

슬관절 반월상 연골판의 치유반응 —조직배양후의 형태변화—

원광대학교 의과대학 정형외과학교실

김주오 · 한홍준 · 이민종 · 이 현

= Abstract =

Reparative Response of the Injured Meniscus —An in-vitro Morphological Study—

Ju O Kim, M.D., Hong Jun Han, M.D., Min Jong Lee, M.D. and Hyun Lee, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery, WonKwang University School of Medicine

To demonstrate the intrinsic healing capacity of the meniscus following injury and to exclude the effects of possible extrinsic cell sources and circulating blood supply, an experimental study was conducted in which the menisci of the rabbit knee joint were obtained and a radial incision was made at the mid-section of each specimen extending 80 per cent of its width. The specimens were incubated in the culture media. The results showed that at six weeks the fibroblastic proliferation proceeded at the coapted ends of the injured meniscus and the defects had eventually been filled in with the cellular bridges. The result of this study had let us speculate that under certain favorable conditions the meniscus has the self-healing capacity even its avascular portion of the meniscus and the clinical attempt to repair the injury of avascular portion of the meniscus should be encouraged.

Key Words: Reparative response, Meniscus, In-vitro.

서 론

예전의 견해¹⁰⁾와 달리 슬관절 반월상 연골판이 무혈관부에서 손상되었을 경우도 치유가 가능하다는 것이 최근의 견해이나 (Heartley 등⁹⁾, Veth 등¹⁶⁾, Arnoczky 등^{2,3,4)}, Ghadially 등^{6,7)}) 정확한 치유의 과정 및 기전에 대해서는 확립되어 있지 않다. 반월상 연골판의 치유에 관한 실험을 살아있는 동물의 슬관절에서 시행하면 슬관절 반월상 연골판 자체의 변화와 함께 주위의 활액막 및 혈관, 관절액 내의 혈액성분 등의 영향을 관찰하게 된다¹³⁾. 따라서 반월상 연골판이 손상될 경우 어떠한 고유 변화를 보이는가를 알아내기 곤란하다.

저자들은 손상된 반월상 연골판을 배양액 속에서 배양할 경우 무혈관부와 같은 상태로 만들어 줄 수 있고 외부의 세포 및 혈액의 영향을 배제할 수 있어 손상된 반월상 연골판에서 일어나는 고유 변화를 잘 관찰할 수 있다고 생

각하였다. 또 이를 통하여 무혈관부에서 손상된 경우 치유가 가능한지를 알아내려 하였다.

실험재료 및 방법

평균 3100g의 웅성가토 3마리를 Urethane 용액 정맥주사로 마취한 후 무균조작으로 슬관절에서 반월상 연골판 12쪽을 채취하여 M-199 배양액에 보관하였다.

반월상 연골판의 전각부와 후각부를 제거하고 2분하여 24쪽을 만든 후 중간부분에 반월상 연골판 넓이의 80% 상당의 방사상(Radial) 절개를 하였다. 24쪽중 4쪽은 즉시 glutal aldehyde 용액에 고정하여 조직학적 검사를 실시하였고 20쪽은 3각형의 stainless강으로 된 그물망의 판에 보호한 후 배양액이 들어있는 Petri 접시에 담아 세포배양기에서 기관 배양을 시행하였다.

배양액은 M-199 용액에 ascorbic acid, glutamate, Earle's salt, 5% 자가 가토혈청, Ampicil-

lin 및 Kanamycin을 혼합하여 사용하였고 탄산 가스농도 5% 37°C로 배양하였다.

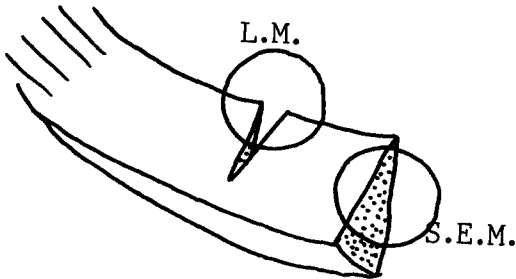


Fig. 1. The site of histologic examination: The change of the coapted ends was examined by L.M. and that of the cut surfaces was examined by S.E.M.

1주 2회 배양액을 무균조작하여 교환하였고 2주 간격으로 표본채취하여 (2, 4, 6, 8주) Ringer lactate 용액으로 가볍게 세척한후 glutal aldehyde 용액으로 고정하였다.

Hematoxylin-Eosin 및 Masson-Trichrome 염

Fig. 4. The cut-surface of lacerated meniscus after organ culture (S.E.M., 100×): Fibroblasts began to cover the cut-surface evenly. The regularity of their thickness implied that these cells were differentiated from substance. (a:0 week, b:2 week, c:4 week, d:6 week)

Fig. 2. The surface of lacerated meniscus after organ culture (Hematoxylin-Eosin, 10×): Fibroblasts began to line the coapted ends by 2 weeks, and the defects were filled with fibroblastic bridges by 6 week. (a: 0 week, b: 2 week, c: 4 week, d: 6 week)

Fig. 3. The substance of lacerated meniscus after organ culture (Hematoxylin-Eosin, 10×): The number of chondrocytes decreased by times and the degenerative change was started. (a: 0 week, b: 2 week, c: 4 week, d: 6 week)

Fig. 5. The newly formed collagen was deposited along coapted ends. (Masson-Trichrome staining)

색후 광학현미경으로 절개면의 변화를 관찰하였고 탈수건조후 주사 전자현미경으로 절단면의 변화를 관찰하였다(Fig. 1).

결 과

대조군 : 반월상 연골판은 초자양 연골로 이루어져 있으며 연골세포와 기질 내부의 많은 섬유속을 관찰할 수 있었다. 절단면은 주사현미경으로 관찰시 원주상 섬유속이 절단된 소견을 볼 수 있었다(Fig. 2, 3, 4-a).

2주 : 절개부의 배양액과 접촉부위는 변화가 없으나 깊은 부위에서는 연골 세포수의 감소를 관찰할 수 있었다. 절단면에서는 원주상 섬유속의 절단단이 섬유모세포에 의해 거의 같은 두께로 동시에 덮여지기 시작하였다(Fig. 2, 3, 4-b).

4주 : 절개면의 배양액과 접촉부위는 섬유세포에 의해 덮여지나 (lining) 깊은곳은 연골세포수의 현저한 감소를 보여 변성변화의 소견을 보였다. 주사 현미경으로 관찰시 관절면은 아무런 변화가 없으나 원주섬유의 절단단은 2주의 소견에 비하여 더욱 두껍게 섬유모세포에 의해 덮여졌다(Fig. 2, 3, 4-c).

6주 : 절개면의 포면은 섬유모세포로 생각되는 세포의 덩어리에 의해 연결되는 치유의 초기 소견을 보였으나 깊은 부위는 명백한 변성변화를 보였다. Masson-Trichrome 염색결과 섬유모세포등은 교원섬유(collagen)를 분비하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

주사 전자현미경 소견상 4주의 소견과 마찬가지로 원주상 섬유속의 절단단이 섬유세포에 의해 두껍게 덮혀 있으며 관절면의 변화는 관찰할 수 없었다(Fig. 2, 3, 4-d).

8주 : 6주와 같은 소견을 관찰할 수 있었다.

이상을 요약할 경우, 절개를 가한 가토의 슬관절 연골판의 조직배양시 나타나는 변화는 아래와 같다.

1) 절개면의 배양액에 접촉부위는 6주간의 배양시 섬유세포로 이어져 반월상 연골판이 자체적으로 치유되는 것을 보여주었다.

2) 반월상 연골판의 깊은곳에서는 시간의 경과에 따라 변성변화를 보여서 배양액의 확산만으로는 충분한 영양공급이 곤란하다는 것을 알 수 있었다.

3) 주사 현미경으로 절단면을 관찰한 결과 절단면은 2주경부터 고르게 섬유세포에 의해

덮여지는 소견을 관찰할 수 있어 치유과정에서 나타나는 세포의 기원이 반월상 연골판 기질의 분화에 의해 나타나는 것을 알 수 있었다.

고 찰

슬관절 반월상 연골판이 무혈관부에서 손상된 경우도 치유가 가능한 것은 실험 및 임상결과에 의해 보고되고 있다. Arnoczky등^{3,4)}은 섬유소 응괴를 이용할 경우 무혈관부의 손상의 치유가 촉진된다하였고^{11,12,15,19)}, Warren¹⁷⁾ 및 Rosenberg등¹⁴⁾은 이를 관절경 수술에 응용하였다. 이외에 Gershuni등⁵⁾은 활액막편을 손상부에 덮어줌으로 무혈관부의 치유가 가능하다고 하였다.

저자들이 절개를 가한 슬관절 반월상 연골판을 조직배양한 결과 6주에 배양액과의 접촉부분이 섬유세포로 이어지는 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 것은 외부에서 혈액이나 세포의 이동이 없이도 슬관절 반월상 연골판 자체에서 치유가 가능한 것을 의미한다. 또 주사 전자현미경으로 절단면의 변화를 관찰할 경우 절단단이 시간이 경과함에 따라 균일한 두께의 섬유세포로 덮이는 것을 볼 수 있어 치유과정에서 나타나는 세포의 기원이 반월상 연골판의 기질에서 분화하였다는 것을 추측할 수 있었다.

본 실험에서 관찰한 바에 의하면 반월상 연골판의 손상시 절단면은 섬유 세포로 증식되나 관절과의 접촉면은 전혀 변화가 없었다. 저자들은 손상된 반월상 연골판의 실질이 외부 자극(이 경우는 배양액)에 노출되면 실질내에 있는 세포가 섬유세포로 분화 및 증식을 시작한다는 것을 알 수 있었다.

반월상 연골판의 손상후 반월상 연골판 자체¹⁸⁾, 활액막^{9, 16,6,7,8)}, 말초혈액¹⁾등에서 기원하는 세포등이 치유과정에 나타날 수 있으며 이중 활액막의 역할이 가장 중요하다 생각되어져 왔다.

저자들은 활액막에서 기원하는 세포 이외에 반월상 연골판 자체의 분화 및 증식도 매우 중요하다 생각한다. 이는 Webber등¹⁸⁾의 실험과 같은 결과이다.

관절연골이나 반월상 연골판의 영양공급에는 기계적운동(pumping)이 중요한 역할을 한다. 본 실험에서 손상된 반월상 연골판을 배양시 배양액과 접촉이 안되는 곳은 변성변화를 가져왔다. 이와같은 사실은 우리가 슬관절 술후 치료로 흔히 실시하는 석고고정이 관절연골 및

반월상 연골판에 나쁜 영향을 줄 수 있다는 것을 암시하며 석고고정보다는 부분적 운동을 허용하는 보조기(limited motion brace)를 가능한 한 조기착용 시키는 것이 더 타당하다는 것을 의미한다

참 고 문 헌

- 1) Allgoewer, M., Hulliger, L.: *Origin of Fibroblasts from Mononuclear Blood Cells: A Study on in vitro Formation of the Collagen Precursor, Hydroxyproline, in Buffy Coat Cultures. Surgery*, 47: 603-610, 1960.
- 2) Arnoczky, S.P., Warren, R.F.: *The Microvasculature of the Meniscus and Its Response to Injury. An Experimental Study in the Dog. Am. J. Sports Med.*, 11: 131-141, 1983.
- 3) Arnoczky, S.P.: *Meniscus Healing and Repair, "Changing Concepts and Laboratory Investigations" Video Journal of Orthopaedics*, 2: 1-11, 1987.
- 4) Arnoczky, S.P., Warren, R.F., Spivak, J. M.: *Meniscal Repair Using an Exogenous Fibrin Clot. J. Bone and Joint Surg.*, 70-A: 1209-1217, 1988.
- 5) Gershuni, D.H., Skyhar, M.J., Danzig, L.A., Camp, J., Hargens, A.R., Akeson, W.H.: *Experimental Models to Promote Healing of Tears in the Avascular Segment of Canine Knee Menisci. J. Bone and Joint Surg.*, 71-A, 1363-1370, 1989.
- 6) Ghadially, F.N., Lalondade, J.M.A., Wedgt, J.H.: *Ultrastructure of Normal and Torn Menisci of the Human Knee Joint. J. Anat.*, 136: 773-791, 1983.
- 7) Ghadially, F.N., Wedge, J.H., Lalondade, J. M.A.: *Experimental Methods of Repairing Injured Menisci. J. Bone and Joint Surg.*, 68-B: 106-110, 1986.
- 8) Graabaek, P.M.: *Characteristics of Two Types of Synoviocytes in Rat Synovial Membrane. Laboratory Investigation*, 50: 690-702, 1984.
- 9) Heatley, F.W.: *The Meniscus-Can It Be Repaired? J. Bone and Joint Surg.*, 62-B: 397-402, 1980.
- 10) King, D.: *The Healing of Semilunar Cartilages. J. Bone and Joint Surg.*, 18: 333-342, 1936.
- 11) Knighton, D.R., Hunt, T.K., Thakrl, K.K., Goodson, W.H.: *Role of Platelets and Fibrin in the Healing Sequence. Annals Surg.*, 196: 379-388, 1982.
- 12) Mosesson, M.W., Amrani, D.L.: *The Structure and Biologic Activities of Plasma Fibrinectin. Blood*, 56: 145-158, 1980.
- 13) Potenza, A.D., Herte, M.C.: *The Synovial Cavity as a "Tissue Culture in situ" -Science or Nonsense? J. Hand Surg.*, 77: 1996-1999, 1982.
- 14) Rosenberg, T.D.: *Meniscus Healing and Repair, "Arthroscopic Repair: An 'Inside-Out' Method" Video Journal of Orthopaedics*, 2: 27-42, 1987.
- 15) Seppa, H.E.J., Yamada, K.M., Seppa, S.T., Silver, M.H., Kleinman, H.K., Schiffmann, E.: *The Cell Binding Fragment of Fibrinectin is Chemotactic for Fibroblast. Cell Biology Int. Reports*, 5: 813- 819, 1981.
- 16) Veth, R.P.H., Heeten, G.J., Yansen, H.W. P., Nielsen, H.K.L.: *An Experimental Study of Reconstructive Procedures in Lesions of the Meniscus. Clin. Orthop.*, 181: 250-254, 1983.
- 17) Warren, R.F.: *Meniscus Healing and Repair, "Arthroscopic Repair: An 'Outside-In' Method" Video Journal of Orthopaedics*, 2: 11-26, 1987.
- 18) Webber, R.J., Harris, M.G., Hough, A.J.: *Cell Culture of Rabbit Meniscal Fibrochondrocytes: Proliferative and Synthetic Response to Growth Factors and Ascorbate. J. Orthopaedic Res.*, 3: 36-42, 1985.
- 19) Weiss, R.E., Reddi, A.H.: *Role of Fibrinectin in Collagenous Matrix-induced Mesenchymal Cell Proliferation and Differentiation in vivo. Exp. Cell Res.*, 133: 247-254, 1981.