules(arrow) were observed in the lately 10th group (longer than 100mm CRL) of Korean cattle fetus. H-E stain. $\times 40$.
- Fig 10.** The alcianophilia was observed markedly positive reaction in territorial matrix in the 81~90mm CRL Korean cattle fetus. And PAS reaction was observed negatively in the same group. Alcian blue-PAS combined stain. $\times 100$.
- Fig 11.** The alcianophilia and PAS reaction were observed slightly positive in ossification centers in the 91~100mm CRL Korean cattle fetus. Alcian blue-PAS combined stain. $\times 100$.
- Fig 12.** The alcianophilia and PAS reaction were observed markedly positive in ossification centers in the 10th group (longer than 100mm CRL) of Korean cattle fetus. Alcian blue-PAS combined stain. $\times 100$.
- Fig 13.** The trichrome reaction was observed negatively in the 81~90mm CRL Korean cattle fetus. Trichrome stain. $\times 100$.
- Fig 14.** The slightly positive reaction was observed in hypertrophied zone of epiphyseal plate in 91~100mm CRL Korean cattle fetus. Trichrome stain. $\times 100$.
- Fig 15.** The markedly positive reaction was observed in calcified zone of epiphyseal plate in the 10th group (longer than 100mm CRL) of Korean cattle fetus. Trichrome stain. $\times 100$.
- Fig 16.** The reaction was observed negatively in ossification center in the 81~90mm CRL Korean cattle fetus. von Kossa stain. $\times 100$.
- Fig 17.** The reaction was observed slightly positive in ossification center in the 91~100mm CRL Korean cattle fetus. von Kossa stain. $\times 100$.
- Fig 18.** The reaction was observed markedly positive in ossification center in the 10th group (longer than 100mm CRL) of Korean cattle fetus. Trichrome stain. $\times 100$.

참 고 문 헌

1. Noden DM, Lahunta A. *The embryology of domestic animals*. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 1985; 125~129.
2. Rathke. Sur le development du Sternum. In: Hanson FB. *Anat Rec* 1919; 17:1~21.
3. Flower WH. Osteology of the mammalian. In: Hanson FB. *Anat Rec* 1919; 17:1~21.
4. Whitehead and Waddell. The early development of the mammalian sternum. *Am J Anat* 1911; 12.
5. Hanson FB. The development of the sternum in *Sus scrofa*. *Anat Rec* 1919; 17:1~2.
6. Hodges PC. Ossification in the fetal pig. *Anat Rec* 1953; 116:315~325.
7. Wright HV, Asling CW, Dougherty HL, et al. Prenatal development of the skeleton in Long-Evans rats. *Anat Rec* 1958; 130:659~672.
8. Lindsay FEF. Observations on the loci of ossification in the prenatal and postnatal bovine skeleton. II. The sternum. *Br Vet J* 1969; 125: 422~428.
9. Solursh M, Jenson KL, Seiter RS, et al. Environmental regulation of type X collagen production by cultures of limb mesenchyme, mesectoderm and sternal chondrocytes. *Developmental Biology* 1986;157:90~101.
10. Jit I, Bakshi V. Time of fusion of the human mesosternum with manubrium and xiphoid process. *Indian J Med Res* 1986; 83:322~331.
11. Colhoun EN, Hayward C, Evans KT. Inter-sterno-costo-clavicular ossification. *Clinical Radiology* 1987; 38:33~38.
12. Ariyuki F. Growth retardation induced in rat fetuses by maternal fasting and massive doses of ergocalciferol. *J Nut* 1987; 117(2):342~348.
13. Evans HE, Sack WO. Prenatal development of domestic and laboratory mammals: Growth curves, external features and selected references. *Anat Histol Embryol* 1973; 2:11~45.
14. Canfield P. Development of the bovine metanephros. *Anat Histol Embryol* 1980; 9:97~107.
15. 백영기, 양홍현, 김수명. 한우 태자의 대퇴골 골단연골판 형성에 관한 조직화학적 연구. 전북대학교 논문집 자연과학편 1987; 29:263~269.
16. Mowry RW. Alcian blue and alcian blue-periodic acid Schiff stains for carbohydrates. In: Erwin H. *Diagnostic special stains for surgical pathology*. Philadelphia: Lippincott, 1981; 5~8.
17. Pollak OJ. Pollak rapid method. In: Humason GL. *Animal tissue techniques*. 3rd ed. San Francisco: Freedman Co. 1972; 182~183.
18. von Kossa J. Staining for calcium deposits In: Humason GL. *Animal tissue techniques*. 3rd ed. San Francisco: Freedman Co. 1972; 280~281.
19. Carlson CS, Hilley HD, Henrikson CK. Ultrastructure of normal epiphyseal cartilage of the articular-epiphyseal cartilage complex in growing swine. *Am J Vet Res* 1985; 46:306~313.
20. Banks WJ. *Applied veterinary histology*. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 1986; 108~118.
21. Hill AH. Fetal age assessment by centers of ossification. *Am J Physiol Anthropol* 1939; 24 (3):251~272.
22. Sheppard N, Mitchell N. The localization of proteoglycan and electron microscopy using Safranin O. *J Ultrastructure Res* 1976; 54:451~460.
23. Pals, S, Tang LH, Choi H, et al. Structural changes during development in bovine fetal epiphyseal cartilage. *Coll Res* 1981; 1:151~176.

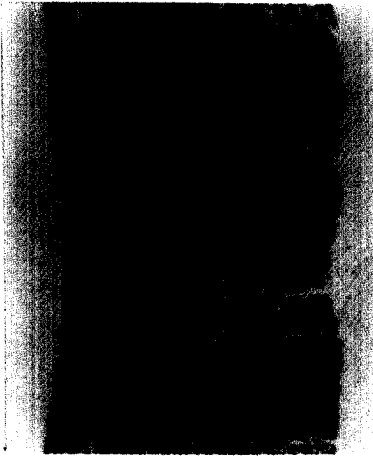


Fig. 1

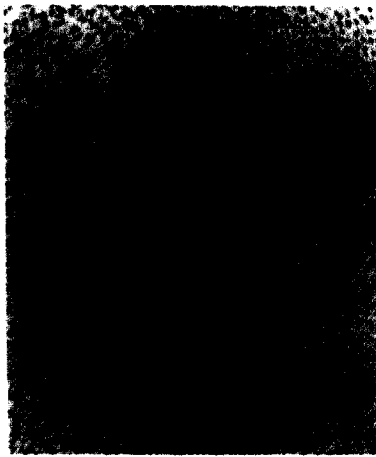


Fig. 2

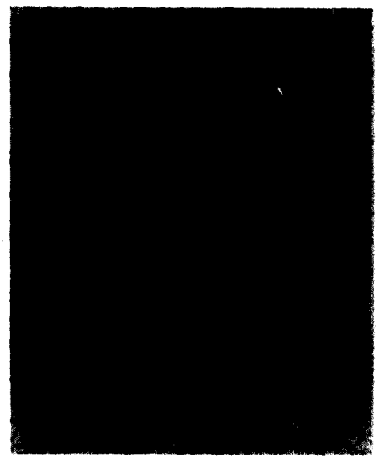


Fig. 3

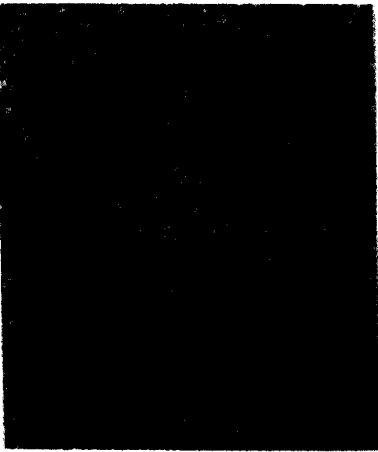


Fig. 4



Fig. 5

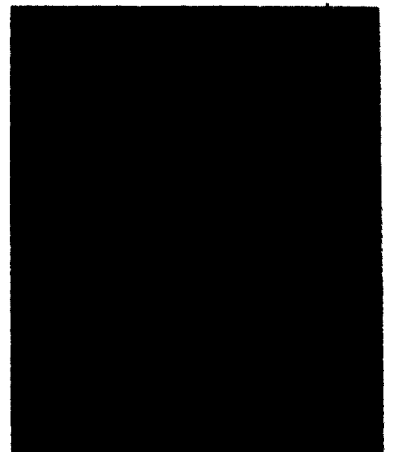


Fig. 6

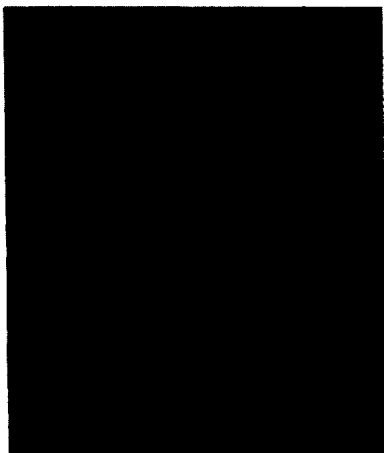


Fig. 7



Fig. 8

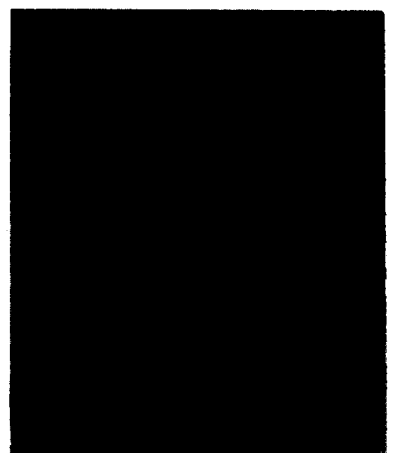


Fig. 9



Fig.10



Fig. 11

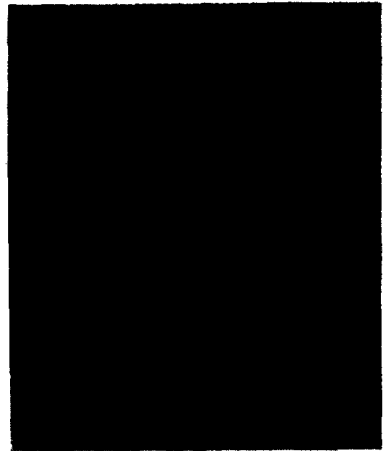


Fig.12



Fig.13



Fig.14

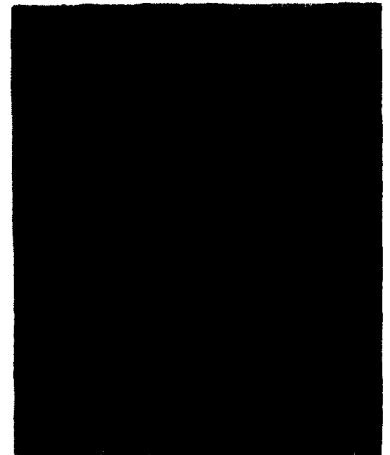


Fig.15



Fig.16



Fig.17

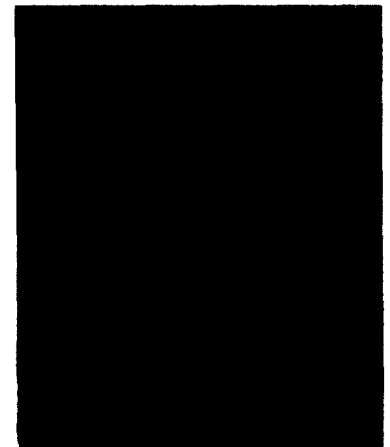


Fig.18