

연골막과 골막이식에 의한 관절 연골의 재생에 관한 실험적 연구

연세대학교 의과대학 정형외과학교실

한수봉 · 한대용 · 김남현 · 박병문

= Abstract =

Reconstruction of Articular Cartilage with Free Perichondrial or Periosteal Grafts

Soo Bong Hahn, M.D., Dae Yong Han, M.D., Nam Hyun Kim, M.D.
and Byeong Mun Park, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Because of the extremely limited potential of damaged articular cartilage for either repair or regeneration, and the fact that prosthetic joint replacement is contraindicated for children and young adults due to wear, loosening and mechanical failure of the artificial joint, there is a need for biological resurfacing of large, full-thickness defects in diseased or damaged joints by transplantation of a tissue with significant chondrogenic potential.

The purpose of this study was to investigate the chondrogenic potential of free intra-articular autografts of the perichondrium or periosteum under the influence of joint motion, to characterize the newly formed cartilage, and to determine which is the more effective method to repair the articular defect.

In a rabbit model, rib perichondrium and rib periosteum were used to repair full-thickness defects in the femoral condyle. The newly formed tissue was then evaluated grossly, histologically and histochemically at four, eight and twelve weeks after grafting. Successful grafts of the perichondrium or periosteum proliferate to fill the full-thickness articular cartilage defect with neocartilage which produces glycosaminoglycans in the matrix, as demonstrated by the uptake of safranin O.

This production of a large amount of glycosaminoglycans in the reparative tissue is similar to that of hyaline cartilage. Unacceptable results were obtained in 38% of the perichondrial grafts, and in 32% of the periosteal grafts.

These failures were due to femoral condyle fractures, and detachment of the grafts or failure of proliferation of the grafts.

There was no statistically significant difference between the final results of the perichondrial and periosteal groups ($p > 0.1$).

The technique of grafting must be improved to increase the rate of successful grafts in which neocartilage resembling hyaline cartilage fills the articular cartilage defect.

The positive results of the present experimental investigation prove that biological resurfacing of full-thickness defects in osteoarthritis, especially of small joints, may be clinically possible through the use of free autogenous perichondrial or periosteal grafts.

본 논문은 1986년도 문교부 자유과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

Such biological resurfacing would be a valuable alternative to prosthetic joint replacement, especially in the treatment of children and young adults.

Key Words: Reconstrucion, Articular cartilage, Perichondrial or periosteal grafts.

서론

심한 관절염이나 외상으로 인하여 손상된 관절 연골이 회복되거나 재생되는 것은 극히 제한된 경우이며 소실된 관절기능을 회복시키기 위하여 기계적인 인공관절을 대치하는 경향이 증가하고 있다.

그러나 이러한 인공관절을 사용하는 경우 관절기능의 제한이 온다든지, 인공관절자체의 마모나 파괴, 혹은 일정기간이 경과한 후에는 재수술을 요하기 때문에 어린이나 젊은 사람에게는 원칙적으로 사용할 수 없다.

따라서 이환 중이거나 손상된 관절에 연골형성 능력이 충분히 있는 조직을 이식하여 관절 연골의 결손 부위에 생리적 조직으로 덮히게 하는 방법이 필요하게 되었다.

1908년에 Hofmann은 골막이 관절연골을 생성할 수 있다고 생각하고 유리골막이식을 이용하여 관절성형술을 시행하였으나 연골형성을 관찰하지는 않았다¹⁵⁾ 1914년에는 Hass가 늑골의 연골막으로부터 연골이 형성된다고 보고하였다¹⁰⁾.

Ham은 1930년에 골막의 골형성층에 있는 세포들은 태아시기의 환경조건에 따라 골형성이나 연골형성을 할 수 있다는 가능성을 시사하였다¹⁴⁾. 태아기에 연골막으로부터 유래되는 골막이 상당한 연골형성 능력을 갖고 있다는 것이 여러학자들에 의해 주장되었다^{17, 20, 22, 23, 26, 28, 30)}. 소천공으로 관절연골에 결손을 일으켜 관절연골 재생에 관한 연구를 위한 실험적 모델로 이용하는 수도 있으나^{23, 32)} 임상적으로 더 관계가 있는 모델은 관절연골에 커다란 결손이나 손상을 받는 경우이다. 관절연골의 커다란 결손부위에 재생되는 조직은 작은 결손때 재생되는 조직보다 불량하다고 하였다⁴⁾. 또한 성장한 가토의 슬관절에서 대퇴골의 관절연골에 연골화 조직까지 직경 1mm의 다발성 천공을 낸 후에 초자절연골을 닦은 조직이 재생되었으나 이러한 조직이 시일이 경과함에 따라 초자절 모양이 소실되면서 1년후에는 교원질 조직으로 변하였다고 하였다¹⁸⁾.

1972년 Skoog등은 연골막 조각을 귀에서 거

상한 후 귀의 연골과 연골막사이의 공간에 새로운 연골이 생기는 것을 보고하였다³⁴⁾. 그들은 연골막 밑의 연골을 제거한 대신 테프론 링을 연골결손주 위에 삽입하여 주위에서 연골이 성장해 오는 것을 방지한 후 연골막에서 새로운 연골이 생성된 것을 증명한 바 있다. Ohlsén은 귀의 연골막을 피하조직, 근육, 간동에 유리이식한 후 이들 모든 조직에서 연골이 생성되었다고 보고하면서 연골막 밑에 있는 연골은 단지 영양공급원에 지나지 않는다고 주장하였다²⁴⁾.

Engkvist와 Ohlsén은 가토의 견관절에 귀의 연골막을 사용하여 관절성형술을 시행한 후 불규칙한 연골 표면이 형성되었다고 보고하였다⁶⁾. 그러나 귀의 연골막은 탄성섬유를 함유하고 있어 관절성형술에 이용하기에는 부적당하여 늑골의 연골막 이용에 관한 연구가 진행되었다. Engkvist등에 의하면 가토에서 귀의 연골막과 늑골 연골막을 각각 두피의 피하조직과 슬관절 내에 유리 이식과 조직배양하였을때 연골을 형성하며 늑골의 연골막이 귀의 연골막보다 연골형성능력이 더 우수함을 보고하였다⁸⁾. Engkvist와 Wilander에 의하면 가토의 대퇴골과에서 관절연골을 결손시킨 후 귀의 연골막을 이식했을 때에 비해 늑골의 연골막을 이식했을때 연골 형성 능력이 우수하였다고 하였다⁷⁾. Seradge등은 임상에서 늑골의 연골막을 수지관절에 이식하여 재생된 연골을 특수 염색하여 관찰한 결과 섬유성 연골이 재생되었다고 보고하였다³³⁾. 그러나 인체에서 관절성형술을 위하여 충분한 양의 연골막을 획득하기는 거의 불가능하다. 이에 비하여 태아기에 연골막으로부터 진화된 골막은²⁶⁾ 연골막보다는 훨씬 양이 많고 이용하기가 용이한 편이며, 골막이나 연골막의 심층에는 비교적 미분화된 간엽조직으로 이루어져 있어 조직학적으로 서로 비슷하며 골막은 골형성은 물론이고 연골형성 능력도 있다는 의견들이 있다. Fell은⁹⁾ 병아리 태아에서 연골막으로부터 진화된 골막이 연골을 형성하였다고 보고한 바 있다. 골절 부위에 가관절운동이 일어날 때 골막은 연골성 가골을 생성하며^{12, 13, 16, 35)} 유리 골막 이식시 골형성이전에 중간단계로서 연골형성시기가 있다^{1~3, 14, 20, 25~27)}. Rubak등²⁹⁾은

가토 대퇴골의 관절 연골에 결손을 만든 후 골막을 이식하여 연골 형성을 보고하였으며, 이식 골막과 해면골 사이에 세포의 투과가 불가능한 필터를 삽입함으로써 연골 결손 부위에서 골막이식 후 신생된 연골은 해면골로부터가 아니고 이식 골막의 세포로부터 발생하였다고 발표하였다. 그들은 연골 형성 과정에 있어서 관절의 운동이 중요한 역할을 한다고 보고하였다. O'driscoll과 Salter는 가토의 골막을 슬관절내 유리 이식 후 슬관절을 고정시킨 경우, 연골 형성이 실험동물의 반수이하에서 생성되었다고 보고하면서 이식수술 후 관절운동의 중요성을 강조하였다²²⁾.

이에 본 연구에서는 관절 연골 결손부위에 연골막과 골막을 각각 이식 후 자유로운 관절운동을 허용하여 새로운 연골이 형성될 수 있는지, 새로운 연골이 형성된다면 이는 관절 연골과 어떤 차이점이 있는지, 또한 연골막 이식과 골막 이식중 어느 것이 더 효과적인지 등에 중점을 두어 본 실험에 착수하였다.

연구 방법

1. 실험재료

체중 1.8-2.5kg의 성숙한 한국산 백색 가토 90마리를 암수 구별없이 사용하였다.

2. 실험방법

실험군을 3개의 군으로 구분하여 A군은 가토의 우측 슬관절내의 대퇴골 내과에서 관절 연골을 제거한 후 연골막 이식군으로 35마리를 사용하였고, B군은 우측 슬관절내의 대퇴골 내과에서 관절 연골을 제거한 후 골막 이식군으로 35마리, C군은 우측 슬관절내의 대퇴골 내과에서 관절 연골을 제거한 후 연골막이나 골막 이식없이 관찰하는 대조군으로 20마리를 사용하였다. A군과 B군의 좌측 슬관절을 대조군으로 사용하지 않은 이유는 한 동물에 두번씩 수술함으로써 과다한 출혈량, 오랜 기간의 마취등으로 실험 기간중 사망률이 많아지는 것을 원하지 않았기 때문에, 실험군이나 대조군의 한 동물에 생존 기간중에 한번씩만 수술하는 것을 원칙으로 하였다. 수술후 실험기간중 A군에서 3마리, B군에서 4마리, C군에서 2마리가 위장장애로 사망하여 이는 실험 성적에서 제외하였다. 수술방법으로는 생리식염수에 용해시킨 Secobarbital을 체중 kg당 25-50mg을 가토

의 귀에 있는 정맥에 주사하여 실험가토를 마취시킨 후 실험용 수술대에 양와위에서 양측 앞다리와 좌측 뒷다리를 고정 한 후 우측 하부 늑골 부위와 우측 슬관절 부위에 전기 털깎기로 충분히 삭모 후 Betadine으로 수독한 후 수술부위를 무균 조작하여 실험하였다. A군에서는 사행 절개선을 이용하여 우측 하부 늑골에 도달하였으며 섬세한 박리를 하여 늑골의 내측에 있는 연골부위를 노출시켰다. 이 절개선을 통해서 제 5, 6, 7늑골 연골에 도달하였으며 가능한 한 넓은 연골막을 얻기 위해서 그 중 가장 넓은 늑골 연골을 선택한 후 연골막을 포함하여 약 1cm의 늑골 연골을 채취하고 흉곽을 이중으로 봉합하였다. 주위에 부착되어 있는 근육은 제거한 후 연골막을 칼로 절개 후 골막 박리기를 이용하여 늑골 연골로부터 박리시켜 1×0.5cm의 얇은 직사각형의 연골막 조각을 만들었다(Fig. 1). 이식한 연골막 조각을 생리 식염수로 적신 거즈에 싸서 보관후, 우측 슬관절에 내측 슬개골 절개선을 가하여 슬개골

Fig. 1. A thin rectangular strip of perichondrium was lifted from the cartilaginous rib.

Fig. 2. Placement of the graft. The perichondrial graft is draped over the cartilage-denuded bone core and is sutured in place with monofilament nylon.

을 외측으로 탈구시킨 후 대퇴골 내과를 노출시켰다. 원통형 drill bit을 사용하여 대퇴골 내과에서 직경 0.3cm 길이 1.0cm의 원통형의 골조각을 조심스럽게 채취한 후, 연골하 조직을 잘 보존하도록 주의를 하면서 골절단기를 사용하여 관절 연골을 완전 절단해 낸다. 원통형 골 조각에 23게이지 바늘을 이용하여 구멍을

뚫고 연골막 심층을 슬관절 면에 노출되도록 해서 이식할 연골막을 원통형 골조각에 써운후 6-0 나이론 봉합사를 이미 만든 구멍을 통해 이식할 연골막을 잘 고정한다(Fig. 2). 대퇴골 내과를 잘 세척 후 연골막을 둘러싼 원통형 골조각을 골 결손된 자리에 꼭 끼게 넣는다. 이때 연골막을 싼 표면이 주위 관절면보다 약 0.1cm 깊게 넣는다(Fig. 3-A). 이때 대퇴골과의 관절 연골 결손부위는 원통형 drill bit 자체의 두께에 의해 직경이 0.4cm가 된다. 관절낭과 피부를 봉합한다. 연골막이나 골막을 튼튼히 싸서 고정후 원통형 골조각을 제자리에 꼭 끼게 잘 넣는 것이 신생 연골성장이 성공적으로 이루어 지는데 가장 중요하다는 것을 예비 실험에서 알 수 있었다.

B군에서는 우측 제 5, 6, 7 늑골부에서 내측의 늑골 연골 바로 옆의 늑골부분을 골막을 포함하여 1cm 채취한 후 골막을 채취하여(Fig. 4) A군에서와 동일한 방법으로 우측 슬관절내 대퇴골 내과에서 채취한 원통형 골조각에서 관절 연골을 완전 제거후, 골막의 심층을 슬관절면에 슬관절면에 노출하도록 골막을 싸서 잘 고정후 대퇴골 내과에 꼭 끼게 넣는다(Fig. 5-A). 나머지는 A군과 동일한 방법을 사용하였다.

C군에서는 우측 슬관절을 대조군으로 사용하여 대퇴골 내과에서 원통형 골조각을 채취후 관절 연골을 완전 절제한 후, 연골막이나 골막을 이식하지 않고 그대로 제자리에 고정하고는(Fig. 6-A) 나머지는 A군이나 B군과 동일한 과정을 시행하였다. 수술후 감염 예방을 목적으로 앰피시린을 3일간 근주하였으며, 우리(cage)내에서 정상적으로 자유롭게 활동할 수 있도록 하였다. 수술을 시행하지 않은 정상 동물 2마리에서 각각 늑골 연골의 연골막과 늑골

Fig. 3-B

Fig. 3-A and 3-B. Gross morphology. A bone core, denuded of cartilage and with a perichondrial graft sutured in place, was inserted. The experimental defect is shown in the immediate postoperative period(Fig. 3-A) and the repaired state at 12 weeks(Fig. 3-B). Note the confluent neocartilage that has filled the defect.

Fig. 4. A thin rectangular strip of periosteum was lifted from the rib.

Fig. 5-A and 5-B. Gross morphology. A bone core, denuded of cartilage and with a periosteal graft sutured in place, was inserted. The experimental defect is shown in the immediate postoperative period(**Fig. 5-A**) and the repaired state at 12 weeks(**Fig. 5-B**). Note the confluent neocartilage that has filled the defect.

Fig. 6-A and 6-B. Gross morphology. A bone core, denuded of cartilage and without perichondrial or periosteal graft, was inserted as a control. The defect is shown in the immediate postoperative period(**Fig. 6-A**) and with an absence of neocartilage at 12 weeks(**Fig. 6-B**).

Fig. 7-A and 7-B. Metachromatic staining of the perichondrium(**Fig. 7-A**) or periosteum with muscle(**Fig. 7-B**)(PAS-alcian blue, $\times 100$).

의 골막을 채취하여 조직표본을 만들었다(Fig. 7-A, 7-B).

각군은 수술후 4주, 8주, 12주에 A군은 각각 11, 11, 10마리씩, B군은 각각 11, 10, 10마리씩, C군은 각각 6마리씩 희생시켜 재생된 조직을 관찰하였다. 슬관절에서 대퇴골 원위부를 채취하여 육안적 관찰후 10%중성 포르마린에 48시간 고정하고 개미산, 염화알루미늄, 염산의 혼합액에 2주간 탈회한 다음 파라핀에 포매하여 각각의 표본을 4μ두께로 종단 조직 절편을 만들었다. 이어서 조직학적 관찰을 위하여 hematoxylin-eosin염색, 조직화학적 관찰을 위하여 safranin O 염색, masson trichrome염색, PAS-alcian blue염색을 시행한 후 광학 현미경을 이용하여 조직의 변화를 관찰하였다.

결 과

A, B, C각군에서 수술후 4, 8, 12주에 재생 조직의 특성을 관찰하였으며, 대퇴골 내과를 육안적, 조직학적, 조직화학적으로 조사하였다.

연골막이나 골막 이식군에서는 결손부위가 단단하고, 결합력있는 연골조직으로 채워져 있으면, 그것은 생물학적으로 유용한 조직으로 생각되어 이식이 성공된 예로 판정하였다. 이식 성공례와 대조군에서 각 기간마다 조직학적, 조직화학적 관찰을 하였다. 이식이 실패로 판정된 경우는 대퇴골 내과 골절, 이식부위 박리 혹은 증식이 안됨 중의 하나였다. 이것은 대체로 수술후 관절 운동에 의해 내고정이 제대로 안된 상태때문에 일어난 것으로 사료되었다. 이식군중에서 재생조직이 만족할만 하고 생물학적으로 유용한 조직인 경우, 조직표본을 만들어 형태학적인 검사를 실시하였다. 재생조직이 만족으로 판정된 조직표본에서는 결손부위가 연골조직으로 채워져 있었다. 만족으로 판정된 예는 A군에서 수술하여 생존한 32례중 20례(62%), B군에서 수술하여 생존한 31례중 21례(68%)이었으며 두군사이에 통계학적으로 유의한 차이는 없었다($p>0.1$). 기간적으로는 만족으로 판단된 예가 A군에서는 4주에 7례, 8주에 7례, 12주에 6례, B군에서는 4주에 7례, 8주에 7례, 12주에 7례이었다. 실패로 판정된 예는 A군에서는 32례중 12례(38%), B군에서는 31례중 10례(32%)이었다. A군에서는 대퇴골 내과 골절로 인한 실패가 6례, 이식 부위 박리 혹은 증식 안됨으로 인한 것이 6례이었으

며, B군에서는 대퇴골 내과 골절로 인한 것이 6례, 이식 부위 박리 혹은 증식 안됨으로 인한 것이 4례이었다.

1. 육안적 소견

육안적으로 연골막과 골막이식군에서 만족으로 판정하여 생물학적으로 유용한 조직으로 판단되었던 예에서는 모두 4주, 8주 및 12주에서 결손부위가 평편하고, 단단하며, 진주와 같은 흰색의 연골조직으로 채워져 있었다. 신생 연골 조직은 주위의 관절 연골조직과 융합이 되었다. 그러나 신생 연골 조직은 주위의 약간 핑크빛도는 관절연골에 비해 약간 밝은 빛을 띠어 경계를 알 수 있었다(Fig. 3-B, 5-B). 모든 대퇴골 내과에서 골극형성이나 국소 균열이 없어 퇴행성 변화는 없었으며 4주, 8주 및 12주에 마찬가지로였다. 연골막 이식군이나 골막이식군에서 차이는 발견할 수 없었다. 모든 대조군에서 매우 얇은 층의 부드러운 재생조직으로 원추형 골조직이 얇게 덮혀 있어 결손 부위가 함몰된 상태로 남아 있었으며, 4주, 8주 및 12주간의 차이는 없었다(Fig. 6-B).

2. 조직학적 및 조직화학적 소견

가토의 늑골 연골에서 연골막을 채취하여 조직검사한 결과, 2개의 세포층으로 이루어진 막으로 나타났다. 내층은 세포들이 많고 외층은 주로 섬유조직으로 이루어져 있어 내층의 세포들이 연골세포로 분화되는 것으로 생각되어졌다(Fig. 7-A). 가토의 늑골에서 골막을 채취하여 조직 검사한 결과 2개의 세포층으로 이루어진 막으로 내층은 골형성층이고 근육이 붙어 있는 외층은 섬유층이다(Fig. 7-B). 실험 조직표본에서는 이식부위의 두께, 표면의 외형, 세포의 형태(수와 방향), 기저부와 변연과의 유착 정도, 이식부위 기질의 이염색성(metachromasia), 교원섬유의 방향등의 특징을 관찰하였다.

연골막 이식군의 4주에서는 이식편에 연골아 세포의 증식이 있으며, 형성된 연골 조직의 구성 세포, 배열 양상, 교원섬유의 방향등은 미숙한 편이다. 이식편의 표면은 평활하지 않고 다소 파상형이었으나 주위 연골 수준과 비슷하고, 주위 연골 조직과도 잘 결합되어 있고 기저부의 숙주골 조직과도 결합이 되었다. 이식편의 두께는 주위 정상 연골보다 약 두배로 증가되었다(Fig. 8). 이것은 최초로 실험시 연골막을 둘러싼 원추형 골조각을 주위조직보다 약

Fig. 8. The defect is replaced by proliferation of chondroblasts four weeks after grafting with rib perichondrium(H-E, $\times 40$).

Fig. 10. The grafted tissue is well bonded to the underlying host bone and is composed of cartilaginous tissue eight weeks after grafting with rib perichondrium(H-E, $\times 40$).

Fig. 9. Reparative tissue four weeks after grafting with rib perichondrium(Safranin O, $\times 100$).

0.1cm 깊숙히 넣었기 때문에 판단되었다.

초자 연골로 이루어진 정상 관절 연골의 기질은 glycosaminoglycans으로 구성되어 있으며 이 glycosaminoglycans의 생성은 safranin O의 침착으로 증명되는데 연골 기질을 보기 위한 safranin O 염색상 연골 기질의 이염색성이 경도로 관찰되었다(Fig. 9).

연골막 이식군 8주의 조직 표본에서는 이식편에 세포의 수가 증가하고, 표면부와 심층부

Fig. 11. The graft is hypercellular. In the deep area, round or polygonal cells are in lacunae and are arranged without formation of isogenous clusters or columns. In the superficial zone, spindle cells are elongated parallel to the surface eight weeks after perichondrial grafting(H-E, $\times 100$).

에서 세포 형태와 배열이 상이하였다. 이식편의 표면부에서는 몇층의 방추형의 길쭉한 세포들이 표면에 평행하게 배열을 하고, 그 하방 심층부에서는 개개 세포의 모양이 둥글거나 다각형인 연골 세포들이 열공(lacuna)을 형성하

Fig. 12. The articular defect is perfectly healed twelve weeks after perichondrial grafting(H-E, $\times 40$).

Fig. 13. The newly formed regenerated tissue is intensely metachromatic twelve weeks after perichondrial grafting(Safranin O, $\times 40$).

Fig. 14. A special stain reveals the tangential arrangement of fiber bundles in the deep zone and the transverse arrangement in the superficial zone twelve weeks after perichondrial grafting(Masson trichrome, $\times 100$).

면서 소집단 또는 불완전하나마 주상(column) 구조를 취하면서 배열하였다(Fig. 11). 이식편은 주위와 기저부 숙주골과는 잘 결합되어 있었다(Fig. 10). 연골기질을 보기 위한 safranin O염색상 이염색성이 중등도로 관찰되었다.

연골막 이식군 12주의 조직 표본에서는 이

Fig. 15. The graft was hypercellular, but the columnization or clustering is poor and lacunae are underdeveloped four weeks after periosteal grafting(H-E, $\times 100$).

식편에 세포의 수가 증가하고 그 심층부에서는 등글거나 타원형의 통통한 연골 세포들이 열공을 형성하면서 소집단 또는 불완전한 주상구조를 취하면서 배열하고, 표면부에서는 몇 층의 방추형 세포들이 표면에 평행하게 배열하였으며 8주의 표본에 비해 연골 세포수가 더욱 증

가하고, 성숙한 모습을 하여 정상 초자 연골과 유사하였다(Fig. 12). Safranin O 염색상 정상 관절 초자 연골과 같은 정도로 진한 이 염색성이 관찰되었다(Fig. 13). 이식편의 표면은 평활하였고 주위 연골 수준과 비슷하였으며, 주위 연골 조직이나 기저부 숙주골과도 잘 융합되었다. 이식편을 구성하는 교원 섬유의 방향은 masson trichrome 염색상 표면부에서는 표면에 평행하게, 심부에서는 경사지거나 또는 수직으로 열공을 감싸면서 주행하였다(Fig. 14).

골막 이식군의 4주에서는 이식편에 등글거나 타원형의 연골아세포들이 미성숙한 열공을 형성하면서 소집단이나 주상 구조를 제대로 못 갖추고 배열하였다(Fig. 15). 이식편의 표면은 다소 파상형이었으나 주위 연골 조직과는 잘 결합되어 있고 기저부의 숙주골과도 결합되었다. Safranin O 염색상 연골 기질의 이염색성이 정도로 관찰되었다. 골막 이식군 8주에서는 이식편의 두께가 주위 정상 연골보다 약 두배로

증가되었으며, 이식 표면은 주위 연골 수준과 비슷하였고, 주위 연골조직과 기저부 숙주골과도 잘 결합되었다. 재생된 연골 세포는 4주때 보다는 좀 더 성숙한 모습이었으며 배열 상태는 연골막 이식군의 8주에서의 소견과 유사하였다(Fig. 16). Safranin O 염색상 연골 기질의 이염색성이 중등도로 나타나며 표층보다는 심층부에 좀 더 진하게 관찰되었다(Fig. 17). 골

Fig. 18. The newly formed regenerated tissue is intensely metachromatic twelve weeks after periosteal grafting (Safranin O, $\times 40$).

Fig. 16. The grafted tissue is well bonded to the underlying host bone and composed of cartilaginous tissue eight weeks after periosteal grafting (H-E, $\times 100$).

Fig. 17. The newly formed regenerated tissue is moderately metachromatic eight weeks after periosteal graftin (Safranin O, $\times 40$).

Fig. 19. The collagen bundles are arranged vertically in the deep zone and tangentially in the superficial zone twelve weeks after periosteal grafting (Masson trichrome, $\times 100$).

Fig. 20. The control defect without grafting remained with no filling of reparative tissue twelve weeks after the cartilage was denuded. No staining with safranin O was observed (Safranin O, $\times 40$).

막 이식군 12주에서는 신생 연골은 통통하고 둥글거나 타원형의 연골 세포가 뚜렷한 열공안에 존재하며 Safranin O에 진하게 이 염색성을 나타내는 세포의 기질에 싸여 있어 정상 관절의 초자연골 소견과 유사하였다. 그외 세포의 배열 상태, 이식편의 두께, 표면 상태 주위 조직과의 결합 정도도 연골막 이식군의 12주에서의 소견과 유사하였다(Fig. 18).

Masson trichrome 염색상 신생 연골을 구성하는 교원 섬유 방향은 표면부에서는 표면에 평행하게, 심부에서는 수직으로 열공을 감싸면서 주행하였다(Fig. 19).

관절 연골을 제거하고 연골막이나 골막을 이식하지 않은 대조군에서는 4, 8, 12주에서 똑같이 연골 결손 부위는 재생 조직없이 함몰된 상태로 남아 있으며 safranin O 염색에 염색이 안 되었다(Fig. 20).

고 찰

본 실험에서는 활막 관절에서 관절 연골의 전층 결손 부위에 자가 연골막과 자가 골막을 이식한 후 자유로운 관절 운동을 허용하여 정상 관절 연골인 초자연골과 유사한 glycosaminoglycans가 풍부한 새로운 연골이 증식됨을 관찰할 수 있었다. 연골막 이식군에서는 새로운 연골 증식 성공률이 62%이었고 골막 이식군에서는 새로운 연골 증식 성공률이 68%로 두군사이의 성공률은 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 연골막이나 골막 이식시 고정을 단단히 하는 것이 연골 형성의 성공률을 높일

수 있다고 판단되었다.

새로 형성된 조직내의 연골 세포가 이식한 연골막이나 이식한 골막에서부터 연유되었다는 결론을 내릴 수 있는 데에는 몇가지 증거가 있다. 예를 들어 관절 연골의 전층 결손 부위에 연골막 이식군이나 골막 이식군에서는 정상 관절 연골과 유사한 glycosaminoglycans가 풍부한 초자연골이 형성되었는데 연골막이나 골막 이식을 안한 연골결손 부위에서는 연골이 형성되지 않았다는 점이다. 또한 연골막이나 골막을 가토의 슬관절내에 유리 이식하여 연골이 생성되었다고 보고된 바 있다^{8,22)}.

관절의 운동은 활액의 분량을 증가시키고 관절내 압력을 증가시켜 연골 형성을 촉진시킨다고 하였다^{5,11,12,19,21,29,31,32)}.

Hall은 성장중인 병아리 태아에서 인위적으로 마비를 유발하여, 연골 형성을 완전 중지시켰다가 간헐적으로 압력과 긴장을 가하여 다시 연골 형성이 되었다고 보고하였다^{11,12)}.

본 연구에서 이식술후 12주에 이식편이 기저부 숙주골과 잘 부착되고, 주위 조직과의 간격도 없어진 것은, 융합과 개조가 잘 일어날 수 있는 생물학적인 생체 조직을 본 실험에서 이용하였다는 것을 의미한다. 본 실험의 모형은 연골의 형성에 필요한 기본 조건, 즉 유전적으로 적합한 조직이고, 기질 형성 유발에 필요한 외적 요소, 성장에 필요한 영양 조건등을 모두 갖추었다고 할 수 있다. 연골막이나 골막은 연골을 형성할 수 있는 조직이고, 연골막이나 골막을 누골 연골이나 누골에서 박리하였으므로 성장을 하기 위한 최초의 자극을 주었고, Engkvist등, O'Driscoll과 Salter에 의하면 연골막이나 골막을 가토의 슬관절내 유리 이식하여 활액의 환경에서는 연골분화가 잘 된다고 하였다^{8,22)}.

본 연구에서 12주간의 기간으로 연골막이나 골막에서 재생된 연골의 장기 추시는 못하였으나 국소적인 관절 연골 손상시 연골막이나 골막 이식술은 임상적으로 시도할 수 있는 유용한 방법으로 사료되며, 연골막이나 골막 이식후 연골 형성의 성공률에서는 차이가 없으므로 임상에 이용시에는 채취하기가 용이하고 공급량이 풍부한 골막 이식이 더 바람직할 것으로 판단된다.

결 론

유리 연골막과 골막 이식을 활막 관절에 이식한 후 관절 운동을 시킨 결과 이식편이 생존하여 초차양 연골을 형성하였다. 국소적인 관절 연골 손상시 연골막이나 골막 이식은 유용한 관절 연골 재생법으로 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

REFERENCES

- 1) Alhopuro, S.: *Premature Fusion of Facial Sutures with Free Periosteal Grafts. An Experimental Study with Specific Reference to Bone Formation with Free Periosteal Grafts from the Tibia, the Scapula and the Calvarium. Scandinavian J. Plast. and Reconstr. Surg., Supplementum 17, 1978.*
- 2) Burman, M.S., and Umansky, M.: *An Experimental Study of Free Periosteal Transplants, Wrapped around Tendon. With a Review of the Literature. J. Bone and Joint Surg., 12: 579-594, July 1930.*
- 3) Cohen, J. and Lacroix, P.: *Bone and Cartilage Formation by Periosteum. Assay of Experimental Autogenous Grafts. J. Bone and Joint Surg., 37-A: 717-730, July 1955.*
- 4) Convery, F.R., Akeson, W.H. and Keown, G.H.: *The Repair of Large Osteochondral Defects. An Experimental Study in Horses. Clin. Orthop., 82: 253-262, 1972.*
- 5) Drachman, D.B. and Sokoloff, L.: *The Role of Movement in Embryonic Joint Development. Devel. Biol., 14: 401-420, 1966.*
- 6) Engkvist, O. and Ohlsen, L.: *Reconstruction of Articular Cartilage with Free Autologous Perichondrial Grafts. Scandinavian. J. Plast. and Reconstr. Surg., 13: 269-274, 1979.*
- 7) Engkvist, O. and Wilander, E.: *Formation of Cartilage from Rib Perichondrium Grafted to an Articular Defect in the Femur Condyle of the Rabbit. Scandinavian J. Plast. and Reconstr. Surg., 13: 371-376, 1979.*
- 8) Engkvist, O., Skoog, V., Pastacaldi, P., Yormuk, E. and Juhlin, R.: *The Cartilaginous Potential of the Perichondrium in Rabbit Ear and Rib. Scandinavian J. Plast. and Reconstr. Surg., 13: 275-280, 1979.*
- 9) Fell, H.B.: *The Osteogenic Capacity in Vitro of Periosteum and Endosteum Isolated from the Limb Skeleton of Fowl Embryos and Young Chicks. J. Anat., 66: 157, 1932.*
- 10) Haas, S.L.: *Regeneration of Cartilage and Bone with a Special Study of these Processes as They Occur at the Chondrocostal Junction. Surg., Gynec. and Obstet., 19: 604-617, 1914.*
- 11) Hall, B.K.: *The Formation of Adventitious Cartilage by Membrane Bones under the Influence of Mechanical Stimulation Applied in Vitro. Life Sci., 6: 663-667, 1967.*
- 12) Hall, B.K.: *In Vitro Studies on the Mechanical Evocation of Adventitious Cartilage in the Chick. J. Exper. Zool., 168: 283-306, 1968.*
- 13) Hall, B.K. and Jacobson, H.M.: *The Repair of Fractured Membrane Bones in the Newly Hatched Chick. Anat. Rec., 181: 55-69, 1975.*
- 14) Ham, A.W.: *A Histological Study of the Early Phases of Bone Repair. J. Bone and Joint Surg., 12: 827-844, Oct. 1930.*
- 15) Hofmann, M.: *Weitere Untersuchungen und Erfahrungen über Periost-transplantation bei Behandlung knöcherner Gelenkankylosen. (Further studies and experiences concerning periosteal transplantation in the treatment of bony ankylosis of joints). Bruns' Beitr. Klin. Chir. 59: 717-732, 1908.*
- 16) Kernek, C.B. and Wray, J.B.: *Cellular Proliferation in the Formation of Fracture Callus in the Rat Tibia. Clin. Orthop., 91: 197-209, 1973.*
- 17) Kon, M.: *Cartilage Formation from Perichondrium in a Weight-Bearing Joint. An experimental Study. European Surg. Res., 13: 387-396, 1981.*
- 18) Mitchell, N. and Shepard, N.: *The Resurfacing of Adult Rabbit Articular Cartilage by Multiple Perforations through the Subchondral Bone. J. Bone Joint Surg., 58-A: 230, 1976.*
- 19) Mooney, V. and Ferguson, A.B., Jr.: *The Influence of Immobilization and Motion on the Formation of Fibrocartilage in the Repair Granuloma after Joint Resection in the Rabbit. J. Bone and Joint Surg., 48-A: 1145-1155, Sept. 1966.*

- 20) Morito, T.: *An Experimental Study on Bone and Cartilage Formation in Autogenous Periosteal Transplantation*. J. Tokyo Dent. Coll. Soc., 80:1723-1737, 1980.
- 21) Murray, P.D.F. and Drachman, D.B.: *The Role of Movement in the Development of Joints and Related Structures: The Head and Neck in the Chick Embryo*. J. Embryol. and Exper. Morphol., 22:349-371, 1969.
- 22) O'Driscoll, S.W. and Salter, R.B.: *The Induction of Neochondrogenesis in Free Intra-Articular Periosteal Auto-grafts under the Influence of Continuous Passive Motion. An Experimental Investigation in the Rabbit*. J. Bone and Joint Surg., 66-A:1248-1257, Oct. 1984.
- 23) O'Driscoll, S.W. and Salter, R.B.: *The Repair of Major Osteochondral Defects in Joint Surfaces by Neochondrogenesis with Autogenous Osteoperiosteal Grafts Stimulated by Continuous Passive Motion. An Experimental Investigation in the Rabbit*. Clin. Orthop., 208:131-140, 1986.
- 24) Ohlsen, L.: *Cartilage Formation from Free Perichondrial Grafts: An Experimental Study in Rabbits*. British J. Plast. Surg., 29:262-267, 1976.
- 25) Poussa, M. and Ritsila, V.: *The Osteogenic Capacity of Free Periosteal and Osteoperiosteal Grafts. A Comparative Study in Growing Rabbits*. Acta Orthop. Scandinavica, 50:491-499, 1979.
- 26) Poussa, M., Rubak, J. and Ritsila, V.: *Differentiation of the Osteochondrogenic Cells of the Periosteum in chondrotrophic Environment*. Acta Orthop. Scandinavica, 52:235-239, 1981.
- 27) Ritsila, V., Alhopuro, S. and Rintala, A.: *Bone Formation with Free Periosteum. An Experimental Study*. Scandinavian J. Plast. and Reconstr. Surg., 6:51-56, 1972.
- 28) Rubak, J.M.: *Reconstruction of Articular Cartilage Defects with Free Periosteal Grafts. An Experimental Study*. Acta Orthop. Scandinavica, 53:175-180, 1982.
- 29) Rubak, J.M., Poussa, M. and Ritsila, V.: *Chondrogenesis in repair of Articular Cartilage Defects by Free Periosteal Grafts in Rabbits*. Acta Orthop. Scandinavica, 53:181-186, 1982.
- 30) Rubak, J.M., Poussa, M. and Ritsila, V.: *Effects of Joint Motion on the Repair of Articular Cartilage with Free Periosteal Grafts*. Acta Orthop. Scandinavica, 53:187-191, 1982.
- 31) Salter, R.B., Minster, R.R., Clements, N., Bogoch, E. and Bell, R.S.: *Continuous Passive Motion and the Repair of Full-Thickness Articular Cartilage Defects—A One-Year Follow-up*. Orthop. Trans., 6:266-267, 1982.
- 32) Salter, R.B., Simmonds, D.F., Malcolm, B. W., Rumble, E.J., MacMichael, D. and Clements, N.D.: *The Biological Effect of Continuous Passive Motion on the Healing of Full-Thickness Defects in Articular Cartilage. An Experimental Investigation in the Rabbit*. J. Bone and Joint Surg., 62-A:1232-1251, Dec. 1980.
- 33) Seradge, H., Kutz, J.A., Kleinert, H.E., Lister, G.D. and Atasoy, E.: *Perichondrial Resurfacing Arthroplasty in the Hand*. J. Hand Surg., 9-A:880-886, Nov. 1984.
- 34) Skoog, T., Ohlsen, L. and Soh, S.A.: *Perichondrial Potential for Cartilaginous Regeneration*. Scandinavian J. Plast. and Reconstr. Surg., 6:123-125, 1972.
- 35) Tonna, E.A. and Pentel, L.: *Chondrogenic Cell Formation via Osteogenic Cell Progeny Transformation*. Lab. Invest., 27:418-426, 1972.