

## 반복적 관절내 출혈이 관절 활막과 연골 세포의 변화에 미치는 영향

유명철\* · 조윤제\* · 김강일\* · 전성욱\* · 소동혁\* · 조형준\* · 양형인<sup>†</sup> · 이상훈<sup>†</sup> · 이연아<sup>†</sup>

경희대학교 의과대학 정형외과학교실\*, 경희대학교 의과대학 류마티스내과 및 혈우병 연구센터<sup>†</sup>

### The Effect of Repeated Intraarticular Bleeding in the Synovium and Articular Cartilage: An Animal Model

Myung Chul Yoo, M.D.\*, Yoon Jae Cho, M.D.\*, Kang Il Kim, M.D.\*,  
Sung Wook Chun, M.D.\*, Dong Hyuk So, M.D.\*, Hyung Jun Cho, M.D.\*,  
Hyung-In Yang, M.D.<sup>†</sup>, Sang-Hoon Lee, M.D.<sup>†</sup>, and Yeon-Ah Lee, M.D.<sup>†</sup>

Department of Orthopedic Surgery\*, Department of Rheumatology and Hemophilia Research Center<sup>†</sup>,  
College of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

**Purpose:** We designed this study to demonstrate the pathophysiology of hemophilic arthropathy (HA) by creating an animal model for determining the effect of repeated intraarticular bleeding in the synovium and articular cartilage.

**Materials and Methods:** 20 normal male New Zealand white rabbits were used for this study. We injected 1 ml of autologous blood from the ear vein of the rabbits into the right knee joint three times a week for 18 weeks, and we injected 1 ml of normal saline into the left knee joint three times a week for 18 weeks as a control group. We examined the pathologic changes by microscopy and plain X-ray, and we determined the mRNA expression of proinflammatory cytokines in the synovium of the HA by performing real time RT-PCR at the 11<sup>th</sup> week and 18<sup>th</sup> week after starting blood-injection. We also examined the GAG and the PGE2 production in cultured chondrocytes that were extracted from the HA knees.

**Results:** At the 11<sup>th</sup> week, after blood injection there were no remarkable gross changes in the HA knees and the control knee joints. At the 18<sup>th</sup> weeks, the experimental knee joints (HA knees) showed grossly swelling and degenerative changes by X-ray. The infiltration of inflammatory cells and the synovial proliferation in the HA knee joints were compared with that in the control knee joints by microscopic examination. The expressions of the mRNA of TNF-alpha, IL-1, MMP-1 and MMP-3 in the HA synovium were increased, as determined by real time RT-PCR, as compared with that in the control knee. In the cultured chondrocytes, the GAG production was decreased and the PGE2 was increased, but the MMP-1 and MMP-3 were not changed, as determined by ELISA.

**Conclusion:** Our results showed that the GAG production of chondrocytes of the HA knees was decreased and there was increased PGE2, so that the cartilage degeneration by intra-articular bleeding was caused by the decreased metabolism of chondrocytes rather than by increased catabolism of the chondrocytes. We suggest that HA was associated with synovitis and cartilage degeneration, but decreased cartilage metabolism was the major mechanism of HA.

**Key Words:** Synovium, Hemophilia, Hemophilic arthropathy, Animal, Proinflammatory cytokine

## 서 론

혈우병은 응고인자 VIII, IX의 결핍으로 인한 유전적

질환으로서, 반복적인 출혈을 초래하는 질환이다. 근골격계가 출혈이 가장 빈번한 부위이며, 관절내 출혈은 '혈우

통신저자 : 양 형 인

서울시 강동구 상일동 149번지 동서신의학병원  
경희대학교 의과대학 류마티스내과 및 혈우병 연구센터  
TEL: 02-440-6127 · FAX: 02-440-7475  
E-mail: yhira@khu.ac.kr

Address reprint requests to

Hyung-In Yang, M.D.  
Department of Rheumatology, School of Medicine, Kyung Hee University,  
East-West Neo Medical Center, 149, Sangil-dong, Gangdong-gu,  
Seoul 134-727, Korea  
Tel: +82,2-440-6127, Fax: +82,2-440-7475  
E-mail: yhira@khu.ac.kr

병성 활막염(Haemophilic synovitis)' (HS)을 일으켜 결국 만성적이고 영구적인 관절염인 혈우병성 관절염(Haemophilic arthropathy<sup>10)</sup>)이 발생하게 된다. 반복적인 관절 내 출혈로 발생하는 혈우병성 관절염은 비교적 젊은 나이에 심한 불구를 초래하는<sup>2,5)</sup> 심각한 관절질환으로서, 응고인자 VIII, IX를 투여하여 출혈을 막으려는 많은 노력에도 불구하고 혈우병에서 가장 흔하게 발생하는 합병증으로 알려져 있다<sup>1,16)</sup>. 관절 내 출혈이 초기 유발요소는 것을 제외하고는 혈우병성 관절염의 병태생리는 자세하게 알려져 있지 않다. 혈우병성 관절염의 병태생리에 관한 현재의 의견은 반복적인 관절내 출혈이 활액막에 철분 침착을 유발하고 그로 인해 활액막의 염증과 결국 연골파괴를 일으키는 이화인자(catabolic factors)가 분비된다는 것이다<sup>15)</sup>. 이 병태생리는 류마치스 관절염과 비슷하나, 좀더 최근의 보고들에 의하면 비록 활액막 제거술이 혈우병성 관절염 환자의 임상적 상태를 호전시킬 수는 있지만, 연골손상의 진행을 막을 수는 없고<sup>9,11)</sup>, 혈액 그 자체가 생체 내(in vivo) 및 생체 외(in vitro) 조건 하에서 연골세포의 기능장애를 유발한다는 것이다<sup>3,13,14)</sup>. 저자들은 동물모델을 통해 반복적 관절강내 출혈이 관절 파괴에 미치는 영향을 분석하여 혈우병성 관절염의 병태생리를 규명하고자 한다.

## 대상 및 방법

### 1. 연구대상

국내의 Samtako사로부터 뉴질랜드 백색 토끼 수컷 20마리(2.20 Kg $\pm$ 0.07) 공급 받았으며, 이 토끼들은 실험 전 2주간 우리(cage)에서 적응과정을 거쳤다. 일반적인 상업용 사료와 물을 임의로 공급하여 사육하였다.

### 2. 방법

#### 1) 혈우병성 관절염 동물모델

케타민(ketamine hydrochloride; 유한양행)을 사용하여 토끼를 단기 마취를 시행 한 후 토끼 귀 정맥에서 자가 전혈 1 ml를 채취한 후 우측 슬관절에 1 ml를 주사하였다. 대조군으로서 좌측 슬관절에는 바늘 자체로 인한 염증 가능성을 배제하기 위해 생리식염수 1 ml를 주사하였다.

18주간 1주 3회씩 주사하였으며, 주사 시행 11주와 18주에 각각 10마리씩 토끼를 희생하여 양측 슬관절에

서 활막과 연골을 채취하고, 조직학적 변화와 proinflammatory cytokine, 연골의 대사산물을 측정하였다. 토끼를 희생한 후에 슬관절을 채취한 후 시상면으로 양측으로 절개하여 한쪽은 조직학적 검사를 시행하고 반대쪽은 활액세포와 연골세포를 검사하였다.

#### 2) 활막에 대한 검사

##### (1) 활막 세포의 채취와 배양

실험 동물의 활액 표본을 여러 조각으로 나누어 37°C에서 30분간 2 mg/ml의 collagenase (Sigma, U.S.A)와 RPMI1640 (GibcoBRL, Gaithersburg, MD)의 DNase에서 분해시켜 활액막 세포를 분리하였다. 원심분리 후에 세포들은 10% FCS 및 2 mM L-glutamin과 항생제의 혼합체(100 U/ml penicillin and 100 ug/ml streptomycin)가 첨가된 완전한 DMEM (low glucose GibcoBRL) 용액 속에 부유상태로 있게 되며, trypsin-EDTA method를 사용하여 배양하였다. 10% FBS (Fetal Bovine Serum)와 100 units/ml penicillin과 100 ug/ml streptomycin이 함유된 5 ml의 DMEM 배지에  $5 \times 10^3$ 의 활액막 세포를 부유시켜 아랫부분이 평평한 96-용기 트레이(Falcon, Becton Dickinson Labware, NJ)의 각 용기에 넣어 5% CO<sub>2</sub>가 함유된 습윤된 배양기에서 배양하였다.

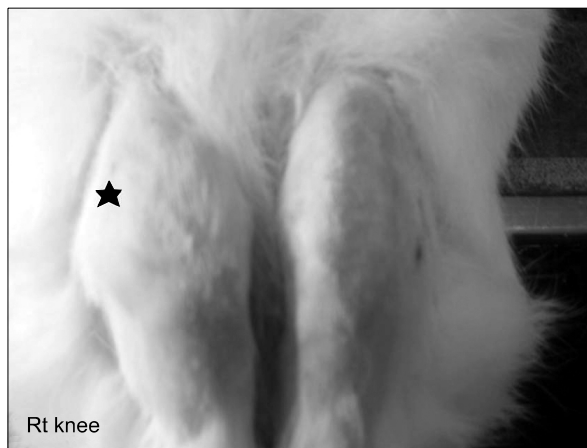
2시간의 배양 후에, 비 부착성의 세포를 제거하고 부착성의 세포를 완전한 DMEM 배지에서 배양하였다.

##### (2) Cytokine의 측정

실험 동물의 활막에서 RNA를 Trizol Reagent (Gibco-BRL)를 이용하여 추출하였다. RNA의 총량은 분광학적으로 계속하였다. 역전사 반응은 1 ug의 RNA 전부를 5 mM MgCL<sub>2</sub>, 1 mM dNTP, 0.125 uM oligo-dT, 1 unit/ul의 리보뉴클레아제 억제제와 0.25 unit/ul AMV Reverse Transcriptase XL (TaKaRa)를 함유한 20 ul의 반응량에서 배양하여 얻을 수 있었다. 반응 혼합체는 iCycler Thermal cycler (Bio-Rad, U.S.A)를 사용하여 42°C에서 60분 배양 후 99°C에서 5분간 배양되었다. cDNA 표본은 PCR 분석을 시행할 때까지 4°C에서 보관되었다. PCR 반응은 1X PCR buffer, 0.4 mM dNTPs, 10 pmole forward and reverse primers, 2.5 unit Taq Polymerase (TaKaRa)와 20 ul에 1 ul의 cDNA solu-

**Table 1.** Primers and PCR Protocol according to Each Cytokine

Cytokine	primer	PCR cycle	Fragment size
IL-1beta	5'-AACCAACAAGTGGTGTCTC-3' 5'-GACTCAAATCCAGCTTGTC-3'	Denaturation for 40 sec at 94°C Annealing for 40 sec at 62°C Primer extension for 1 min at 72°C X 35 cycle	223 bp
TNF-alpha	5'-CACCACTTAGAAACCTGGAC-3' 5'-TAGGTCTGGGTGACAACTTC-3'		216 bp
MMP-1	5'-ACCAAAACGAGAGTGCTGCT-3' 5'-AAGCTGAAGTTCGGGTGAGA-3'	Denaturation for 40 sec at 63°C Annealing for 40 sec at 61°C Primer extension for 1 min at 72°C X 35 cycle	272 bp
MMP-3	5'-GCTTTGCTCAGCCTATCCAC-3' 5'-GTGCCAGGAAGGTAAGTACTGAA-3'		282 bp

**Fig. 1.** The blood injected knee of a rabbit (right) was more swollen compared with the other knee.**Fig. 2.** The blood injected right knee shows degenerative change by X-ray

tion으로 이루어졌다. IL-1 beta, TNF-alpha, MMP-1 and MMP-3는 각각의 프로토콜에 따라 증폭되었다 (Table 1). PCR의 생성물은 ethidium bromide의 존재 하에 1.5% agarose gels에서 분석되었다. 그리고 실시간 정량적 PCR 분석을 시행하였다.

### (3) 연골세포 추출과 배양

토끼의 연골세포는 완전한 RPMI 1640 배지에서 각 용기당  $5 \times 10^4$ 개의 세포를 배양하였다. 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 72시간 배양한 후에, 상층액을 채취하여 GAGs와 PGE<sub>2</sub>의 농도를 ELISA 법으로 분석하였다.

## 결 과

### 1. 육안적 소견과 방사선학적 소견

자가 전혈을 주사한 군은 대조군에 비해서 11주에 경

도의 부종을 보였으나, 18주째는 우측 슬관절이 좌측에 비하여 부종이 뚜렷하였고(Fig. 1). 방사선학적 소견은 11주에는 뚜렷한 변화가 없었으나, 18주째는 전혈을 주사한 슬관절은 퇴행성 변화를 보였다(Fig. 2).

### 2. 조직학적 분석

실험동물의 슬관절에서 연골과 활막을 채취하였다. 전혈을 주사한 관절에서 체중부하부분은 대조군에 비해 연골이 감소 되었고, 전혈을 주사한 군에서 얻은 활막은 11주째 활막 세포 증식이 뚜렷하지 않았으나 18주째는 활막 세포 증식이 증가되었다(Fig. 3). 이는 Mankin criteria에 따라 점수를 나누어 평가하였으며, 총 14점 중에 최대 12점으로 평균 점수는 5점이었<sup>6)</sup>.

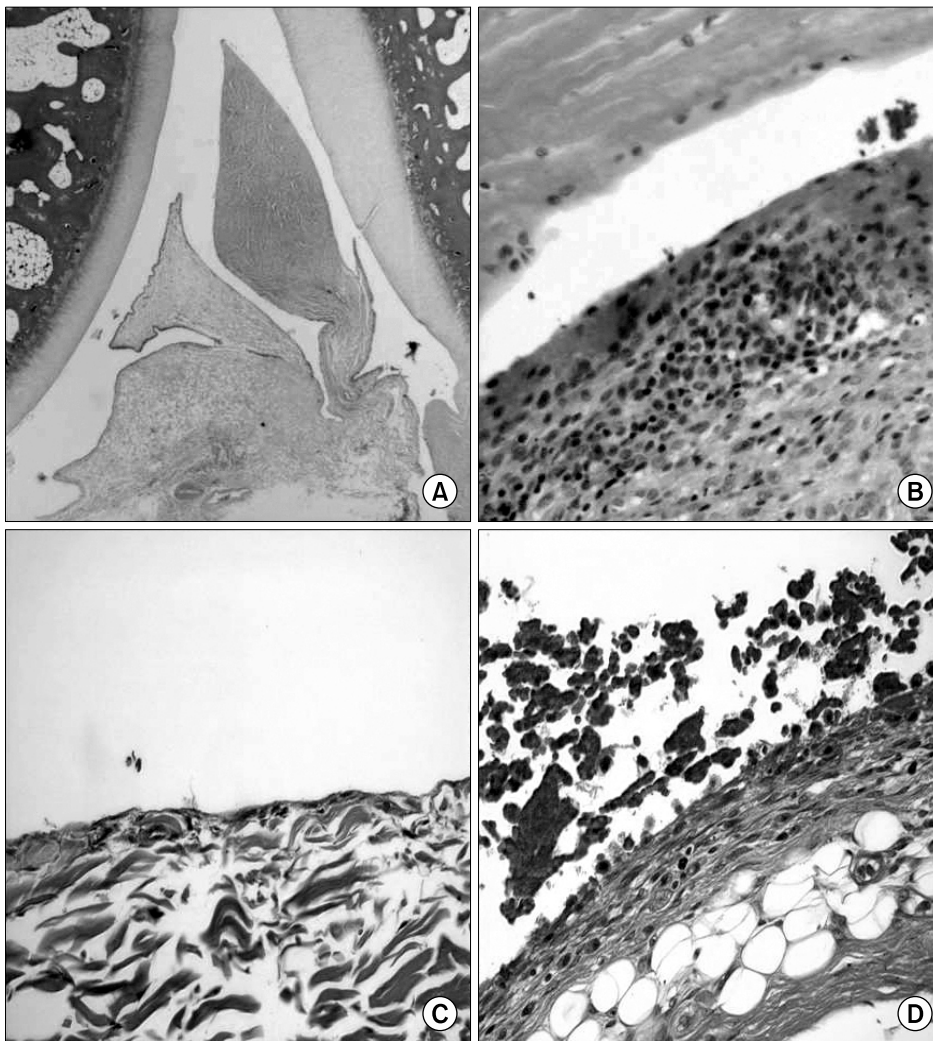


Fig. 3. The synovium of the blood injected knee shows proliferation and the fat tissue was increased under the synovium. (A) The normal saline injected knee synovium and (B) the blood injected knee synovium ( $\times 400$ , H&E stain at the 11<sup>th</sup> week after of intra articular blood injection). (C) The normal saline injected knee synovium and (D) the blood injected knee synovium ( $\times 400$ , H&E stain at the 18<sup>th</sup> week after intra articular blood injection).

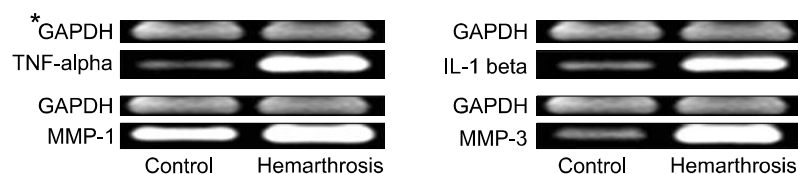


Fig. 4. The mRNA expression in the rabbit's synovium, as determined by RT-PCR, in an animal model of recurrent hemarthrosis. The control was a saline-injected knee. The mRNAs of TNF- $\alpha$ , IL-1, MMP-1 and MMP-3 were increased in the hemarthrosis animals. \*GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

### 3. 생화학적 분석

실험 동물의 활막 조직에서 TNF- $\alpha$ , IL-1, MMP-1 and MMP-3의 mRNA를 분석한 결과 TNF- $\alpha$ , IL-1, MMP-1 and MMP-3의 mRNA발현이 전혈 주사한 군에서 증가를 보였다(Fig. 4). 토끼의 연골세포에서 GAG (평균 4.23배,  $p < 0.05$ ), PGE<sub>2</sub> (평균 3.14배,  $p <$

0.05), MMP-1 (평균 3.82배,  $p < 0.05$ ), MMP-3 (평균 3.21배,  $p = 0.304$ )의 생산은 실시간 PCR 분석에서 전혈 주사군이 대조군에 비해 증가되었다(Fig. 5). 배양된 토끼의 연골세포에서 GAG, PGE<sub>2</sub>, MMP-1, MMP-3의 생산을 ELISA로 분석한 결과 전혈 주사군에서 GAG (0.47에서 0.26으로 감소)는 의미있게 감소되고 PGE<sub>2</sub>

(189에서 425로 증가)는 의미있게 증가한 반면( $p < 0.05$ ), MMP-1 (2.23에서 2.18로 감소), MMP-3 (0.79에서 0.77로 감소)는 두 군 간에 유의한 차이를 보이지 않았다( $p=0.375$ )(Fig. 6).

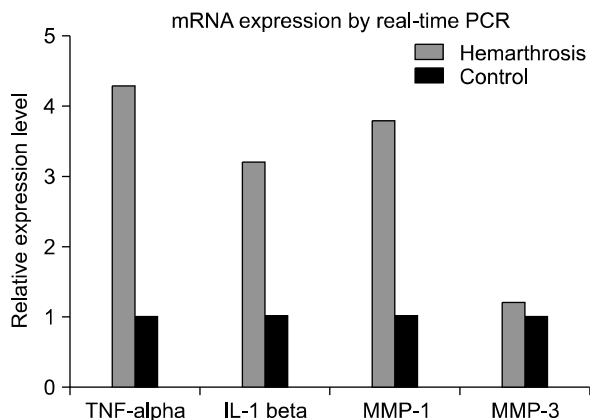


Fig. 5. The results of quantitative analysis of TNF-alpha, IL-1, MMP-1 and MMP-3 by real-time RT-PCR.

## 고찰

혈우병성 슬관절증은 혈우병의 가장 흔한 합병증이며, 활액막의 철분 침착이 특징이다.

이러한 혈액으로 인한 연골 손상의 병태생리는 부분적으로만 알려져 있으며, 반복적인 출혈이 활액막의 증식과 비후 및 신생혈관화와 활액막의 염증을 일으키며 염증세포에 의해 이화 효소와 cytokine의 생산이 초래되는 것으로<sup>7)</sup> 이해되고 있다. 그러나, 혈관절증의 정확한 기전은 아직 명확하게 규명되어 있지 않다. 1959년에 Swanton<sup>19)</sup>은 개를 이용한 혈우병의 일련의 연구에서 관절 내 출혈의 자연경과에 관해 기술한 바 있다. 관절 내 출혈 후 혈액의 흡수과정에서 활액 조직에 염증 반응이 있음을 보고하였다. 또한 이것은 조직의 부종을 초래하고, 혈관을 충혈시켜 반복적인 출혈이 일어나게 되고, 활액막은 관절내의 염증을 초래하는 효소들을 분비하여 결국 활액의 파괴를 유발한다 하였다. 1974년에 Sokoloff는 혈우병성 관절염의 2 단계를 구분하여, 관절 내 출혈에 대한 초기 활액반응과 골관절염과 유사한 퇴행성 연골 손

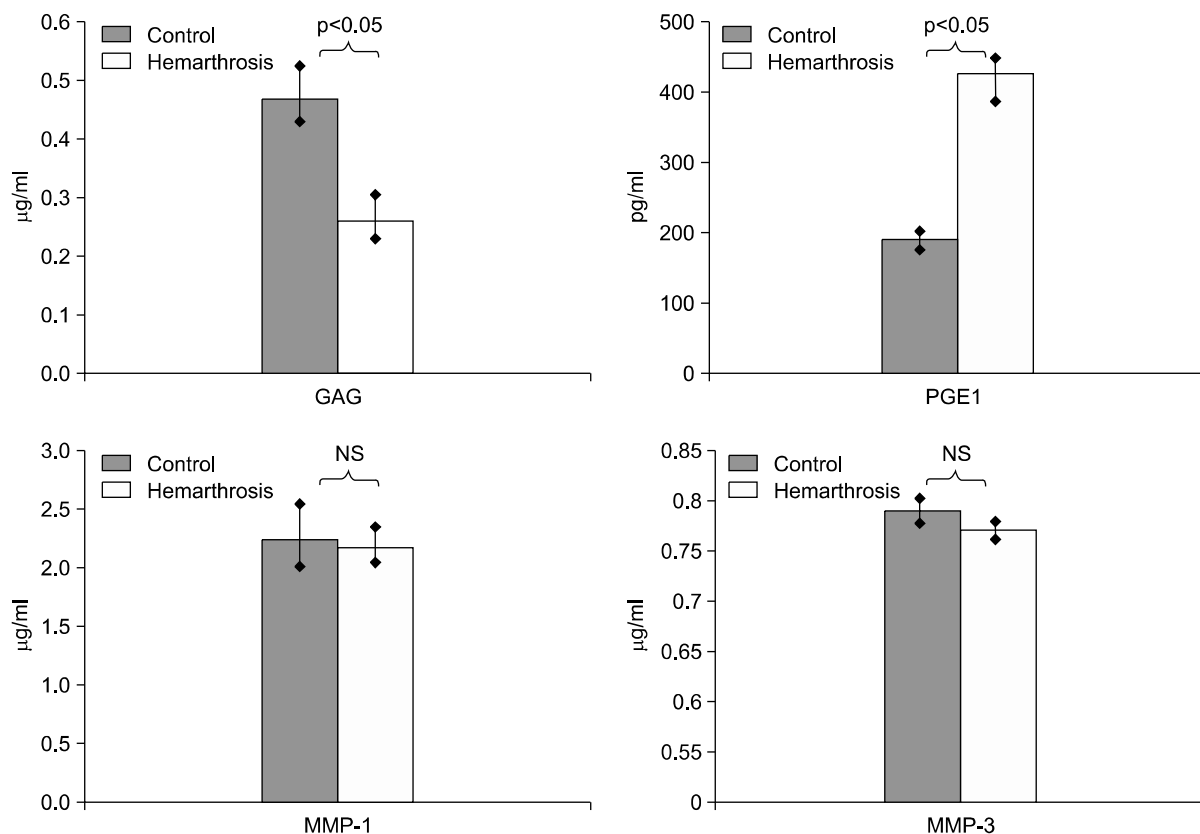


Fig. 6. The production of GAG, PGE2, MMP-1 and MMP-3 from chondrocyte culture by ELISA.

상의 후기 반응에 대해 기술하였다<sup>18)</sup>. 1994년에 Nishiya K 등은 철분 그 자체가 활액막에서 DNA 합성을 자극한다고 하였다. Roosendaal 등<sup>15)</sup>은 혈우병성 관절염 환자의 활액조직을 연구하여, 혈우병성 관절염환자의 활액세포는 정상 활액조직 배양과 비교하여 IL-1과 IL-6, TNF alpha의 생산이 매우 증가됨을 보고하였으며, 철분이 활액의 섬유아세포의 증식과 염증전구 cytokine 발현을 촉진한다고 주장하였다. 그러나, 그들은 그 다음해에 비록 초기에 관여하는 인자는 철분 침착이지만, 혈우병성 관절염은 염증성 관절질환보다는 퇴행성 관절질환과 비슷하다고 보고하였다<sup>4)</sup>.

본 논문은 활액막염과 연골의 기능저하가 혈우병성 관절염에 동시에 영향을 준다는 것을 밝히고자 하였다. 본 논문의 자료에서 반복적인 출혈은 활액막에서 TNF-alpha와 IL-1과 같은 염증전구 cytokine의 발현과 MMP-1과 MMP-3의 생산을 촉진함을 알 수 있다. PCR에서는 TNF-alpha와 MMP-1에서 모든 표지자가 증가는 하였지만 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 이러한 결과는 활액막염은 혈관질환과 관련이 적다는 것을 시사한다고 볼 수 있다. 본 연구의 결과에서 조직학적 검사는 경도의 활액막 증식을 보이며, 활액의 용모상 변화나 골의 미란은 보이지 않았다. 연골 세포 배양에서는, GAG 생산은 감소되고 PGE<sub>2</sub>의 생산은 증가되었다. 이러한 결과는 연골의 대사율이 감소되고 염증이 증가했다는 것을 시사한다. 또한, MMP-1과 MMP-3가 생리식염수를 주사한 정상 대조군의 연골 세포 배양한 것과 차이가 없었다는 것은 연골의 파괴는 연골의 이화작용이 증가해서가 아니라 연골의 대사가 감소함에 의한다는 것을 나타내고 있다. 최근에 혈우병성 관절염의 기전은 골관절염과 같은 연골의 퇴행성 변화에 초점을 두고 있으며, 체중부하는 혈우병성 관절염을 악화시키는 요소이다. Hooiveld 등<sup>3)</sup>은 손상 받은 관절에 직접 체중부하를 하는 것이 연골 기질의 교대 및 그 성상을 유지하는데, 악영향을 준다고 하였다.

실제로, 비록 활액막 제거술이 환자에서 임상증상을 호전시키지만, 진행성의 연골 파괴는 막지 못하며, 혈우병성 관절염은 골관절염에 비해 좀 더 퇴행성이며, 류마티스 관절염처럼 염증성인 것으로 기술되고 있다<sup>17)</sup>. 본 논문의 제한점으로는 체중부하를 하지 못했다는 것을 들 수 있으나, 본 논문의 자료에서 연골 기질의 교대율의 변화

가 혈우병성 관절염의 중요한 인자라는 것을 밝혔다는 점에서 의의가 있다 하겠다.

## 결론

본 논문에서 혈우병성 관절염의 연골세포는 GAG 생산이 감소되고, PGE<sub>2</sub>의 생산이 증가되었음을 알 수 있으며, 이는 관절 내 출혈로 인한 관절연골의 퇴행성 변화는 연골세포의 이화작용의 증가보다는 연골세포의 대사의 감소에 의한다는 것을 나타내고 있다. 반복적인 관절 내 출혈은 활막세포를 자극하여 활막의 심한 증식과 proinflammatory cytokines의 생성을 증가시켜 연골 세포의 재생을 억제하고 연골의 대사기능을 억제하며 퇴행성 변화를 촉진하여 점차적으로 관절염으로 이행되는 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Aledort LM, Haschmeyer RH, Pettersson H: A longitudinal study of orthopaedic outcomes for severe factor-VIII-deficient haemophiliacs. The Orthopaedic Outcome Study Group. *J Intern Med*, 236: 391-399, 1994.
2. Arnold WD, Hilgartner MW: Hemophilic arthropathy. Current concepts of pathogenesis and management. *J Bone Joint Surg Am*, 59: 287-305, 1977.
3. Hooiveld MJ, Roosendaal G, Jacobs KM, et al: Initiation of degenerative joint damage by experimental bleeding combined with loading of the joint: a possible mechanism of hemophilic arthropathy. *Arthritis Rheum*, 50: 2024-2031, 2004.
4. Madhok R, Bennett D, Sturrock RD, Forbes CD: Mechanisms of joint damage in an experimental model of hemophilic arthritis. *Arthritis Rheum*, 31: 1148-1155, 1988.
5. Madhok R, York J, Sturrock RD: Haemophilic arthritis. *Ann Rheum Dis*, 50: 588-591, 1991.
6. Mankin HJ, Dorfman H, Lippeillo L, Zarins A: Biochemical 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.
7. Nishiya K: Stimulation of human synovial cell DNA synthesis by iron. *J Rheumatol*, 21: 1802-1807, 1994.
8. Petrini P, Lindvall N, Egberg N, Blombäck M: Prophyl-

- laxis with factor concentrates in preventing haemophilic arthropathy. Am J Peiatr Hematol Oncol*, 13: 280-287, 1991.
9. **Rodriguez-Merchan EC**: Methods to treat chronic haemophilic synovitis. *Haemophilia*, 7: 1-5, 2001.
  10. **Rodriguez-Merchán EC**: Pathogenesis, early diagnosis, and prophylaxis for chronic hemophilic synovitis. *Clin Orthop Relat Res*, 343: 6-11, 1997.
  11. **Roosendaal G, Mauser-Bunschoten EP, De Kleijn P, et al**: Synovium in haemophilic arthropathy. *Haemophilia*, 4: 502-505, 1998.
  12. **Roosendaal G, van Rinsum AC, Vianen ME, van den Berg HM, Lafeber FP, Bijlsma JW**: Haemophilic arthropathy resembles degenerative rather than inflammatory joint disease. *Histopathology*, 34: 144-153, 1999.
  13. **Roosendaal G, Vianen ME, Marx JJ, van den Berg HM, Lafeber FP, Bijlsma JW**: Blood-induced joint damage: a human in vitro study. *Arthritis Rheum*, 42: 1025-1032, 1999.
  14. **Roosendaal G, Vianen ME, van den Berg HM, Lafeber FP, Bijlsma JW**: Cartilage damage as a result of hemarthrosis in a human in vitro model. *J Rheumatol*, 24: 1350-1354, 1997.
  15. **Roosendaal G, Vianen ME, Wenting MJ, et al**: Iron deposits and catabolic properties of synovial tissue from patients with haemophilia. *J Bone Joint Surg Br*, 80: 540-545, 1998.
  16. **Soreff J, Blombäck M**: Arthropathy in children with severe hemophilia A. *Acta Paediatr Scand*, 69: 667-673, 1980.
  17. **Stein H, Duthie RB**: The pathogenesis of chronic haemophilic arthropathy. *J Bone Joint Surg Br*, 63: 601-609, 1981.
  18. **Sokoloff L**: Biochemical and physiological aspects of degenerative joint diseases with special reference to haemophilic arthropathy. *Ann NY Acad Sci*, 240: 285-290, 1975.
  19. **Swanton MC**: Hemophilic arthropathy in dogs. *Lab Invest*, 8:1269-1277, 1959.

#### = 국문초록 =

**목 적**: 혈액의 관절강내 반복주사 동물 모델을 이용하여, 혈우병성 관절염에서 활막의 변화와 연골 파괴에 대한 병리 기전과 경과 과정을 연구하였다.

**대상 및 방법**: 뉴질랜드 백색 토끼 수컷 20마리에 18주간 1주 3회씩 귀에서 자가 혈액을 채취하여 우측 슬관절에 1 ml를 주사하고, 좌측 슬관절에 생리식염수 1 ml를(대조군) 주사하였다. 11주 후와 18주 후에 양측 슬관절의 X선 촬영을 시행하였고, 활액막과 연골을 채취하여 조직검사를 시행하였다. 활막 세포 배양에서 RT PCR를 이용한 cytokine의 변화를 관찰 하였고, 연골 세포를 추출 배양하여 GAG 및 PGE<sub>2</sub>, MMP-1,3 생성을 측정하였다.

**결 과**: 11주째 육안적 변화는 없었으나, 우측 슬관절의 활액막은 조직학적으로 경한 증식반응과 형질세포 및 단핵세포의 활액막내 침착을 보이며 약간의 염증 소견을 나타냈다. 단순 방사선 소견상 특이 소견은 발견되지 않았다. 18주 후에는 육안적으로 우측 슬관절이 좌측에 비하여 부어 있었고, 단순 방사선학적 소견에서는 관절의 퇴행성 변화가 관찰 되었다. 병리학적 소견은 활막의 심한 증식과 염증세포의 침윤이 관찰되었다. 활막의 real-time RT PCR 시행결과 TNF-alpha, IL-1, MMP-1 mRNA 발현이 증가되었다. 연골세포 배양에서 대조군과 비교시 GAG 생성은 감소하고 PGE<sub>2</sub>는 증가하였으며 MMP-1과 MMP-3는 변화가 없었다.

**결 론**: 반복적인 관절 내 출혈은 활막세포를 자극하여 활막의 심한 증식과, proinflammatory cytokines의 생성을 증가시키며, 이는 연골 세포의 재생을 억제하고 연골세포의 염증을 증가시켜 연골의 대사기능이 억제되면서 퇴행성 변화를 촉진하여 점차적으로 관절염으로 이행되는 것으로 사료된다.

**색인 단어**: Hemarthrosis-animal model, 관절 내 출혈, 활막염, Cytokine