

한우 태자의 견갑골 발생에 관한 조직학적 연구

박문억·양홍현·백영기·이한경
럭키화장품 연구소*
전북대학교 수의과대학
(1992년 4월 7일 접수)

A histological study on the development of scapula in the Korean native cattle

Moon-euk Park*, Hong-hyun Yang, Young-ki Paik, Han-kyoung Lee

Lucky Cosmetics Reserch Institute*

Department of Veterinary Medicine, Chonbuk National University

(Received April 7, 1992)

Abstract : This study was undertaken to establish the sequence of development of ages and its time of the fetal endochondral ossification in the scapula of the Korean native cattle. This study was also designed to confirm through histological observation the earliest stages of both chondrification and ossification. Thirty eight scapulae, a series of embryos and fetuses from the pregnant Korean native cattle ranging from 11 to 110mm in crown-rump (C-R) length, were used.

The following results were obtained. The ossification center was observed in the supra- and infra- spinous fossa in the 5th group (CRL 51-60mm), that was markedly ossified in the 6th group (CRL 61~70mm) by Alizarin red S stain.

The chondrogenic center of scapula was observed in the 1st group (CRL 11~20mm). The primary ossification center was presented in the 4th group (CRL 41~50mm). In the 5th group(CRL 51~60mm), the endochondral ossification progressed actively.

Alcianophilicity was markedly increased in the interterritorial matrix in the 3rd group (CRL 31~40mm). However this reaction was markedly decreased in the interterritorial matrix, the adjacent portion to the marrow cavity and trabecula in the 5th group (CRL 51~60mm).

Key words : histological study, scapula, bone development, Korean native cattle

서 론

견갑골은 몸통 중배엽(somatic mesoderm)으로부터 기원되는 사지뿌리(limb bud)의 근위부에 위치한 중간엽 세포(mesenchyme)로부터 분화된 연골세포가 증식되어 형성된다.¹ 사람의 태아를 비롯한 각종 실험동물에서 견갑골 골화과정의 형태학적 연구를 살펴보면 사람의 배자(embryo)에서 견갑골은 중간엽세포(mesenchymal cell)에서 기원하는 것으로 보고된 후² 많은 연구자들에 의해 사람을 비롯한 동물배자 및 태자를 이용하여 연골화 시기와 뼈로 전환되는 과정에서의 일반적인 형태학

적 변화과정에 관하여 보고하였다.³⁻⁹ Lindsay^{10,11}는 소의 관골 및 흉골에 있어서 출생 전·후의 골화부위의 시기적 변화와 연골의 출현시기에 대하여 조직학적, 방사선학적 및 Alizarin red S 염색으로 골화부위를 관찰한 바 있다. 또한 Wright 등¹²은 실험동물인 Long-Evans계 흰쥐에서 toluidine blue와 Alizarin red S 염색을 이용하여 골화의 초기발생에 대하여 보고하였다. 닭과 메추리의 배자에서 견갑골을 포함한 앞다리(pectoral limb)와 뒷다리(pelvic limb)의 기원과 성숙에 관한 연구는 닭과 메추리의 배자에서 동종 또는 이종 이식에 의한 실험으로 이골은 몸통 중배엽(somatic mesoderm)으로부터

터 기원이 된다고 연구 보고하였다.¹³ 최근에는 척추동물에 있어서 견갑골 및 오목골의 진화과정과 흉골발달부의 진화에 미치는 영향에 관한 형태학적 연구가 있고¹⁴ 또한 어린 흰쥐의 뼈로부터 분리한 견갑골과 두개골(Cranium)의 뼈모세포(Osteoblast)의 이식에 의하여 형성된 뼈의 형태학적 연구에서 이 두 뼈는 서로 다른 특성을 가지고 있다고 보고하였다.¹⁵

반추동물의 골격을 골화과정에 따라 시기별로 형태적 변화상을 제시한 연구보고는 극히 희소하고 한우에서의 견갑골 발생에 관한 연구보고는 찾아볼 수 없다. 동물의 태자에서 골격발생은 모체와 태자 사이의 환경변화를 나타내는 중요한 지표가 되고 정상적인 골격발생의 표준치는 발육과정을 판단하는데 도움을 준다고 알려져 있다.¹² 그러므로 골화초기에 연골화중심에서부터 골화과정의 형태적 변화상을 일반조직 및 조직화학적인 변화상을 결부시켜 관찰함으로써 비교해부학적인 연구의 기초자료를 얻기 위하여 이 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료 : 전라북도 일원의 도축장에서 수집한 한우 배자 및 태자 38개체를 택하여 선천적 기형여부를 확인한 후 미측계(Vernier caliper)로 태자의 두미장(crown rump length, 이하 CRL로 표기)을 측정하고 이들 표본을 10% 중성포르말린에 고정하여 실험에 사용하였다.

실험방법 :

1) 실험군 배정 : 실험재료를 Canfield¹⁶의 방법에 의하여 CRL를 기준으로 태령을 추정하고 CRL 11mm-110mm(추정 태령 33~61일)사이의 배자 및 태자 38개체를 10mm 간격으로 10군으로 구분한 후 Alizarin red S 염색을 위하여 20개체의 태자를 1군부터 10군까지 각 군에 2개체씩 배정하였다. 또한 일반조직학적 및 조직화학적 관찰을 위하여 18개체를 1군부터 6군까지 각 군에 3개체를 배정하였다.

2) Alizarin red S 염색 : 견갑골의 형성과정중 유리연골원형(Hyalin cartilage model)의 형성초기부터 골화가 진행되는 과정을 Dingerkus와 Uhler방법¹⁷에 의한 Alizarin red S 염색을 시행하여 육안적으로 관찰하고 유리그릇의 저부에서 일정한 광도의 조명을 투과시켜 근접 사진촬영하여 비교하였다.

3) 일반조직학적 관찰 : 한우 배자 및 태자에서 견갑골 부위를 해부현미경하에서 적출하고 근육을 제거한 후 일반조직표본 제작방법에 의하여 파라핀에 포매하고 6 μ m 두께의 연속절편을 제작하여 hematoxylin-eosin(이하 H-E) 염색을 하여 광학현미경하에서 일반적인 조직 변화상을 관찰 하였다.

4) 조직화학적 관찰 : 견갑골의 연골기질에서의 산성 점액다당류(acid mucopolysaccharides)의 분포상태를 관찰하기 위하여 일반조직표본 제작과정과 동일한 방법으로 제작된 조직표본을 Luna¹⁸의 방법에 따라 Alcian blue(pH 2.5) 염색을 실시하여 그 반응의 정도를 관찰하였다.

결 과

Alizarin red S 염색소견 : 제1군 한우 배자(CRL 11~20mm, 추정태령 33일)와 제2군 한우 배자(CRL 21~30mm, 추정태령 42일)의 사지밖에서는 견갑골 발생 추정부위에서 연골화중심의 형성을 확인할 수 없었다.

제3군 한우 배자(CRL 31~40mm, 추정태령 48일)의 견갑골 발생부위에서는 미약한 청색의 반응을 나타내어 연골화중심(chondrogenic center)이 존재하는 것을 확인할 수 있었다(Fig 1, a).

제4군 한우 태자(CRL 41~50mm, 추정태령 54일)의 견갑골 발생부위에서는 견갑연골(cartilage of scapula) 부위가 먼저 나타나 견갑연골이 더욱 활발하게 발달되는 것을 확인할 수 있었다(Fig 1, b).

제5군 한우 태자(CRL 51~60mm, 추정태령 58일)의 견갑목(neck of scapula) 상부에서 가시위오목(supraspinous fossa)과 가시아래오목(infraspinous fossa) 부위를 가로질러서 나타나는 명확한 골화중심(ossification center)을 관찰할 수 있었으며 제4군의 견갑골에 비하여 연골화가 광범위하게 나타남을 관찰할 수 있었다(Fig 1, c).

제6군 한우 태자(CRL 61~70mm, 추정태령 61일)의 견갑골에서는 가시위오목과 가시아래오목 부위의 유리연골이 급격히 골성조직(osseous tissue)으로 바뀌면서 이 부위가 뚜렷한 적자색으로 염색되어 골화가 진행됨을 확인할 수 있었고, 견갑목 부위에서는 연골형태가 그대로 남아있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig 1, d).

제7군 한우 태자(CRL 71~80mm, 추정태령 64일)와 제8군 한우 태자(CRL 81~91mm, 추정태령 67일)의 견갑골 부위는 제6군에 비하여 골화가 더욱 활발히 진행되어 견갑목 부위에서도 진한 적자색의 반응을 나타내었다(Fig 1, e, f).

제9군 한우 태자(CRL 91~100mm, 추정태령 69일)와 제10군 한우 태자(CRL 101~110mm, 추정태령 72일)의 견갑골은 진한 적자색을 나타내는 화골부위와 진한 청색을 나타내는 견갑연골 부위로 구분되고 견갑가시가 명확해져서 가시위오목과 가시아래오목을 명확히 나타내었다(Fig 1, g, h).

일반조직학적 소견 : 제1군 한우 배자(CRL 11~

20mm)에서는 견갑골의 초기연골형성 발생부위의 중심 부위에서는 연골모세포(chondroblast)가 비대되면서 연골세포가 증식되고 유리연골원형이 형성되어 이 구조의 윤곽을 확인할 수 있었다(Fig 2).

연골화중심(chondrogenic center)에서는 타원형과 구형 등 형태가 다양한 연골세포(chondrocyte) 성숙된 것을 확인할 수 있었고, 연골세포 주위의 연골소강(lacuna of cartilage)이 뚜렷하고 연골세포의 영역사이기질(interterritorial matrix)도 넓어지는 것을 볼 수 있었다(Fig 3).

제2군 한우 배자(CRL 21~30mm)의 견갑골 부위에서는 견갑목 상부의 가시위오목과 가시아래오목으로 발전될 부위에 연골중심이 명료해지고 뚜렷한 연골외막(perichondrium)이 유리연골원형을 감싸고 있으며(Fig 4), 연골화중심(chondrogenic center)에서는 다각형 또는 불규칙한 난원형의 연골세포가 다양하게 나타나며 이 연골세포의 연골소강도 광범위하게 나타나고 연골세포사이기질의 면적이 확장되면서 연골세포의 분열상이 더욱 활발해진 것을 관찰할 수 있었다(Fig 5).

제3군 한우 배자(CRL 31~40mm)의 견갑골 부위에서는 골화중심의 연골세포 사이의 연골기질(territorial matrix)은 염색상이 더욱 호염기성이 되고 성숙연골들은 타원형 형태를 뚜렷하게 확인할 수 있었다(Fig 6).

골화중심 중앙부위에서는 비대된 연골세포가 관찰되었으며 연골막의 연골발생층에서는 소수의 모세혈관이 출현하였다. 또한 영역사이기질에서는 부분적으로 골화가 시작되는 부위를 확인할 수 있었다(Fig 7).

제4군 한우 태자(CRL 31~40mm)의 견갑연골 부위에서 연골막으로부터 혈관이 진입되는 연골관(cartilage canal)이 명료해지고 비대된 연골세포와 영역사이기질의 붕괴부에 혈관의 진입과 더불어 골수강(medullary cavity)이 형성되어 골수세포(myeloid cell)를 함유하고 불규칙한 간극이 관찰되어 일차골화중심(primary ossification center)의 형성을 확인할 수 있었다(Fig 8).

연골막 인접부에는 골세포(osteocyte)가 뚜렷하게 나타나 골화가 활발히 진행되고 연골소강이 침식되어 침식소강(erosion lacuna)이 관찰되고 불규칙한 연골소주(trabecula of cartilage)가 형성되었다(Fig 9).

제5군 한우 태자(CRL 51~60mm)의 견갑골 부위에서는 연골막 인접부위의 연골소주는 광범위하게 확장되고 내측의 뼈지주(bone trabecula)는 불규칙한 사다리 모양을 이루었다(Fig 10). 연골속골화(endochondral ossification)가 활발하게 진행되면서 침식소강 인접부에 뼈모세포(osteoblast), 뼈세포(osteocyte), 골수세포(myeloid cell)등이 다수 관찰되었다(Fig 11).

제6군 한우 태자(CRL 61~70mm)의 견갑골 부위에서는 골화중심으로부터 뼈지주가 문합상을 이루는 것이 많이 보이고 골화가 활발히 진행되어 골수강의 면적이 현저하게 넓어지고 추골연과 견갑목 부위를 향하여 골화가 더욱 진행되는 것이 관찰되었다(Fig 12). 골수강이 차지하는 영역이 확대되어 뼈지주가 벌집모양의 망상구조를 형성하고 골화부위는 격자상 구조로 나타났다(Fig 13).

조직화학적 염색 소견: 제1군 한우 배자(CRL 11~20mm) 견갑골의 초기연골형성 발생부위의 연골화 중심부와 제2군 한우 배자(CRL 21~30mm)의 연골화중심에서 연골세포의 세포영역기질과 영역사이기질에서 alcian 호성이 미약하게 나타나는 것이 관찰되었다(Fig 14, 15).

제3군 한우 배자(CRL 31~40mm)의 견갑골에서 연골세포사이의 영역사이기질은 세포영역기질에 비하여 부분적으로 강한 alcian호성을 나타내는 것이 관찰되었다(Fig 16).

제4군 한우 태자(CRL 41~50mm)의 견갑골의 골화중심에서 비대된 연골세포의 붕괴부, 연골관의 진입부, 소수의 골수강 형성부위의 영역사이기질에서 특히 alcian호성이 감소됨을 관찰하였다(Fig 17).

제5군 한우 태자(CRL 51~60mm)의 뼈지주 형성부위 주변에서 전반적으로 alcian blue에 반응하지 않고 골수강의 면적이 넓어지면서 골화부위의 alcian호성이 현저하게 감소되는 것을 관찰하였다(Fig 18).

제6군 한우 태자(CRL 61~70mm)에서는 연골막에 인접한 뼈지주 부위는 alcian호성이 나타나지 않고 골수가 인접부위의 영역사이기질에서는 부분적으로 약한 alcian 호성반응을 나타내므로 활발하게 골화가 진행됨을 알 수 있었다(Fig 19).

고 찰

동물의 종류에 따라서 견갑골은 형태적 변이가 다양하여 척추동물에서 앞다리의 진화에 따른 문체와 견갑골과 오혜골(coracoid)의 운명에 관한 연구에서 포유동물의 오혜골은 진화과정중에 축소되어 견갑골의 원위부에 작은 결절로 잔존한다고 하였다. 그러나 이와같은 이론은 발생학적, 비교해부학적으로 진화에 따른 형태 변화에 관한 연구가 모두 일치하는 것은 아니다.¹⁴ 즉, 시즈새(archaeopteryx)와 현대조류에서 견갑오혜골의 변화추이를 형태적 특징을 비교하는 연구²⁰도 있다. 이와같이 하등동물에서 고등포유동물에 이르기까지 견갑골의 형태적 변화는 비교해부학적으로 큰 의의를 가지고 있다.

태생기에 정상적인 골화과정의 단계적 변화를 제시하는 것은 태자의 연령을 추정할 수 있고 기형발생시기를 간접적으로 이해하는데 도움을 주므로 많은 실험동물에서 이에 관련된 연구가 시도되었다.

견갑골에서 연골형성과 골화의 초기단계를 증명하기 위하여 실험동물인 Long-evans계 마우스에서 toluidine blue와 Alizarin red S 염색을 이용하여 태생기 14~21일 사이의 태자에서 12시간 간격으로 견갑골을 관찰하여 toluidine blue 염색에서는 15.5일에 연골이 형성되고 16.5일에 골화중심이 출현하며 18일에 골이 형성된다고 하였다. Alizarin red S 염색에서는 16일 이전에는 연골을 인정할 수 있으며 골화가 명확하게 나타나는 것을 인정할 수 있는 시기는 가시위오목과 가시아래오목에 골성 조직(osseous tissue)이 출현하는 16일경이라고 보고하여 실험동물에서 연골 및 뼈의 출현시기를 단계별로 관찰하였다.¹² 가축에서는 돼지태자의 골화에 관한 연구를 질산은을 침착시킨후 방사선학적 방법을 이용하여 CRL 35mm에서 40mm 사이의 태자에서 일차골화중심이 출현한다고 보고하였다.²¹ 젓소를 실험대상으로 부대골격(appendicular skeleton)의 골화시기를 추정하기 위하여 조직학적, 방사선학적, Alizarin red S 염색방법에 의하여 골화가 인정되는 시기는 52일령에 처음 관찰된다고 보고하였다.¹⁰

본 연구에서는 Alizarin red S 염색에서 나타난 결과는 제5군 한우 태자(CRL 51~60mm, 추정태령 58일)에서 견갑목 상부의 가시위오목과 가시아래오목을 가로 질러서 골화중심이 나타나는 것이 관찰되었고, 제6군 한우 태자(CRL 61~70mm)에서 급격하게 골화가 진행된 것을 관찰하였다. 그러나 한우와는 다른 종인 Ayrshire종의 젓소에서 골화가 진행되는 시기는 52일령인데 비하여 한우 태자에서는 다소 차이가 나타나는 것은 추정태령에 따른 성숙도와 개체간의 약간의 차이는 있을 것으로 생각된다. 더불어서 제5군 한우 태자(CRL 51~60mm)와 제6군 한우 태자(CRL 61~70mm) 사이의 Alizarin red S 염색상에서 골화가 급격히 진행되는 이유는 좀더 많은 재료를 가지고 골화시기에 기질의 뼈 침착과정을 미세구조적으로 추구하고 명확한 시기를 관찰해 볼 필요가 있다고 생각된다.

견갑골의 초기발생에 관한 연구는 여러 CRL 8~11mm의 사람 배자에서 제4 및 5경추의 반대편에서 견갑골의 발생부위에 중간엽세포들이 나타나고², CRL 13~70mm의 배자에서는 견갑골은 제4경추에서 제1흉추의 반대편 부위에서 연골화가 시작되면서 견갑가시(spine of scapula)를 관찰할 수 있다고 하였으며⁷, CRL 16~18mm에서 견갑골은 주로 제1늑골의 위쪽에 위치한다

고 보고하였다.² 그러나 한우를 실험대상으로 한 이 실험에서는 한우 배자 CRL 1~10mm 이하에서는 견갑골로 추정되는 부위는 적출할 수 없었고, 제2군 한우 배자(CRL 11~20mm)에서는 견갑골의 초기연골형성 발생 부위의 중심부위에서 연골모세포(chondroblast)가 비대되어 유리연골원형이 형성되었다. 제2군 한우 배자(CRL 21~30mm)에서는 견갑목 상부의 가시위오목과 가시아래오목을 중심으로 연골중심이 형성되는 것을 관찰할 수 있어 임신기간이 비슷한 사람의 경우와 유사하게 나타남을 알 수 있었다. 사람 배자(CRL 18~22mm)에서는 관절오목연(glenoid labrum)과 어깨돌기(acromion)가 같은 시기에 나타났으며⁷, CRL 27~31mm의 어류 배자에서는 골막에서 골화가 시작되었다고 하였다.⁶ 이 실험에서는 제4군 한우 태자(CRL 41~50mm)에서 일차골화중심이 형성되었으며 제5군 한우 태자(CRL 51~60mm)에서는 뼈지주가 불규칙한 사다리 모양을 이루며 연골속 골화가 활발히 진행되는 것을 관찰할 수 있어 한우 태자가 사람의 태아에 비하여 골화가 훨씬 늦게 진행되는 것을 알 수 있었다.

연골기질의 구성성분은 1차적으로 glycosaminoglycans(GAGs)으로 되어 있으며 GAGs의 분포양상은 연령과 부위에 따라서 크게 좌우된다. GAGs의 대부분은 chondroitin-4-sulfate와 chondroitin-6-sulfate로 구성되어 지나 태생기 동물에서는 chondroitin-4-sulfate로 대부분 구성되어지고 점차적으로 성장해 나가면서 chondroitin-6-sulfate의 양이 많아져서 성숙한 재료에서는 세포영역기질과 영역사이기질에서 염기호성이 강해진다고 하였다.²² 또한 연골기질내의 산성 점액다당류(acid mucopolysaccharide)의 분포상태를 관찰하기 위한 Alcian blue(pH 2.5) 염색에서 산성 점액다당류는 청녹색으로 나타난다고 하였다.¹⁸ 이 실험 제2군 한우 배자(CRL 21~30mm)에서는 연골속에 아주 미약한 alcian호성 반응이 나타났으나 제3군 한우 배자(CRL 31~40mm)에서는 연골 세포사이의 영역사이기질에 강한 alcian호성 반응이 나타났으며 성숙해 가면서 alcian호성 반응이 점차 감소하는 것을 관찰하였다. 그러므로 뼈 발생시기에 alcian 호성이 현저하게 감소함은 골화가 시작되는 시기와 거의 합치하는 형태적 변화를 보여 주어 변화시점에서의 보다 광범위한 기법으로 조직화학적인 변화와 더불어 뼈 침착에 따른 matrix vesicles의 미세구조와 연관시켜 보는 것도 의의가 클 것이다. 이 실험에 나타난 골화의 진행은 제1군 한우 배자(CRL 11~20mm)에서는 견갑목 상부의 가시위오목과 가시아래오목 부위에 이미 연골모세포가 비대되어 부분적으로 유리연골원형이 형성되기 시작하였으며 제2군 한우 배자(CRL 21~

결 론

30mm)에서는 완전한 연골화중심이 형성되었다. 제3군 한우 배자(CRL 31~40mm)에서는 비대된 연골세포와 연골막에서 일부 모세혈관이 관찰되었으며 연골관, 골수세포, 골수강 및 뼈지주는 제4군 한우 배자(CRL 41~50mm)에서부터 관찰되었다. 제5군 한우 태자(CRL 51~60mm)에서는 견갑골 전연과 후연의 뼈지주가 사다리 형상으로 추골연과 견갑목 쪽으로 문합상을 이루고 골세포, 골아세포, 골수세포가 관찰되어 골화가 활발히 진행됨을 나타내었다. 제6군 한우 태자(CRL 61~70mm)에서는 골화중심으로 부터 뼈지주가 문합상을 이루는 영역이 넓어져 추골연과 견갑목 부위로 골화가 더욱 진행되었다.

조직학적 및 조직화학적인 방법을 이용한 이상의 실험결과를 종합해 보면 한우 배자 및 태자의 견갑골 발생 부위에서 유리연골원형이 출현하는 시기는 제1군 한우 배자(CRL 11~20mm)에서, 골화중심이 형성되는 시기는 제4군 한우 태자(CRL 41~50mm)부터이며, 제5군 한우 태자(CRL 51~60mm)에서 연골속골화가 활발히 진행되는 것을 알 수 있었으므로 한우 배자 및 태자의 초기태령을 추정함에 있어서 중요한 지표가 되는 시기임을 알 수 있었다. 이 실험결과는 임신초기의 외적요인 및 물리적 요인에 의한 기형학적 연구와 타 품종과의 골화시기 등을 비교할 수 있는 기초자료로 응용될 수 있을 것이다.

임신 한우로부터 수집된 배자 및 태자중 CRL 11~110mm 사이의 38개체로부터 견갑골 부위를 절취하여 태자의 성장에 따른 연골속골화 과정과 시기를 알아보기 위해 Alizarin red S 염색 그리고 조직학적 및 조직화학적 방법으로 관찰하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 견갑골의 골화중심은 Alizarin red S 염색에서 제5군 한우 태자(CRL 51~60mm)에서는 가시위오목과 가시아래오목 부위에서 골화중심이 관찰되었고 뼈로 전환되는 시기는 제6군 한우 태자(CRL 61~70mm)에서 Alizarin red S 염색법으로 뚜렷하게 나타났다.

2. 견갑골의 연골화중심은 제1군 한우 배자(CRL 11~20mm)에서 나타났다. 일차골화중심이 명백해지는 시기는 제4군 한우 태자(CRL 41~50mm)이었다. 제5군 한우 태자(CRL 51~60mm)에서는 연골속골화가 활발히 진행되었다.

3. Alcian호성 반응은 제3군 한우 배자(CRL 31~40mm)의 영역사이기질에 강한 양성반응을 나타내지만 제5군 한우 태자(CRL 51~60mm)의 세포영역기질 및 영역사이기질 그리고 뼈지주 형성부위와 골수강 주변에서는 alcian호성이 현저히 감소되는 것을 관찰하였다.

Explanation for figures

- Fig 1.a.** The chondrogenic center was hardly visible in the site of the scapula in the 3rd group. Alizarin red S stain.
- Fig 1.b.** The cartilage model was distinctively observed in the 4th group. Alizarin red S stain.
- Fig 1.c.** The ossification center was observed in the supra- and infra- spinous fossa in the 5th group. Alizarin red S stain.
- Fig 1.d.** The ossification center was markedly changed to osseous tissue in the 6th group. Alizarin red S stain.
- Fig 1.e.** The ossification was more active and that the region of the neck of the scapula was tinted dark purple in the 7th group.
- Fig 1.f.** In the 8th group, the finding was similar as above. Alizarin red S stain.
- Fig 1.g.** In the 9th group, the ossified area was tinted dark purple and the cartilage of the scapula shows bright blue color. The spine of the scapular was more distinctive than above group. Alizarin red S stain.
- Fig 1.h.** In the 10th group, the finding similar as above. Alizarin red S stain.
- Fig 2 .** The early developing hyaline cartilage with hypertrophied chondrocytes was observed in the 1st group. H-E stain. X100.
- Fig 3 .** The magnified photograph of Fig 5 is shown here. The markedly lacunae and expended interterritorial matrices were observed at the chondrogenic center. H-E stain. X200.
- Fig 4 .** The hyaline cartilage model was surrounded by perichondrium in the 2nd group. H-E stain. X100.
- Fig 5 .** This figure is a magnified photograph of Fig 5.
The chondrocytes changed to an irregular shape and the interterritorial matrices were partially widened at the chondrogenic center. H-E stain. X200.
- Fig 6 .** The interterritorial matrices of the ossification center were specifically stained in the 3rd group. H-E stain. X100.
- Fig 7 .** This figure is a magnified photograph of Fig 6.
The hypertrophied chondrocytes and the capillaries of the intracellular layer of the perichondrium were observed. H-E stain. X200.
- Fig 8 .** The irregular trabeculae were formed at adjacent to the perichondrium of the primary ossification center in the 4th group. H-E stain. X100.
- Fig 9 .** This figure is a magnified photograph of Fig 8.
The interterritorial matrix was darkly stained with hematoxylin. Also the cartilage canal, marrow cavity with myeloid cells, eroded lacunae and osteocytes were observed. H-E stain. X200.
- Fig 10 .** The irregular ladder shaped trabeculae were connected to an adjacent part of perichondrium in group 5. H-E stain. X100.
- Fig 11 .** This figure is a magnified photograph of Fig 10.
The trabeculae were well developed, and the endochondral bone and osteoblasts were observed. H-E stain. X200.
- Fig 12 .** The anastomosed trabeculae were elongated to the vertebral border, and the neck of the scapula and marrow cavity was expended in the 6th group. H-E stain. X100.
- Fig 13 .** This figure is a magnified photograph of Fig 12.
The territory of the marrow cavity was extended, and that the trabeculae were formed in a network. H-E stain. X200.
- Fig 14 .** The alcianophilia appeared slightly positive in the territorial matrix and interterritorial matrix of the early developing hyaline cartilage model in the 1th group. Alcian blue PH 2.5 stain. X200.
- Fig 15 .** The alcianophilia of cartilage matrix of the 2nd group was increased slightly more than the 1st group. Alcian blue PH 2.5 stain. X200.
- Fig 16 .** The alcianophilia of interterritorial matrix was slightly more positive than the territorial matrix in the 3rd group. Alcian blue PH 2.5 stain. X200.
- Fig 17 .** The alcianophilia was observed to decrease the area of the collapsed chondrocyte, adjacent to the cartilage canal, marrow cavity, and trabecular in the 4th group. Alcian blue PH 2.5 stain. X200.
- Fig 18 .** In the anastomosed trabeculae of the 5th group., the alcianophilia was observed to the negative. Alcian blue PH 2.5 stain. X200.
- Fig 19 .** The alcianophilic reaction was not reacted in the trabecula but appeared slightly positive in the interterritorial matrix of the 6th group. Alcian blue PH 2.5. X200.

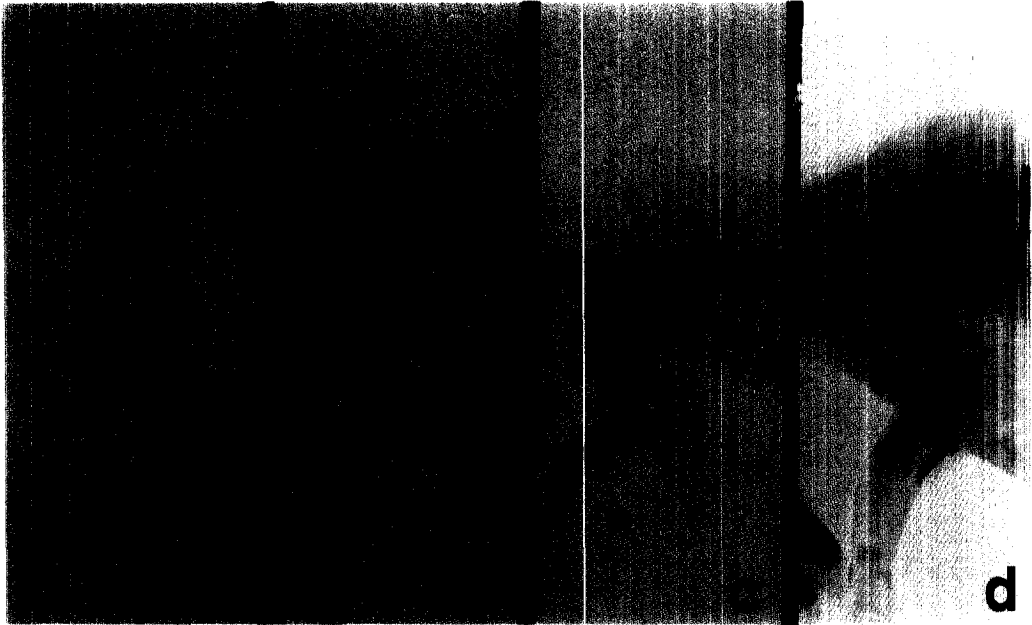


Fig 1

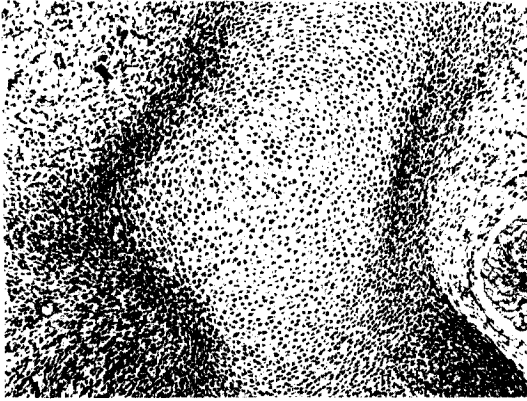


Fig 2

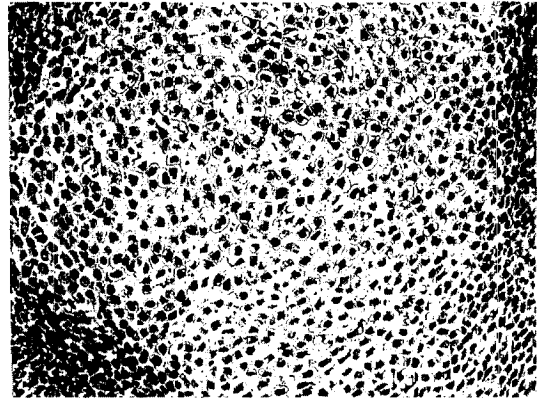


Fig 3

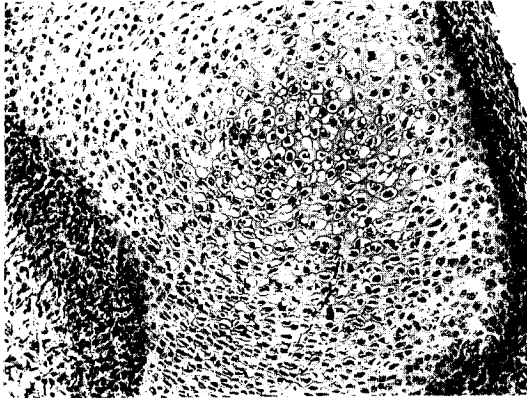


Fig 4

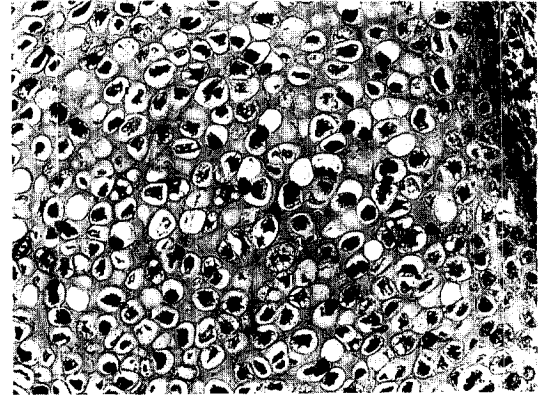


Fig 5

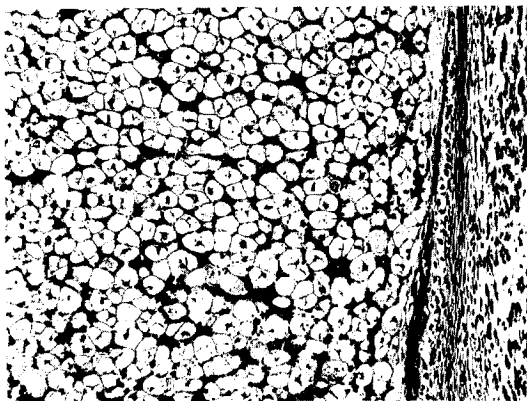


Fig 6

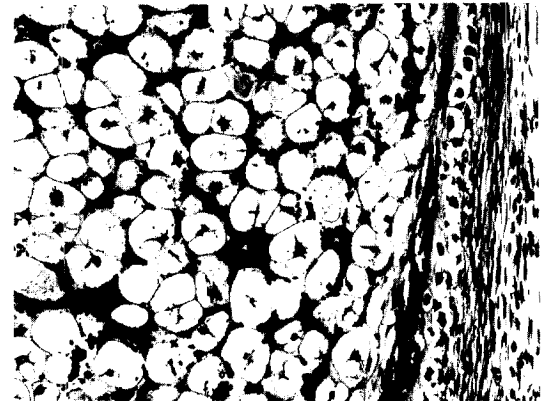


Fig 7

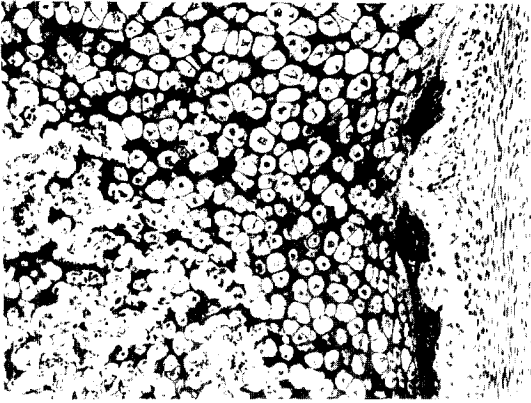


Fig 8

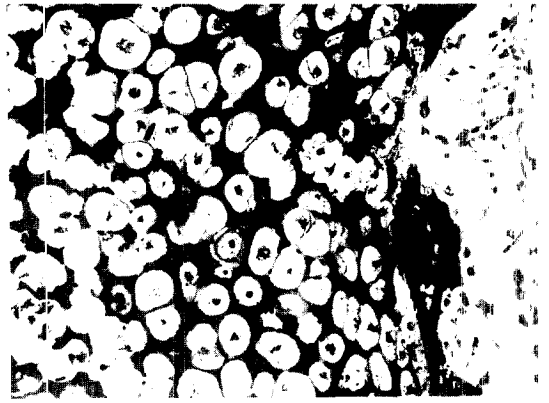


Fig 9

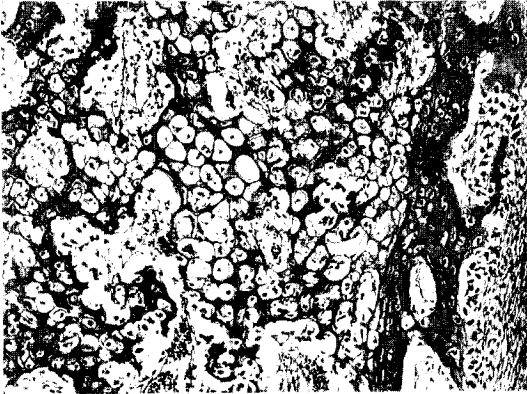


Fig 10

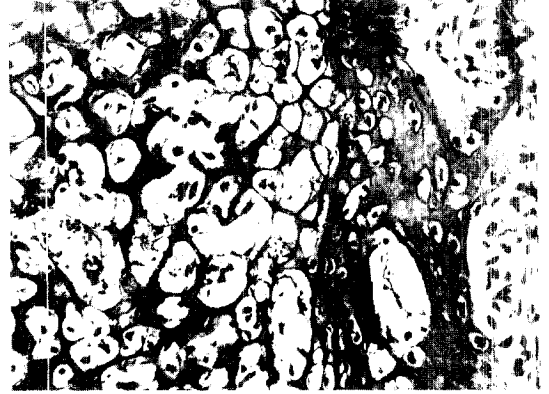


Fig 11

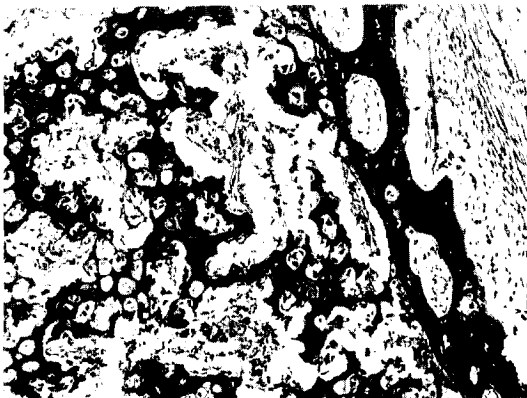


Fig 12



Fig 13

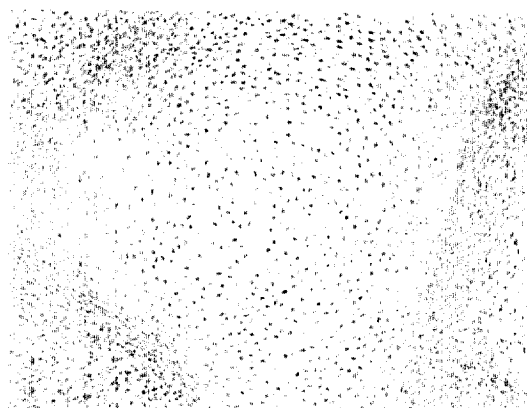


Fig 14

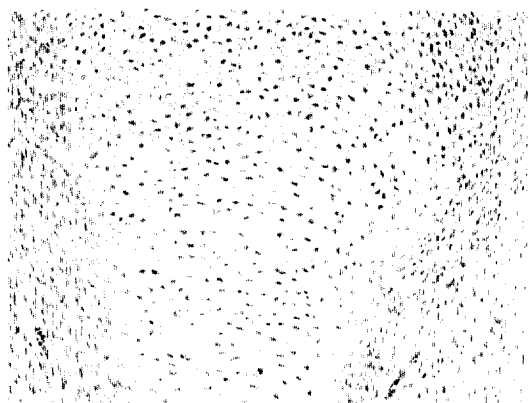


Fig 15

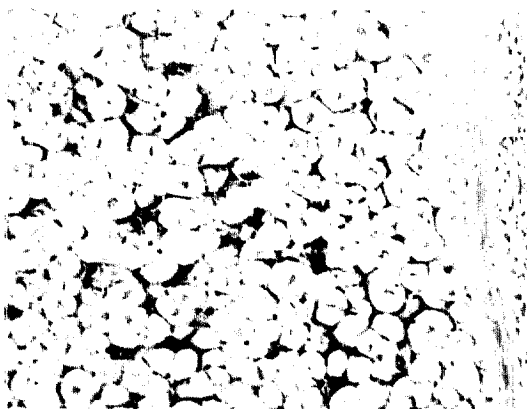


Fig 16

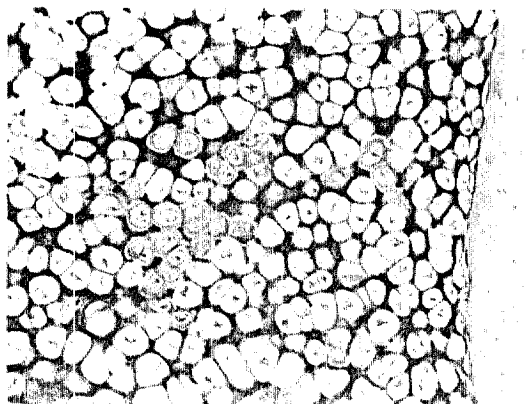


Fig 17

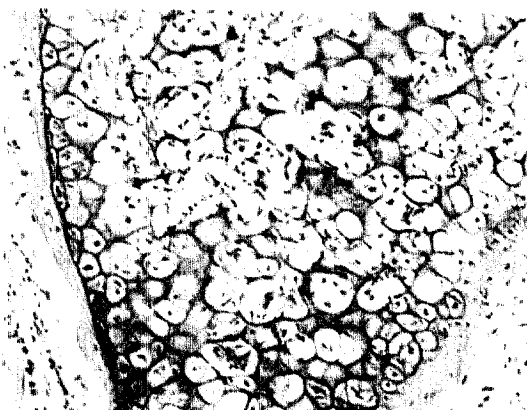


Fig 18

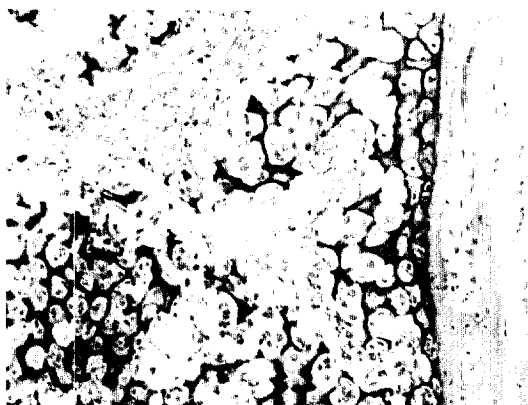


Fig 19

참 고 문 헌

1. Noden DM, Lahunta A. The embryology of domestic animals : *Developmental mechanisms and malformation*. 1985 ; 197.
2. Lewis WH. The development of the arm in man. *Amer J Anat* 1902 ; 1 : 145~184
3. Hill AH. Fetal age assessment by centers of ossification. *Amer J Phy Anthro* 1939 ; 24(3) : 251~272.
4. O'Rahilly R, Gardner E, Gray DJ. The ectodermal thickening and ridge in the limbs of staged human embryos. *J Embryol Exp Morph* 1956 ; 254~264.
5. Gardner E. Osteogenesis in the human embryo and fetus. *The Biochemistry and Physiology of Bone* (G.H.Bourne, ed.) 1971 2nd ed ; 77 ~ 118. New York : Academic Press.
6. O'Rahilly R, Gardner E. The initial appearance of ossification in staged human embryos. *Amer J Anat* 1972 ; 134 : 291~307.
7. Gardner E. The early development of the shoulder joint in staged human embryos. *Anat Rec* 1973 ; 175 : 503.
8. O'Rahilly R, Gardner E. The timing and sequence of events in the development of the limbs in the human embryo. *Anat Embryol* 1975 ; 148 : 1~23.
9. Holder N. The onset of osteogenesis in the developing chick limb. *J Embryol Exp Morph* 1978 ; 44 : 15~29.
10. Lindsay FEF. Observation on the loci of ossification in the prenatal and neonatal bovine skeleton (I). The appendicular skeleton. *Brit Vet J* 1969 ; 125 : 101~110.
11. Lindsay FEF. Observations on the loci of ossification in the prenatal and postnatal bovine skeleton (II). The sternum *Brit Vet J* 1969 ; 125 : 422~430.
12. Wright HV, Asling CW, Dougherty HL, Nelson MM, Evans HM. Prenatal development of the skeleton in Long-Evans rats. *Anat Rec* 1958 ; 130 : 659~672.
13. Alain C. Origine des ceintures scapulaires et pelviennes chez l'embryon d'oiseau. *J Embryol Exp Morpho* 1977 ; 42 : 275~292.
14. Manzil SF, Moroz VF. The problem of evolutionary disposition of the thoracic extremities and the fate of the coracoids and scapulae in the Vertebrata. *Arch Anat Gistol Embriol* 1981 ; 81(7) : 20~28.
15. Moskalewski S, Osiecka A, Malejczyk J. Comparison of bone formed intramuscularly after transplantation of scapular and calvarial osteoblast. *Bone* 1988 ; 9 : 101~106.
16. Canfield P. Development of the bovine metanephros. *Anat Histo Embry* 1980 ; 9 : 97~107.
17. Dingerkus G, Uhler LD. Enzyme clearing of alcian blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage. *Stain Techno* 1977 ; 52 : 229~232.
18. Luna LG. *Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*. 1968 3rd ed. New York : McGraw-Hill.
19. Ludwig KS, Wolf-Heidegger G. Über die ersten ossifikationsvorgänge and einem platten knochen, den Os ilium, bei menschlichen embryonen. *Acta Anat* 1970 ; 77 : 361~397.
20. Alan F. The scapulocoracoid of flightless birds : A primitive avian character similar to that of theropods. *IBIS* 1986 ; 128(1) : 128~132.
21. Hodges PCJr. Ossification in the fetal pig a radiographic study. *Anat Rec* 1953 ; 116 : 315~325.
22. Banks WJ. *Applied veterinary Histology*. 1986 2nd ed. Williams & Wilkins Co. 108~118.