

# 가토의 반월상 연골 절제후 재생에 관한 연구

가톨릭 의과대학 정형외과학교실

문명상 · 김 인 · 김정만 · 육인영 · 강용구

- Abstract -

## Chronological Observation of Normal and Regenerated Meniscus in Rabbits (Morphological and Histological studies)

Yong-Koo Kang, In-Young Ok, Jung-Man Kim, In Kim, Myung-Sang Moon, M.D.

*Department of Orthopaedic Surgery Catholic Medical College, Seoul, Korea*

After extensive studies of the regenerated meniscus, most of authors believe that newly replaced meniscus completely consisted of fibrous connective tissue instead of forming fibrocartilaginous tissue. This experiment was planned to investigate the chronological effect on the normal menisci and replaced one which formed after meniscectomy in rabbits knees.

Total meniscectomy was performed on the medial menisci of both knee joints of the 40 young rabbits (5 weeks old), weighting from 300 to 400 gm and 40 adult rabbits weighting from 1800 to 2200gm. In both groups, meniscal specimens were obtained from medial area of both knee joints 3, 5, 12, 24 and 48 weeks following meniscectomy respectively. Medial menisci of normal 5, 12, 24 and 48 weeks old rabbits were used as control. Each specimen was examined grossly and histologically. Serial histological sections were cut at 6 $\mu$ m and stained with hematoxylin and eosin for the histological examination and Safranin-O fast green iron hematoxylin for the histochemical examination.

The result obtained were as follows:

1. Macroscopically all regenerated menisci were less shiny and smaller than normal. Its margin was blunt shaped and completely connected with synovial membrane.
2. The meniscus, at 5 weeks after birth was composed with fibroblast and fibrocyte without cartilage cells. At 12 weeks after birth, in 2 out of 4 menisci fibrocytes were transformed with round oval shaped cells with lacunae and they looked immature cartilage cells and lightly stained with Safranin-O.
3. In young experimental rabbits, cartilage cells were found in one out of 14 regenerated menisci at 12 weeks after meniscectomy while in mature rabbits cartilage cells were found in 2 out of 13 regenerated menisci at 24 weeks after meniscectomy and newly formed 3 menisci were strongly stained with Safranin-O. Mean rate of cartilage transformation of regenerated menisci was 10.6% in young rabbits and 8.1% in adult rabbits without much difference in incidence of transformation rate. Cartilagenous transformation in the small area of regenerated meniscus was found in 10% of cases.

It is summarized from the result that regenerated menisci firstly composed with fibrous tissue, but later on regenerated meniscus partly transforms into cartilage cells but not entirely. It is speculated that this cartilaginous transformation is due to adaptive metaplasia.

**Key Words:** Meniscus

\* 본 논문은 1980년도 가톨릭 중앙의료원 임상외과연구소 연구비로 이루어졌음.

## 서 론

슬관절내의 반월상 연골은 제거후 슬관절내의 활액막 세포로부터 새로운 조직이 재생되어 대체된다는 사실은 이미 입증되었다.

Walsley & Bruce(1938)<sup>1)</sup>는 가토에서 슬관절의 반월상 연골을 제거하였더니 그자리에 조직학적으로는 섬유조직이기는 하나 형태학적으로는 정상것과 유사한 새로운 반월판이 생겨났다고 보고한 이래 일반적으로 반월상 연골은 제거하더라도 일정기간이 경과하면 재생하게 되나 그 구성조직은 섬유조직이라고 믿어져 왔다.

그러나 혹자들은 사람에서 반월판 연골 제거후 재생된 반월판에서 연골세포가 발견되었다고 주장하였다.

Kim & Moon(1979)<sup>3)</sup>은 이미 가토 슬관절의 반월판 연골 제거후 새로운 반월판의 재생에는 활액막의 존재가 필수적임을 밝혔으나 그 재생과정에서 반월판 연골 제거후 5주까지는 재생된 반월판내에서 연골세포는 발견되지 않았고 재생조직은 섬유조직이었다고 보고하였다. 그들은 장기간의 관찰을 실시하지 않았으므로 저자들은 재생된 반월판이 오랜 시간이 경과되면 연골 세포로 화생(metaplasia)을 일으킬 가능성을 고려하여 이러한 사실을 실험적으로 증명하고자 본 실험을 하였다.

## 재료 및 방법

## 1. 재 료

실험동물로는 생후 5주된 체중 300~400 gm의 유약 가토 48 마리와 체중 1800~2200 gm인 성숙가토 40 마리를 사용하였으며 실험군으로는 유약가토 40 마리와 성숙가토 40 마리에서 양측 슬관절의 내측 반월상 연골 제거술을 시행하여 수술후 제 3주, 5주, 12주, 24주 및 48주에 각각 8마리씩(16슬관절) 도살하여 재생된 반월판을 관찰하였고 대조군으로서 정상 유약가토 8 마리를 생후 5주, 12주, 24주, 48주에 각각 2마리씩(4슬관절) 도살하여 정상 반월판의 발달 과정을 관찰하고 실험군과 비교하였다(표 1).

## 2. 관찰방법

대조군의 정상 반월상 연골과 실험군의 재생된 반월판을 시기에 따라 절취하여 정상 반월판의 발달과정을 육안 및 조직학적으로 관찰하였고 재생된 반월판은, 반월판의 재생율과 육안적으로 모양, 크기 및 표면의 윤곽도의 변화를 관찰하였고 조직의 일반 소견을 관찰하기 위하여 Hematoxylin-Eosin(H-E) 이중염색을 시행하여 세포의 증식 및 형태를 관찰하였고 조직화학적 염색

Table 1. Material, Rabbits Control, Young, Adult, 5 weeks(Wt: 300~400gm, 1800~2200gm)

Weeks Group	3	5	12	24	48	Total
Control(After birth)		2	2	2	2	8
Young(Post-op.)	8	8	8	8	8	40
Adult(Post-op.)	8	8	8	8	8	40
Total	16	18	18	18	18	88

으로 연골세포의 출현 여부를 알기 위하여 Rosenberg(1971)가 기술한 것과 같이 Safranin-O를 주염색 시약으로 하고 fast green을 대염색(counter stain) 시약으로 하였으며 hematoxylin으로 핵염색(nuclear stain)을 하였다.

이때 만약 재생된 반월판내에 연골세포가 출현하게 되면 연골기질내의 glycosaminoglycan은 Safranin-O와 강하게 결합하므로 밝은 오렌지 적색(orange red)을 나타내고, 섬유조직은 fast green에 의해서만 염색되며 청록색(bluish green)을 나타내므로 재생된 반월판이 섬유조직으로만 구성되어 있는지 또는 연골세포의 출현 여부와 연골세포가 출현하는 경우 성숙가토군과 유약가토군에서의 출현시기의 차이가 있는지를 관찰하였다.

## 성 적

## 1. 육안적 소견

정상 반월상 연골은 활액막과의 사이에 간격(cleavage)이 있으며 모양은 반월상이며 외연은 내연보다 두꺼운 쐐기(wedge) 모양이며 표면은 매우 윤택하고 색깔은 pearl white이었다. 모든 재생된 반월판은 정상 반월판 연골과는 달리 전후면이 활액막과 밀착되어 있었으며 모양은 술후 시기에 관계없이 전후 양끝이 둥근 덩어리로 되어 있으며 크기는 정상 반월상 연골보다 작으며 술후 48주가 되어도 크기는 변하지 않았다. 표면의 윤택도는 정상 연골판보다 덜 윤택하였으나 유약가토에서 재생된 반월판이 성숙가토에서 재생된 것보다 더 윤택하였으며 술후 시일이 경과할수록 윤택도는 더 좋아졌다(사진 1).

## 2. 반월판의 형태학적 재생율

유약가토군에서는 반월판은 술후 3주에 8마리, 16개 중 11개(68.7%)에서 재생되었으며, 5주에는 13개(81.1

**Fig. 1. Gross appearance of normal(Lt) and regenerated(Rt) meniscus.**

All regenerated menisci were less shiny and smaller than normal.  
Its margin was blunt shape.

%), 12 주에는 14 개(87.5%), 24 주에는 14 개(87.5%) 48 주에는 14 개(87.5%)가 재생되었으며, 성숙가토군에서는 슬후 3 주에, 제거한 16 개의 반월상 연골중 10 개(61.3%)가 재생되고 5 주에는 12 개(75.0%), 12 주에는 13 개(81.1%), 24 주에는 13 개(81.1%), 48 주에는 13 개(81.1%)에서 재생되었다. 2 군 사이에는 재생율에 있어 별 차이는 없었다(표 2).

**Table 2. Rate of morphological regenerated meniscus among 16 menisci .**

Weeks Group	3	5	12	24	48	Total
Young	11 (68.7%)	13 (81.1%)	14 (87.5%)	14 (87.5%)	14 (87.5%)	67/80 (83.7%)
Adult	10 (61.3%)	12 (75.0%)	13 (81.1%)	13 (81.1%)	13 (81.1%)	61/80 (76.5%)

### 3. 조직학적 및 조직화학적 소견

#### A. 대조군(유약가토)

정상 반월상 연골의 발달과정을 관찰한 결과 생후 5 주군에서는 연골판을 구성하는 세포의 모양은 타원형(elliptical) 또는 다각형(polygonal)이며 세포질이 풍부하고 세포배열은 반월상 연골에 전체적으로 치밀하게 분포되어 있고 O에는 염색되지 않았다. 생후 12 주군에는 반월상 연골의 중심부와 변연부의 세포 배열 양상이 달랐으며 즉 변연부는 섬유세포조직이었으며 중심

부는 핵이 원형이며 주위는 투명한 헤두리(clear halo)를 형성하며 세포질은 비교적 풍부하고 완전히 성숙되지는 않은 연골세포로 구성되어 있었고 Safranin-O에는 경미하게 염색되었다. 생후 24 주군에서는 세포 모양은 생후 12 주군보다 연골세포가 더욱 성숙되어 있었으며 Safranin-O에 더욱 강하게 염색되었다. 생후 48 주군에서는 세포의 모양은 핵은 작고 둥글며 세포질이 핵보다 훨씬 많으며 세포질은 Safranin-O 특수염색에서 강하게 염색되고 핵주위는 뚜렷한 halo를 형성하고 있어 lacune로 인정되는데 한개의 lacune안에는 대개 한개의 핵을 함유하고 있는 성숙 연골세포를 볼 수 있었다. 연골세포는 섬유조직으로 이어진 변연부를 제외하고 전체적으로 분포되어 있었다(사진 2).

#### B. 실험군

##### 1. 유약가토군

슬후 3 주군에서는 대부분 방추형 섬유아세포(spindle fibroblast)로 구성된 미성숙한 섬유조직이었으며 Safranin-O에는 염색되지 않았다. 슬후 5 주군에서는 대조군의 생후 5 주군보다 상대적으로 fibroblast층식이 더 현저하고 다각형(polygonal)인 세포의 발육은 미약하였으며 주로 섬유조직으로 구성되어 있으나 슬후 3 주군보다는 더 성숙된 섬유조직이었으며 역시 Safranin-O에는 염색되지 않았다. 슬후 12 주군에서는 14 개의 재생된 반월판중 1예에서는 주로 섬유조직으로 구성되어 있었으나 세포모양이 다각형이면서 핵 주위는 halo를 형성하는 미성숙한 연골세포가 출현 하였으며 Safranin-O에는 경미하게 염색되었다. 슬후 24 주에서

**Fig. 2. Histochemical findings of normal meniscus.**

At 5 weeks after birth, it consisted of fibroblast and fibrocyte.

It was not stained with Safranin-O.

At 12 weeks after birth, immature cartilage cell was firstly appeared in focal area and was lightly stained with Safranin-O.

At 48 weeks after birth, except the periphery of meniscus mature cartilage cells were distributed in whole area and were strongly stained with Safranin-O.

는 14 개의 재생된 반월판중 4 에에서 비교적 성숙된 연골세포가 반월판의 일부에 부분적으로 나타났고 Safranin-O 염색에 12 주군에서 보다 강하게 반응하였다. 술후 48 주군에서는 14 개의 재생된 반월판중 2 에에 뚜렷히 성숙된 연골세포가 나타났고 Safranin-O 에는 강한 염색을 나타냈다. 재생된 반월판에서 볼 수 있는 연골세포는 정상 반월판 연골에서와는 달리 부분적으로 나타났다(표 3, 사진 3).

## 2. 성숙가토군

유약가토군에 비하여 재생된 반월판의 발달과정이 느리며 술후 3 주, 5 주군에서는 대부분이 섬유아세포(fibroblast)의 증식을 볼 수 있었으며 Safranin-O 에는 염색되지 않았다. 술후 12 주군에서는 소수의 다각형(polygonal)의 세포가 나타났으나 대부분이 섬유세포였으며 Safranin-O 에는 염색되지 않았다. 술후 24 주군에서는 13 개의 재생된 반월판 중 2 에에서 미성숙한 연골세포 또는 성숙한 연골세포가 나타났으며 Safran-

in-O 에는 경미하게 염색되었다. 술후 48 주군에서는 13 개의 재생된 반월판 중 3 에에서 섬유조직내에 뚜렷한 연골세포가 나타났으며 Safranin-O 에는 강하게 염색되었다. 이 군에서도 유약가토군과 마찬가지로 연골세포의 출현 부위는 정상 반월상 연골과 달리 부분적으로 나타났다(표 3, 사진 4).

## 고 찰

사람에서 슬관절의 반월상 연골이 손상되거나 또는 기타의 원인으로 변성을 일으켜 슬 내장증상을 나타낼 때 흔히 반월상 연골을 절제하는 경우를 임상에서 경험하게 된다. 그러나 반월상 연골 제거후 재생되는 것으로 알려진 반월판에 대한 육안적 및 조직학적인 관찰은 관절 경과 같은 편리한 기제가 고안되어 쓰이고 있는 현급에 있어서도 매우 곤란한 실정이다.

Walmsley & Bruce(1938)<sup>1)</sup>는 가토에서 반월판 연

**Fig. 3.** Histochemical findings of regenerated meniscus in young rabbits.

At post-op. 3 weeks, it consisted of fibroblast and immature fibrocyte.

It was not stained with Safranin-O.

At post-op. 12 weeks, immature cartilage cell was found on focal area and was lightly stained with Safranin-O.

At post-op. 24 weeks, mature cartilage cell was found on focal area and strongly stained with Safranin-O.

No further changes noticed in 48 weeks specimen which is not shown here.

**Table 3.** Rate of cartilage transformation in regenerated meniscus.

<div>Week</div> <div>Group</div>	3	5	12	24	48	Total
Control(after birth)		0/4	2/4 (50.0%)	4/4 (100.0%)	4/4 (100.0%)	10/20(50.0%)
Young(Post. op)	0/11	0/13	1/14(7.1%)	4/14(28.5%)	2/14(15.0%)	7/66(10.6%)
Adult(Post. op)	0/11	0/12	1/13	2/13(15.4%)	2/13(23.1%)	5/61(8.1%)

골을 제거하면 4 일째에 관절내 활액막으로부터 섬유아 세포의 증식을 발견할 수 있었으며 시간이 경과함에 따라 이들 세포들이 점차 증식하여半月판이 재생되며 구성세포는 점차 성숙 섬유세포로 변하면서半月상 연골의 고유기능을 하게 된다고 하였다. 그들 실험에서 재생된半月판은 육안적으로는 거의 정상과 비슷하나 자세히 관찰한 결과 다음과 같은 몇가지 차이점을 발견할 수 있었다고 하였다. 첫째는 정상에서 볼 수 있는半月상 연골과 관절낭 사이의 cleavage 가 없고 재생된 반

월판이 관절낭과 밀착되어 있었으며 둘째는 재생된半月판은 정상보다 얇고 폭이 좁은 편이며 내측면이 덜 오목하고 셋째는 재생된半月판은 섬유조직으로 구성되고 표면은 정상보다 더욱 회고 넷째는 조직 소견상에서 술 후 얼마 경과되지 않는 경우 재생된半月판은 미성숙한 섬유아세포로 구성되고 술 후 오랜 시간이 경과한 재생半月판은 성숙한 섬유세포조직으로 변하였으며 연골세포는 발견할 수 없었다고 주장하였다. 또한 Smillie (1944)<sup>6)</sup>는 동물 실험에서半月판 연골 제거 후 그 자리

**Fig. 4. Histochemical findings of regenerated meniscus in adult rabbits.**

At post-op. 3 weeks, it consisted of fibroblast and immature fibrocyte in whole area and was not stained with Safranin-O.

At post-op. 12 weeks, it consisted of mature fibrocyte continuously and was not stained with Safranin-O. still.

At post-op. 24 weeks, immature cartilage cell was found on focal area and was strongly stained with Safranin-O.

No further changes were found in 48 weeks specimen which is not shown here.

에 재생되는 대치 반월판은 그 모양이 정상 반월판 연골과 매우 유사하나 조직학적으로는 전적으로 섬유조직이라고 하여 재생 반월판이라 하지 않고 대치 반월판이라 하지 않고 대치 반월판이라고 하였다.

Kim & Moon(1979)<sup>3)</sup>은 반월상 연골의 제거후 반월판의 재생은 활액막 세포로부터 생겨 나온다고 동물실험을 통하여 밝혔으며 활액막을 제거하지 않고 반월상 연골을 제거한 18예중 15예에서 재생된 반월판을 발견할 수 있었으며 조직소견에서 슬후 5주까지는 재생된 반월판이 섬유세포 조직으로 구성되어 있다고 하였다. Frost<sup>2)</sup>(1979)씨는 반월상 연골 재생에 관한 토론에서도 재생된 반월판은 완전한 섬유조직만으로 남아있지 않고 슬후 6개월 내지 1년후에는 부분적으로나마 연골세포로 변할 것이라고 예언하였다.

대부분의 병리학자들은<sup>4,5)</sup> 섬유성 연골(fibrocartilage)은 초기에는 섬유아세포였으며 점차 이들 세

포들이 환경 및 다른 여러가지 요소에 의하여 점차 연골(true cartilage)로 변화되어 가는 중간 단계에서 볼 수 있는 변이성(transitional form)의 연골이라고 주장하고 있다. 그리고 이와같이 섬유세포가 점차 변화하여 화생(metaplasia)을 일으키면 골세포도 될 수 있고 연골세포로 변할 수 있는 것은 사실이다. 저자들은 위의 사실을 착안하고 정상 반월상 연골의 조직학적인 변화를 어린 가토에서 생후 5주에서부터 관찰하여 본 결과 생후 5주에는 섬유세포만으로 구성되어 있었으나 생후 12주에서는 lacuna를 가지는 연골세포를 볼 수 있었으며 생후 24주에는 Safranin-O에 강하게 염색되는 완전한 성숙 연골세포를 발견할 수 있었다. 생후 48주에는 반월상 연골의 변연부분을 제외하고 전체적으로 성숙된 연골세포로 변화한 것으로 미루어 보아 반월상 연골은 초기에는 섬유조직이었으나 체중부하 등의 외력에 의하여 adaptive metaplasia를 일으켜 연골

세포로 변한다고 추정할 수 있다. 그리하면 재생된 반월판도 오랜 시일이 경과하면 섬유조직이 adaptive metaplasia를 일으켜 연골세포의 출현을 볼 수 있으리라는 가정하에 본 실험을 실시한 결과 유약 가토군에서는 술후 12주에서 14개의 재생된 반월판 중 1에에서 연골세포의 출현을 볼 수 있었으며 24주에는 4에, 48주에는 2에에서 연골세포를 발견할 수 있었고 성숙 가토군에서는 술후 24주에 13개의 재생된 반월판 중 2에에서, 48주에는 3에에서 연골세포를 발견할 수 있었다.

그런데 이들 실험군에서는 정상군과는 달리 연골세포가 재생된 반월판 일부분에서 부분적으로 발견된 점이 정상 반월판 연골과 다른 점이라 할 수 있다. 그러므로 재생된 반월판은 육안적으로나 조직학적으로 정상 반월상 연골과 꼭 같이 재생되지는 않으므로 대치 반월판(replaced meniscus)이라고 부르는 것이 타당하리라고 생각하며 대치 반월판은 그 기능이 정상 반월판같이 완전할 수 없을 것이며 반월상 연골 제거후 슬관절 연골의 퇴행성 변화가 더 잘 발생하게 되는 것은 이와같은 이유일 것이라고 추정된다.

저자들은 본 실험을 통하여 재생된 반월판도 adaptive metaplasia로 정상 반월상 연골에서 발견되는 연골세포가 섬유세포로부터 이행되어 생긴다는 것을 입증할 수 있었으며 더 나아가서 만약 adaptive change를 일으키게 하는 요인을 제거하게 되면 과연 재생된 섬유세포조직은 영원히 섬유세포로만 남아 있고 연골세포로 화생을 일으키지 않게 되는지는 앞으로 더욱 연구해 보아야 할 과제인 것이다.

## 결 론

실험군으로 체중이 300~400 gm 되는 유약 가토 40마리와 체중이 1800~2200 gm되는 성숙가토 40마리의 양측 슬관절의 내측 반월상 연골을 제거한 후 재생되는 반월상 연골을 관찰하기 위하여 술후 3주, 5주, 12주, 24주, 48주에 재생된 반월판을 절취하여 육안적 소견, 조직학적 소견(H-E염색) 및 Safranin-O fast green-iron hematoxylin 염색에 의한 조직화학적 소견을 관찰하였고 대조군으로는 체중이 300~400 gm 되는 유약가토 8마리를 생후 5주, 12주, 24주, 48주에 양

측 슬관절의 내측 반월상 연골을 절취하여 실험군과 같은 방법으로 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상 반월상 연골의 발달과정은 생후 5주에서도 섬유세포조직으로 구성되어 있었으며 생후 12주에서부터 미성숙 연골세포로 화생을 일으키기 시작하였으며, 이 이후부터는 Safranin-O에 강하게 염색되는 연골세포가 반월상 연골 변연부를 제외한 전체 부위에서 볼 수 있었다.

2. 육안적 소견으로는 재생된 반월판은 정상 반월상 연골보다 윤곽도가 덜하며 크기가 적고 변연부가 뚱뚱하고 활액막과 밀착되어 있었다.

3. 재생된 연골판은 유약가토군에서는 12주에 1에서 연골세포가 출현하기 시작하였으며 성숙 가토군에서는 24주에서 2에에 연골세포가 출현하였고 연골세포가 있는 부분은 전체 부위의 일부분에서 나타났다.

이상의 실험 결과로 보아 정상 반월상 연골도 어린 시절에는 섬유세포조직이었던 것이 성장함에 따라 adaptive metaplasia를 일으켜 전체적으로 연골세포로 발달되는 것이 밝혀졌고 재생된 반월판에서도 시간이 경과함에 따라 연골세포가 출현하였으나 정상 연골과는 달리 반월판 전체가 연골세포로 변하지는 않았지만 역시 adaptive metaplasia로 인한 변화라고 생각된다.

## REFERENCES

1. Bruce, J. and Walsley, R.: *Replacement of semilunar cartilage of the knee after operating excision*, Br. J. Surg, 25:17, 1937.
2. Frost R.H.: *Personal Communication*, 1979.
3. Kim J.M. & Moon M.S.: *Effect of synovectomy upon regeneration of meniscus in rabbits*, Clin. Orthop, 141:287-294, 1979.
4. Leeson, C.R. & Leeson, T.S.: *Histology*, 3rd edition, 139, Philadelphia, W.B. Saunder Co., 1976.
5. Robbins, S.L.: *Pathology basis of disease*, Philadelphia, W.B. Saunder Co., 1974.
6. Smillie, I.S.: *Observation on the regeneration of the semilunar cartilage in man*, British Journal of Surg, 31:298, 1944.