

## 스테로이드를 투여한 실험용 쥐에서 대퇴 골두와 고관절의 초기 변화

강 찬 · 황득수 · 이원석 · 김진만\* · 강태환

충남대학교 의과대학 정형외과학교실, 병리학교실\*

### Steroid-induced Early Changes in the Femoral Head and Hip Joint in Rats

Chan Kang, M.D., Deuk-Soo Hwang, M.D., Won-Seok Lee, M.D.,  
Jin-Man Kim, M.D.\*, and Tae-Hwan Kang, M.D.

Departments of Orthopedic Surgery, Pathology\*, School of Medicine, Chungnam National University, Daejeon, Korea

**Purpose:** To determine if the early changes to the articular cartilage and synovium of the hip joint in relation to steroid-induced osteonecrosis of the femoral head is either as a preceding factor or as a secondary consequence in the pathomechanism.

**Materials and Methods:** Thirty-two Sprague Dawley rats were divided into two groups, 16 receiving a steroid injection and 16 as a control group. Tissue samples of the hip joint were taken from 4 rats from each group every 4 weeks over a 16 week period. The specimens were investigated for the early changes to the articular cartilage, subchondral bone of the femoral head and the synovium after H & E staining and toluidine blue stain. Five histological criteria were applied to determine the cartilage status.

**Results:** Histologically, there was a gradual increase in chondrocyte cloning in the steroid injection group. In addition, synovial hypertrophy and the enlargement of fatty cysts with the loss of hematopoietic cells were observed.

**Conclusion:** Synovial hypertrophy and some evidences of articular cartilage degeneration associated with steroid-induced early femoral head osteonecrosis appears to be the result of a direct inflammatory reaction to the steroid injection. This suggests that early presentation of the pathologic lesion in the hip joint might occur without definitive radiological evidence of femoral head osteonecrosis.

**Key Words:** Steroid, Osteonecrosis of femoral head, Articular cartilage, Synovial hypertrophy, Chondrocyte cloning

### 서 론

대퇴 골두 골 괴사의 확실한 기전은 알려져 있지 않으나, 보고된 여러 원인적 인자들<sup>15,20,25)</sup> 중에서 음주와 스테로이드 제제의 남용에 의한 골 괴사가 우리나라에서 대다수를 차지한다. 스테로이드에 의한 대퇴 골두 골 괴사는 1957년 Pietrogrande와 Mastromarino가 처음 보고한 이후 최근까지도 여러 동물실험에서 스테로이드를 이용하여 대퇴 골두 골 괴사의 병리기전을 알고자 하는 여러 연구논문이 발표되어 왔으나<sup>1,9,10,14,19,27,28)</sup> 그 발생 기전에 대해서는 아직도 명확히 알려져 있지 않으며, 그 동

안 제시된 가설로는 지방 세포증식 및 확대에 의한 골수강 내의 압력상승, 지방 색전<sup>1,2,5,13)</sup>, 혈액응고 장애<sup>15)</sup>, 골세포 내의 지방 축적, 변성 또는 괴사<sup>16,21)</sup> 및 미세골절 등이 알려져 있다.

최근 임상적으로 자기공명영상(MRI) 촬영이나 고관절관절경의 도입으로 골 괴사 초기에 대퇴 골두 변화가 발견되고 있으나 이것이 관절내 다른 조직의 변화 및 임상증상과 어떤 연관이 있는지에 대한 실험적 연구는 거의 보고된 문헌이 없다. 이에 저자들은 스테로이드를 투약한 Sprague Dawley rat의 대퇴 골두 및 고관절을 채취

통신저자 : 황 득 수

대전시 중구 대사동 640  
충남대학교 의과대학 정형외과학교실  
TEL: 042-280-7350 • FAX: 042-280-7098  
E-mail: dshwang@cnu.ac.kr

Address reprint requests to

Deuk-Soo Hwang, M.D.  
Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine, Chungnam National University, 640, Daesa-dong, Jung-gu, Daejeon 301-721, Korea  
Tel: +82,42-280-7350, Fax: +82,42-280-7098  
E-mail: dshwang@cnu.ac.kr

한 후 조직검사를 시행하여 대퇴 골두 내의 변화 및 이와 연관된 관절내 연골, 비구순 및 활액막의 변화 등을 조사하여 초기 대퇴 골두 골괴사의 병리기전 중 관절내 연골 및 활액막의 변화가 골괴사의 일차적인 원인이 되는 것인지 또는 대퇴 골두 변화에 따른 이차적인 요인에 의해 나타나는 것인지를 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 연구대상 및 재료

본 연구는 동일한 환경에서 사육된 평균 체중 250 g (240–260 g)의 Sprague Dawley rat 32마리를 대상으로 진행되었고, 투약된 스테로이드 제제는 Methylprednisolone acetate (Depomedrol<sup>®</sup>, 화이자, 한국)이었다.

### 2. 연구방법

대퇴골 및 고관절의 변화를 관찰하기 위하여 Sprague Dawley rat 32마리 중 실험군 16마리에게 methylprednisolone acetate 10 mg/kg을 16주 동안 매일 1회씩 복강내 주사하였고, 감염의 예방을 위해 2일 간격으로 gentamycin 2 mg/kg을 1회씩 근육 주사하였으며, 실험 시작 후 매주 체중을 측정하여 methylprednisolone acetate와 gentamycin 투여량을 체중에 따라 조절하였다. 나머지 16마리는 대조군으로 사용하였다.

병리조직학적 관찰을 위하여 투여시작 4주, 8주, 12주, 16주째 실험군 및 대조군 각각 4마리에서 각각 8개의 고관절을 채취하였다. 고관절을 채취하는 과정에서 관절낭이 개방되어 손상되지 않도록 주의하였고, 고관절부의 관절 연골 및 대퇴 골두 관절하 골, 활액막, 비구, 비구순을 보존하여 고관절을 채취하였다(Fig. 1). 채취한 고관절을 10% 완충 포르말린 용액에 48–72시간 고정하고, 5% 포르믹산으로 탈 석회한 후 파라핀에 포매하여 5  $\mu$ m의 두께로 박절한 다음 H & E 염색과 Toluidine blue 염색을 시행하여 고관절의 관절 연골, 대퇴골의 관절하 골 및 활액막 등의 변화를 관찰하였다.

각각의 표본에서 관절 연골의 퇴행 정도는 병리 전문의에 의해서 등급이 산정되었으며, 연골의 병기를 알아보는 지표로서 Magnussen 등<sup>18)</sup>이 제시한 조직학적 5가지 지표, 즉 표면 세동(surface fibrillation), 연골하 골 비후(subchondral bone thickening), toluidine blue

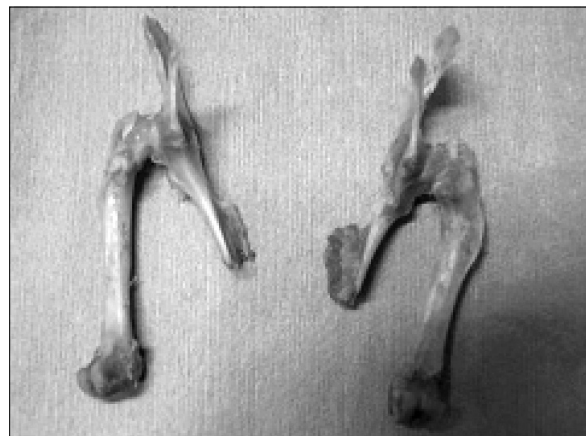


Fig. 1. A photograph showing the Sprague Dawley rat hip joint.

Table 1. Cartilage Grading Parameters and Their Relative Contribution to the Histological Score

Parameter	Relative contribution to histologic score
Surface fibrillation	0.869
Loss of toluidine blue staining	0.798
Presence of chondrocyte cloning	0.828
Subchondral bone thickening	0.696
Gross appearance of cartilage	0.827
Sum of all parameter	0.997

염색 소실(loss of toluidine blue staining), 연골세포 분지계의 존재(the presence of chondrocyte cloning), 연골의 육안적 형태(gross appearance of the cartilage)가 측정되어 사용되었다(Table 1)<sup>6,17)</sup>. 표본의 다른 부분에 연골 상태의 다양성이 있을 경우 가장 심하게 퇴행된 부분을 기준으로 병기를 결정하였다.

## 결 과

실험군 Sprague Dawley rat은 시간이 경과함에 따라 상당한 체중 감소와 활동 저하를 나타냈고, 실험 중 사망한 rat은 없었다. 스테로이드 투여 4주 후부터 16주까지 채취한 고관절 연골의 조직병리학적 소견상 관절 연골 상태를 알아보기 위한 각각의 지표 중 표면 세동은 H & E 염색 표본에서 관찰되지 않았다. 연골하 골 비후 역시 H & E 염색 표본의 대조군과 실험군 비교에서 차이를 보이지 않았고, 고관절 관절 연골의 육안적 소견 및 Toluidine blue 염색 소실 여부에 있어서도 실험군과 대조군의 비교에서 특징적인 변화는 없었다. 그러나, 연골

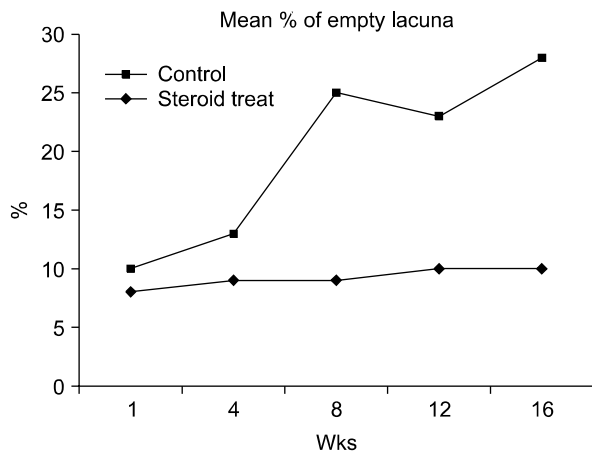


Fig. 2. Graphs indicating that the mean percentage of empty lacuna in the steroid-induced group is higher than in the control group.

세포 분지계의 존재에 있어서 H & E 염색 표본을 고배율 ( $\times 400$ )로 관찰한 결과, 시간이 지날수록 실험군에서 분지계의 수가 약간 증가하는 소견을 확인할 수 있었다. 골수내 변화는 고배율하에서 무작위로 10곳을 선택하여 분지계의 수를 계산한 후 빈 열공(empty lacuna)의 수를 전체로 나누어 %를 결정하였는데, 실험군의 평균은 20.8%로 대조군의 평균 10.72%에 비해서 상대적으로 증가된 소견을 보였다( $p < 0.01$ )(Fig. 2). 그리고 대조군과 비교하여 실험군에서는 스테로이드 투여 기간이 길어질수록 전반적으로 조혈세포의 소실과 함께 골수내 지방세포 크기가 커지고, 부분적으로 불규칙하게 커진 지방낭종의 수가 증가되는 것이 관찰되었다. 고관절의 활액막 부분의 변화에 있어서도 대조군과 비교하여 실험군에서는 스테로이드 투여 기간이 길어질수록 활액막염의 초기 소견인 활액막의 혈류양 증가, 혈관 증식 및 혈관 확장에 의한 울혈 소견 등의 활액막의 증식 소견이 관찰되었다. 그러나 16주까지 경과된 실험군에서 골수내 부분적인 골괴사 소견은 발견되지 않았다.

## 고 찰

대퇴 골두 무혈성 괴사의 원인과 병리 기전은 여러 가지 요인들이 복합적으로 관련되어 있으나 아직 명확히 밝혀지지 않은 상태이다. 크게 외과적인 원인과 내과적인 원인으로 구분되고, 외과적인 원인으로는 대퇴골 경부 골절, 외상성 관절 탈구, 기타 고관절의 외상, Legg-Calve-Perthes 병, 선천성 고관절 탈구의 합병증, 대퇴

골두 골단 분리의 합병증, 화농성 고관절염 등이 있으며, 내과적인 원인으로는 음주, 스테로이드 복용, 감압증, 혈액색소 질환, Gaucher 병, 방사선 조사, 특발성 등이 알려져 있다<sup>7,11,12,20,25,26</sup>.

스테로이드의 관절내 연골에 대한 일반적인 효과는 투약 초기에는 기질내 metalloproteases 및 염증성 사이토카인의 합성을 억제하여 초기 골관절염의 치료에 도움을 주나, 지속적 사용시 나중에는 연골 세포의 번식 및 세포외 기질의 형성을 억제함으로써 오히려 연골 변성을 촉진한다고 알려져 있다<sup>8,22,23</sup>. 그러나 현재 발표된 다수의 실험적 보고에서는 대퇴 골두 괴사의 병리기전을 주로 대퇴 골두 내의 변화에만 초점을 맞추었고 동시에 일어날 수도 있는 관절내 연골의 변화나 활액막 등의 변화에 대한 연구는 보고된 바가 없다. 단지 현재까지 통상 널리 주장되어온 대퇴 골두 괴사 후 이차적인 골관절염으로 진행되는 기전은 골괴사로 인한 일부 연골하 골절 및 골두 붕괴로 인해 관절의 비상합성(incongruity)이 발생되고, 이로 인하여 이차적으로 골관절염이 발생하는 것으로 되어 있다<sup>3,4</sup>. 최근 보고에서 일부 저자는 임상적으로 상당히 진행된 대퇴 골두의 병리학적 소견상에서 대퇴 골두 연골의 변성 여부를 확인한 바 있기는 하지만<sup>18</sup>, 현재까지는 초기 대퇴 골두 괴사의 치료에 있어서 골두내 괴사의 진행을 막는 쪽으로만 이루어져 왔고, 동시에 일어날 수도 있는 관절내 변화에 대해서는 확인하지 못하고 있다.

최근에는 고관절 내 관절경의 도입으로 초기 대퇴 골두 괴사의 진단 및 치료시 수술 전 발견되지 않은 관절내 연골의 변성 및 부분적인 파괴, 이물질 발생, 주위 활액막의 증식 및 관절액의 증가, 비구순 변성 및 파열 등이 발견되고 있고, 이것이 그동안 통증의 원인으로 보고되어왔던 골두내 압력 증가나 미세골절 외에 또 다른 통증의 원인으로 보고되고 있기 때문에 일부 저자들은 대퇴 골두 괴사의 초기 치료시 골두내 압력을 감소시키는 방법과 함께 관절내 발생한 통증의 원인 확인 및 치료를 동시에 시행하면 병의 진행 억제에 도움이 된다고 주장하고 있다<sup>21,24,26</sup>. 그러나 현재까지는 단순 방사선 사진이나 자기공명영상 촬영에서 대퇴 골두 함몰 소견이 없는 초기 대퇴 골두 괴사 환자의 관절경에서 확인되는 병변이 골괴사 진행의 일차적인 원인이 되는 것인지 또는 대퇴 골두 변화에 따른 이차적인 요인에 의해 나타나는 것인지에 대해서는 아직 확실한 보고가 없다.

본 연구에서 16주간의 스테로이드 투여 후 시행한 고관절의 병리 조직학적 검사상 비록 국소적인 골괴사의 소견을 발견하지는 못하였으나, 고관절내 활액막 부분의 변화에 있어서 스테로이드 투여 기간이 길어질수록 활액막염의 초기 소견인 활액막의 혈류량 증가, 혈관 증식 및 혈관이 확장되는 울혈 등의 활액막 증식 소견을 관찰할 수 있었다. 이 같은 실험 결과는 위의 활액막 병변 소견이 적어도 무혈성 괴사 후에 이차적으로 나타나는 것은 아니며, 장기간의 스테로이드 투여시 무혈성 괴사가 필연적으로 나타난다고 했을 때 질병의 진행 과정 중 초기에서 나타나는 현상으로 볼 수 있다고 추정된다. 이는 임상적으로 스테로이드 유발성 대퇴 골두 무혈성 괴사 환자에서 초기에 방사선학적 검사상 뚜렷한 골괴사의 증거가 보이지 않더라도 고관절 통통을 일으킬 수 있는 원인으로 간주할 수 있을 것이며, 따라서 단순히 대퇴 골두내 변화에만 치료의 초점을 둘 것이 아니라 초기 관절내 병변에 접근하려는 시도 또한 필요하다는 임상적 의미로 해석할 수 있다고 본다.

## 결 론

대퇴 골두 무혈성 괴사의 초기 병변에서 발생하는 고관절 통증은 대퇴 골두내의 압력 증가나 미세 골절 외에도 관절내 변화와 이로 인해 발생하는 활액막염이 원인이 될 수 있을 것이라는 생각에서 고안된 본 실험에서 비록 무혈성 괴사는 나타나지 않았으나, 스테로이드를 투여함에 따라 골두내 골소주 변화, 지방 결절의 크기 증가, 관절내 활액막 증식 및 연골내 일부 변성 등의 변화 소견이 함께 관찰 되었다. 이는 스테로이드 투여로 인한 염증성 반응으로 생각할 수 있으며, 무혈성 괴사로 진행되는 초기 단계에서 고관절의 병변을 유발 할 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구는 16주의 단기간 동안 스테로이드를 투여하여 얻은 결과이므로 병리조직학적 검사에서 대퇴 골두 괴사가 관찰된 후 결론을 내기 위해서는 충분한 기간의 스테로이드 투여를 위한 장기적 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Arlet J, Ficat P: Diagnosis of primary femur head osteonecrosis at stage 1 (preradiologic stage). *Rev Chir Orthop*
2. Briggs WA, Hampers CL, Merrill JP, et al: Aseptic Necrosis in the femur after renal transplantation. *Ann Surg*, 175: 282-289, 1972.
3. Brown TD, Hild GL: Pre-collapse stress redistributions in femoral head osteonecrosis-a three-dimensional finite element analysis. *J Biomech Eng*, 105: 171-176, 1983.
4. Brown TD, Mutschler TA, Ferguson AB Jr: A non-linear finite element analysis of some early collapse processes in femoral head osteonecrosis. *J Biomech*, 15: 705-715, 1982.
5. Cabanela ME: Bipolar versus total hip arthroplasty for avascular necrosis of the femoral head. A comparison. *Clin Orthop Relat Res*, 261: 59-62, 1990.
6. Carlson CS, Guilak F, Vail TP, Gardin JF, Kraus VB: Synovial fluid biomarker levels predict articular cartilage damage following complete medial meniscectomy in the canine knee. *J Orthop Res*, 20: 92-100, 2002.
7. Cui Q, Wang GJ, Su CC, Balian G: Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res*, 344: 8-19, 1997.
8. Farquhar T, Todhunter RJ, Fubini SL, Burton-Wurster N, Lust G: Effect of methylprednisolone and mechanical loading on canine articular cartilage in explant culture. *Osteoarthritis Cartilage*, 4: 55-62, 1996.
9. Fisher DE, Bickel WH, Holley KE: Histologic demonstration of fat emboli in aseptic necrosis associated with hypercortisonism. *Mayo Clin Proc*, 44: 252-259, 1969.
10. Fordyce MJ, Solomon L: Early detection of avascular necrosis of the femoral head by MRI. *J Bone Joint Surg Br*, 75: 365-367, 1993.
11. Glimcher MJ, Kenzora JE: The biology of osteonecrosis of the human femoral head and its clinical implication. III. Discussion of etiology and genesis of the pathological sequelae; comments on treatment. *Clin Orthop Relat Res*, 140: 273-312, 1979.
12. Harris WH: Etiology of osteoarthritis of the hip. *Clin Orthop Relat Res*, 213: 20-33, 1986.
13. Hirohata K, Kawai K: A role of fat embolism in the pathogenesis of idiopathic necrosis of the femoral head. *Orthop Trauma Surg*, 26: 1009-1017, 1983.

14. **Jones JP Jr, Engelman EP:** *Osseous avascular necrosis associated with systemic abnormalities. Arthritis Rheum*, 9: 728-736, 1966.
15. **Jones JP Jr:** *Fat embolism, intravascular coagulation and osteonecrosis. Clin Orthop Relat Res*, 292: 294-308, 1993.
16. **Kawai K, Tamaki A, Hirohata K:** *Steroid induced accumulation of lipid in the osteocytes of the rabbit femoral head. A histochemical and electron microscopic study. J Bone Joint Surg Am*, 67: 755-763, 1985.
17. **Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A:** *Biomechanical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. J Bone Joint Surg Am*, 53: 523-537, 1971.
18. **Magnussen RA, Guilak F, Vail TP:** *Articular cartilage degeneration in post-collapse osteonecrosis of the femoral head radiographic staging, macroscopic grading and histologic changes. J Bone Joint Surg Am*, 87: 1272-1277, 2005.
19. **Maruno H, Shimizu T, Kawai K, Hirohata K:** *The response of osteocytes to a lipid clearing agent in steroid-treated rabbits. J Bone Joint Surg Br*, 73: 911-915, 1991.
20. **Matsuo K, Hirohata T, Sugioka Y, Ikeda M, Fukuda A:** *Influence of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status on idiopathic osteonecrosis of the femoral head. Clin Orthop Relat Res*, 234: 115-123, 1988.
21. **McCarthy JC, Lee JA:** *Arthroscopic intervention in early hip disease. Clin Orthop Relat Res*, 429: 157-162, 2004.
22. **Nakamura M, Watanabe J, Ogawa R, Kanamura S:** *Immunohistochemical localization of type II and type I collagens in articular cartilage of the femoral head of dexamethasone-treated rats. Histochem J*, 29: 645-654, 1997.
23. **Pelletier JP, Mineau F, Raynauld JP, Woessner JF Jr, Gunja-Smith Z, Martel-Pelletier J:** *Intraarticular injections with methylprednisolone acetate reduce osteoarthritic lesions in parallel with chondrocyte stromelysin synthesis in experimental osteoarthritis. Arthritis Rheum*, 37: 414-423, 1994.
24. **Ruch DS, Sekiya J, Schaefer WD, Koman LA, Pope TL, Poehling GG:** *The role of hip arthroscopy in the evaluation of avascular necrosis. Orthopedics*, 24: 339-343, 2001.
25. **Solomon L:** *Drug-induced arthropathy and necrosis of the femoral head. J Bone Joint Surg Br*, 55: 246-261, 1973.
26. **Wang GJ, Dughman SS, Reger SI, Stamp WG:** *The effects of core decompression on femoral head blood flow in steroid-induced avascular necrosis of the femoral head. J Bone Joint Surg Am*, 67: 121-124, 1985.
27. **Wang GJ, Swest DE, Roger SI, Thompson RC:** *Fat-cell changes as a mechanism of avascular necrosis of the femoral head in cortisone-treated rabbits. J Bone Joint Surg Am*, 59: 729-735, 1977.
28. **Yune SH, Hwang DS, George BA, Kim SB:** *Steroid-induced early changes in adult rabbit femoral head -Experimental study-. J Korean Orthop Assoc*, 25: 1223-1232, 1990.

**= 국문초록 =**

**목 적:** 스테로이드를 투여한 실험용 쥐의 대퇴 골두 및 고관절내 병리를 관찰하여 대퇴 골두 괴사의 초기 병리기전 중 관절내 연골과 활액막의 변화가 골괴사의 일차적인 원인인지 혹은 대퇴 골두 변화에 따른 이차적인 요인에 의한 것인지를 알아보고자 하였다.

**대상 및 방법:** Sprague Dawley rat 32마리를 스테로이드 투여받은 실험군 16마리와 대조군 16마리로 나누고, 투여 시작 후 16주까지 4주 간격으로 각각 4마리씩에서 고관절을 채취하였다. 채취한 고관절은 H & E 및 toluidine blue 염색을 하여 관절 연골, 대퇴 골두 관절하 골, 활액막 등의 변화를 관찰하였다. 연골의 병기를 알아보기 위하여 5개 항목의 조직학적 지표를 사용하였다.

**결 과:** 병리조직학적 검사의 조직학적 지표 중 연골세포 분지계의 존재 여부에 있어서 실험군에서는 그 수가 점차 증가하는 소견이 확인되었으며, 대퇴 골두 골수내 조혈세포의 소실과 함께 지방낭종의 비후 및 고관절내 활액막의 증식 소견이 관찰되었다.

**결 론:** 초기 대퇴 골두 괴사와 연관된 주위 활액막의 증식 및 부분적인 연골의 변성 소견은 스테로이드 투여 자체로 인한 염증 반응으로 생각되며, 이로 인하여 명확한 방사선학적 무혈성 괴사의 증거 없이도 고관절의 병변이 발생할 수 있을 것으로 사료된다.

**색인 단어:** 스테로이드, 대퇴 골두 괴사, 관절 연골, 활액막 증식, 연골세포 분지계