

## 동종 연골을 이용한 가토 측두하악관절원판 재건시 냉동 보존제의 영향에 관한 실험적 연구

원광대학교 치과대학 구강악안면외과학 교실  
김원규 · 김수남 · 민승기 · 성길현 · 권혁도

### EFFECTS OF CRYOPRESERVATIVE AGENTS ON THE REPAIR OF THE TEMPOROMANDIBULAR JOINT DISK WITH ALLOGENEIC CARTILAGE GRAFTS IN RABBITS

Won - Gyu Kim, Soo - Nam Kim, Seung - Ki Min  
Gil - Hyun Sung, Heak - Do Keon

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery School of Dentistry, Wonkwang University*

*The auricular cartilage grafts have been widely used in replacement of the temporomandibular joint disk. Cartilage grafts itself have a low metabolism and high survival rate after grafting. In processing the grafting materials, it was important to preserve the properties of chondrocyte proper. We used 15% glycerol and 10% DMSO (Dimethyl Sulfoxide) solutions for cartilage fixation before deep freezing.*

*We have performed the allogenic auricular cartilage graft in the temporomandibular joint of 20 rabbits which 10 specimen was treated with 15% glycerol and the other 10 specimen was treated with 10% DMSO respectively and examined in 1, 2, 4, 6 and 8 weeks after operation histopathologically.*

*The result were :*

- 1. Inflammatory cell infiltration around the grafted material appeared more glycerol groups than DMSO groups at 1 week, but each group has no differences after 2 weeks.*
- 2. Degenerative changes of grafted auricular chondrocytes were more developed in glycerol group than DMSO groups till 4 weeks, but there were no differences between two groups after 6 weeks.*
- 3. Fibrous union between grafted fragment and mandibular condyle was prominent in DMSO group.*
- 4. Vascular proliferation of the grafted auricular cartilage was more developed in DMSO groups than glycerol group in early stage.*
- 5. Amount of the additional growth of grafted auricular cartilage was more existed in DMSO groups than glycerol group.*
- 6. General survival rate after grafting was more prominent in DMSO group.*

*In summary, allogenic auricular cartilage grafts treated with 15% glycerol and 10% DMSO solution have supported to survivalbility as a cryopreservative agents, especially DMSO groups have little inflammatory cell infiltration in early stages and degenerative changes and additional growth are more prominent than glycerol groups.*

## I. 서 론

악관절 부위에 발생하는 퇴행성 관절질환, 류마티스 관절염, 선천성 기형악관절 강직증, 악관절 내장증 등의 여러가지 다양한 질환의 치료법으로 약물요법, 물리요법, 교합조정등의 비외과적인 보존적 치료법과 외과적인 치료법을 시행하며, 외과적 수술법으로 관절원판 절제술이 시도되었다. 과거에는 악관절 원판재건을 하지않는 관절원판 절제술이 많이 쓰였지만 합병증으로 퇴행성 관절질환과 섬유성 유착증이 나타나며 연발음이나 현저한 골성변화를 보인다고 하며 이들 단점 때문에 자가이식 또는 이종물질을 이용한 관절원판 재건을 시도하게 되었다<sup>1)</sup>. 악관절원판 절제술후에 재건을 목적으로 과거에 silastic, Proplast-Teflon 등의 이종물질이 악관절 대체물질로써 이용되었으나 이식술후 이물반응, 동통, 이차적 감염, 조직의 흡수, 이식물의 전위, 마모등의 합병증이 지적되었고 자가 이식물로 진피, 근육, 지방조직, 근막, 연골 등이 이용되었으나 이들 역시 조직의 흡수 및 연조직 유착, 이식술후 괴사등 합병증을 나타냈다<sup>2-7)</sup>.

Perko<sup>8)</sup>가 악관절원판 수복에 자가연골 이식을 처음 보고한 이래 최근에는 많은 악관절 부위의 연골 이식이 보고되었으며 Ioannides와 Maltha<sup>9)</sup>는 기네아피그를 이용한 실험에서 자가 이연골과 흉연골을 이식한 증례를 보고 하였고 Tucker<sup>10)</sup>등은 원숭이에서 자가연골 이식을 보고하였다. 또한 Witsenburg와 Freihofer<sup>11)</sup>, Ioannides와 Freihofer<sup>12)</sup>, Matukas와 Lachner<sup>13)</sup>, Hall과 Link<sup>14)</sup>등도 자가연골을 이용한 임상증례를 보고하였다.

이러한 자가연골은 이식후 쉽게 재형성이 일어나고 외부압력에 잘 견디며, 혐기상태에서 생활력이 좋고 낮은 대사상태를 유지하며 감염에 강하고 흡수가 거의 없는 장점이 있다<sup>15-19)</sup>.

그러나 이런 자가연골 대신 동종 연골을 이용한 이식술후 연골세포를 보존하려는 연골처리방법에 대해서 과거로부터 생리식염수, 방부제, 항생제를 이용하여 보관하거나 냉동건조, 방사선조사 등의 이식체 처리방법등에 관한 많은 보고가 있어 왔다. Curran과 Gibson<sup>20)</sup>은 방사성 동위원소(<sup>35</sup>S)를 이용한 실험에서 냉동된 연골세포의 생활력에 대해 보고 하였으며, Gibson<sup>21)</sup>은 15% glycerol로 처리후 냉동

보관한 연골세포의 생활력에 대해 긍정적으로 보고 하였다.

Hener<sup>22)</sup>는 trypsin으로 처리 후 다시 glycerol로 처리한 흰쥐의 경골에서 이식된 연골세포가 신선한 세포에서의 성장과 유사함을 보고하였다. 또한 Smith<sup>23)</sup>는 DMSO(Dimethyl Sulfoxide)로 처리한 냉동연골세포의 생활력에 관한 실험에서 대부분의 연골세포가 살아 있음을 보고하였으며 Chesterman과 Smith<sup>24)</sup> 등은 냉동보관한 연골세포를 해면골(cancelous bone)에 이식하였는데, DMSO 처리후 냉동시킨 연골은 성장이 일어났으나 처리하지 않고 단순냉동시킨 연골은 생활력이 떨어졌다고 보고하였다.

이에 저자는 악관절원판 재건술시 이용되는 동종 이연골의 생활력을 알아보고자 가토에서 채취한 동종 이연골을 10% DMSO와 15% Glycerol로 전 처리하여 냉동시킨후 각각의 가토 악관절에 이식하여 술후 1, 2, 4, 6, 8주에서 이식 이연골의 생활력을 관찰하여 다소의 지견을 얻었기에 보고 하고자 한다.

## I. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

본 연구에서 실험을 위해 사용된 가토(New Zealand white rabbit)는 생후 약 3개월 정도 사육된 2.5 kg정도의 웅성 가토로 2군으로 나누어서 10% DMSO와 15% glycerol로 냉동처리한 이연골을 각각의 악관절에 이식하였고 1주, 2주, 4주, 6주, 8주 각 2마리씩 총 20마리를 사용했으며 동일조건을 유지하기 위하여 일반 사판되는 고품 사료로 사육하였다.

### 2. 연구방법

#### 1) 이식체의 준비

동종이연골 이식을 위해 가토 우측 외어 후면에서 2cm정도의 절개선을 가한후 피부층과 연골막을 모두 벗어내고 1.0cm×3.0cm 크기의 이연골을 채취하여 흐르는 증류수에 세척하고 10% DMSO와 15% glycerol로 30-60분간 전 처리하여 -79℃ 냉장고에 보관하였다.

#### 2) 실험방법

웅성가토 20마리를 케타민(Ketamine HCl 1mg/

kg)을 정맥주사하여 전신마취 시킨후 먼저 통법에 따라 수술부위의 제모 및 potadine으로 소독을 하였고 수술중 지혈을 목적으로 1 : 100,000 epinephrine이 들어있는 2% LidocaineHCl을 주사하였다. 수여부인 우측 하악측두관절 부위를 절개후 연조직 박리를 통해 충분히 노출시킨후 관절원판을 절제해 내고 10% DMSO로 냉동처리한 동종연골과 15% glycerol로 냉동처리한 동종연골을 0.7cm×0.7cm 크기로 관절원판모양을 형성후 관절강내에 삽입하였고, 4-0 mersilene으로 고정하였으며 약 100ml 생리식염수로 수술부위를 세척한 후 4-0 chromic과 4-0 black silk로 각층별 봉합을 시행하였다. 모든 술식에서 감염되지 않도록 주의하였으며 감염의 예방 목적으로 penicilin G sodium 100,000 unit를 근육 주사하였다.

### 3) 현미경 관찰

각 실험군을 술후 1, 2, 4, 6, 8주에 각각 희생시켰으며 하악관절 부위를 부분절제하여 통법에 의한 10% 중성 포르말린에 조직 고정후 5% 질산용액에서 3일간 탈회시켜 파라핀 포매후 4-6 $\mu$  조직편을 만들었으며 hematoxylin-eosin 염색 및 Verhoeff-van Gieson elastic fiber stain, 점액 다당류 관찰을 위한 Alcian blue periodic acid-Schiff (AB-PAS) 염색, Masson-Trichrome(MT) 염색을 시행한 후 광학현미경을 통해 검경하였다.

## III. 연구성적

### 1) 15% glycerol 처리군

1주 : 하악과두와 측두골사이 에 위치한 관절원판 위치에 있는 이식 이연골은 치밀 섬유결합 조직에 둘러싸여 있었으며 중증도의 염증세포 침윤과 출혈성 혈병이 피개되어 있었다(사진부도 1).

1) 단핵세포에 의한 파괴가 이식연골 주위에서 이물형 거대세포 침윤과 같이 관찰되었으며 이식연골의 생활력은 유리된 채로 변연부는 작은 세포들이 밀집되었고 중심부는 원형 나선형의 큰 세포들이 위치해 있었다. Van-Gieson 염색과 PAS염색상에도 생활력이 있는 세포기질들에 균일한 염색상을 보였으며 변성은 미약하였다(사진부도 3, 5).

2주 : 1주에 비해 측두골과 관절원판 사이는 섬유성 결합에 의해 이식연골이 연결되었으며 이식연골 주위에 염증세포 침윤 및 출혈이 감소되었고 연골 변

연부에 경도의 증식층을 보여 부가성장이 관찰되었다. 이식연골의 변성은 1주보다 증가되어 연골세포의 파괴로 불규칙한 배열상을 보이고 특징적인 거대세포에 의한 흡수가 관찰되었다.

4주 : 이식연골 주위에 경도의 염증세포 침윤이 관찰되었으나 섬유화는 더 진행되었으며 연골의 괴사는 관찰할 수 없었고 연골의 변성 및 생활력은 2주와 유사하였다.

6주 : 이식연골은 치밀섬유 결합조직에 의해 둘러싸여 있었으나 많은 연골세포들의 생활력이 상실되었고 부가성장은 거의 관찰되지 않았으나 이식연골 주위에 이물반응 및 염증소견이 없었다.

8주 : 이식연골은 과두 관절면 및 측두와에 변성 및 형태학적 변화를 일으키지 않고 6주와 큰 변화없이 미약한 증식상은 관찰되었으나 괴사는 없이 최소섬유 결합조직적으로 둘러싸여져 있었다(사진부도 9,11).

### 2) 10% DMSO 처리군

1주 : 악관절강내의 이연골은 섬유조직으로 둘러싸여 있으면서 변연부에서 부분적으로 변성이 관찰되었고 과두와 이식연골 사이의 혈병이 적고 긴밀한 결합으로 이루어져 있었다. 염증세포침윤 및 출혈소견이 이식부에서 Glycerol 처리군보다 적은 중등도로 관찰되었다(사진부도 2).

2주 : 이식연골 변연부의 부가성장이 증가되어 증식성활성 즉 이핵상의 분열상이 관찰되어 이식부에 염증세포침윤 및 출혈소견이 감소되었으나 혈관증식은 증가되었다(사진부도 4, 6).

Van Gieson, PAS 염색상의 변연부나 중심부에 증식성의 핵을 가진 세포기질 주위에서 많은 염색상을 보였고 연골변성은 미약하였다.

4주 : 이식부의 염증세포침윤은 거의 관찰되지 않은 섬유성 결체조직으로 이식연골이 싸여 있으며 연골세포의 변성은 2주와 큰 차이가 없이 2주와 유사한 부가성장이 유지되어 있었다.

6주 : 이식연골과 과두사이 에 섬유조직의 증식이 4주에 비해 많이 관찰되었고 부가성장량도 많이 관찰되었으며, 하악과두와 섬유성 유착이 있었지만 연골세포 활성이 많이 감소되었다.

8주 : 이식연골은 이물반응이나 염증세포침윤이 거의 없는 섬유결합조직으로 둘러싸여 있으면서 Glycerol 처리군보다 변성 및 부가성장은 큰 차이가 없

었으며 과두 및 측두골의 골조직 변화는 관찰되지 않았다(사진부도 10,12).

상기와 같은 2군의 조직소견을 토대로 다음과 같이 연구결과에 대하여 살펴보면 Glycerol군에서 DMSO군 보다 염증반응이 초기에 많이 나타났다 (Table 1).

연골세포의 변성은 전반적으로 glycerol군에서 DMSO군 보다 많이 나타났다(Table 2).

Table 1. Inflammatory Cell Infiltration and Grafted Cartilage According to Graft Type and Duration

	Glycerol	DMSO
1	+++	++
2	+	+
4	±	±
6	±	±
8	-	-

- none ± Trace, + Slight, ++ Moderate, +++ Severe

Table 2. Degeneration of Chondrocytes According to Graft Type and Duration.

	Glycerol	DMSO
1	+	±
2	++	±
4	++	++
6	++	+
8	++	+

± Trace, + Slight, ++ Moderate, +++ Severe

Table 3. Fibrous Tissue Proliferation According to Graft Type and Duration.

	Glycerol	DMSO
1	+	++
2	+	++
4	+	++
6	++	++
8	+++	+++

± Trace, + Slight, ++ Moderate, +++ Severe

섬유조직의 증식은 DMSO군에서 초기에 약간 많이 나타났으나 후기에는 별다른 차이가 없었다(Table 3).

모세혈관의 증식은 이식초기에 glycerol과 DMSO군 모두에서 유사하게 관찰되었다(Table 4).

연골에 부가성장을 전반적으로 DMSO군에서 glycerol군에서 보다 많이 나타났다(Table 5)m

연골세포의 생활력은 이식초기에 glycerol군과 DMSO군 모두에서 높게 나타났으나 후기에는 전반적으로 DMSO군에서 높게 유지되었다(Table 6).

Table 4. Capillary Proliferation in Grafted Sites According to Graft Type and Duration.

	Glycerol	DMSO
1	+	++
2	++	+++
4	++	++
6	+	+
8	±	±

± Trace, + Slight, ++ Moderate, +++ Severe

Table 5. Appositional Growth of Chondrocytes According to Graft Type and Duration.

	Glycerol	DMSO
1	±	±
2	+	++
4	+	++
6	++	+++
8	+++	+++

± Trace, + Slight, ++ Moderate, +++ Severe

Table 6. Viability of Chondrocytes According to Graft Type and Duration.

	Glycerol	DMSO
1	+++	+++
2	++	+++
4	++	++
6	+	++
8	+	++

± Trace, + Slight, ++ Moderate, +++ Severe

#### IV. 총괄 및 고찰

자가이식물에 의한 관절원판 수복은 Georgiade<sup>25)</sup> (1962)가 관절원판의 수복재료로 자가 진피이식을 시행한 후 Zetz와 Irby<sup>26)</sup>(1984), Tucker<sup>27)</sup>(1986) 등에 의한 보고가 있었으며, 하악관절원판 절제술후 관절원판 재건을 목적으로 동종, 자가 및 이종재료 등을 이용한 dermis, Cartilage, lyophilized dura, fascia lata, silastic, Proplast-Teflon 등 많은 보고가 있었다.

Hansen과 Deshazo<sup>3)</sup>(1969), Howe<sup>4)</sup>(1975) 등은 Silicone rubber를 이용한 수복증례를 보고하였고, Kiersch<sup>28)</sup>(1984)는 Proplast-Teflon을 이용한 증례를 보고하였으나 Timmis<sup>29)</sup>등, 김과 Dolwick<sup>30)</sup> 등은 Silastic과 Proplast 사용한 환자들의 술후 합병증으로 제거해야 했던 증례들을 보고하였으며 이들 이종이식 재료는 이물반응, 이식물의 마모, 이식물의 전위등의 문제점을 지적하였고 Valentine<sup>31)</sup>등과 Bronstein<sup>32)</sup>은 Pro-plast의 골흡수상과 이물반응등에 관해 보고하였다. Timmel과 Grundschober<sup>33)</sup>(1982)는 악관절 강직증 치료시 냉동경막(Lyo-Dura)을 삽입한 증례를 보고하였으며 Narang과 Dixon<sup>6)</sup>(1975)는 악관절 강직증 수술후 자가 대퇴근막을 이용한 증례를 보고하였으나 이러한 자가 조직물들은 공여부에 부가적인 수술이 필요하고 유리 이식의 형태로 이용되므로 장기간 경과에 따라 이식물의 변성이나 안정성의 결여가 문제점으로 지적되었다.

Perko<sup>8)</sup>가 악관절원판 수복에 자가 이연골의 이식을 처음 보고한 이래 Witsenburg와 Freihofer<sup>11)</sup>, Ioanides와 Freihofer<sup>12)</sup> 등의 악관절 부위의 연골이식에 관한 보고가 있었으며 이<sup>54)</sup>는 21명의 환자에서 32 악관절을 대상으로 자가 이연골을 이식받은 증례에서의 예후에 대하여 보고를 하였고 Tucker<sup>10)</sup>와 Ioanides와 Maltha<sup>9)</sup> 등의 원숭이와 guinea pig를 이용한 자가이연골 및 흉연골의 연골이식에 관한 실험적 보고가 있었다. 이식후 연골의 특징에 대하여 Longmire<sup>34)</sup>(1954) 등은 모든 종류의 자가연골이 동종연골에 비해서 감염에 저항력이 좋고 염증반응 및 흡수가 적으며 물리적으로 성질이 변하지 않는다고 하였다. 연골이식편은 생물학적으로 불활성이며 생활력을 유지하고, 연골의 낮은 대사상태와 높은 협기성대사는 이식초기의 저산소증 상태를 견딜 수

있게 하며 연골이식편의 낮은 영양분의 요구로 인하여 거의 흡수가 없다<sup>16, 17)</sup>. 자가이연골의 내명은 부드러워서 과두의 미끄러운 운동을 가능하게 하고, 외부의 압력에 저항하며, 어느정도의 두께를 가지고 있어 부분적인 과두의 손실을 보상할 수 있고, 이 연골이식편은 동일 수술부위에서 최소한의 합병증으로 얻을수 있으며, 관절외에 정확한 모양으로 변형시킬 수 있고 이식술후 과두의 퇴행성 변화를 어느정도 감소시킬 수 있다<sup>11-13, 35-40)</sup>.

또한 자가이연골 이식은 비성형술, 외이재건술, 이소골재건술, 유두재건술, 인후재건술, 아와하매식술, 악관절원판재건술 등 성형외과수술에 다양하게 이용되며 Konig<sup>41)</sup>(1896)는 처음으로 사람에서 손상된 기관지에서 연골이식에 성공적으로 이용하였다.

연골의 손상후 생활력 및 재생에 관한 보고는 18세기경부터 있었으며 Hunter<sup>42)</sup>, Dorner<sup>43)</sup>, Meckel과 Pauli<sup>44)</sup>, Leidy<sup>45)</sup> 등은 손상된 연골은 재생이나 유합은 되지 않는다고 하였다. 그후 Bert<sup>46)</sup>(1865)가 연골이식후 생활력을 보고한 이래 많은 연구보고가 있었으며 Ollier<sup>47)</sup>(1867), Fisher<sup>48)</sup>(1882) 등은 이식연골의 생활력에 연골막의 중요성을 강조하였으나 Prudden<sup>49)</sup>(1887)은 연골막 없이도 이식연골의 생활력이 유지된다고 하였다.

연골의 치유과정에 관해서 Loeb<sup>50)</sup>(1926)는 자가 연골이식 및 동종연골 이식후 연골막의 일부가 새로운 연골이 형성됨을 보고 하였으며 Key<sup>51)</sup>(1931)는 손상부위에서 유리연골을 섬유조직의 분열증식에 의해 연골로 재형성됨을 보고하였고, Shands<sup>52)</sup>는 손상부위에 fibrin이 먼저 침착되고 육아조직과 결합조직이 차례로 나타나며 섬유연골이 형성되어 새로운 유리연골로 변한다고 하였다.

또한, Peer<sup>53)</sup>(1944)는 연골성장은 연골막의 내면으로부터 기인된 연골세포가 유리면에 외적인 침착에 의해 부가성장(appositional growth) 한다고 하였으며 간질성장은 황화 콘드로이틴(chondroitin sulfate), 교원질 및 탄성섬유소를 구성하는 세포간 기질의 증식과 연골세포의 분화 및 비대에 의한다고 하였다. Gibson<sup>55)</sup>(1955)은 연골의 치유는 연골세포의 증식, 연골막으로부터 혈관결체 조직의 증식, 혈관결체조직의 안으로의 성장의 세단계로 설명하였다.

동종 연골을 보존하기 위한 방법으로 생리식염수나 방부제 또는 항생제 용액에 넣어서 단순히 저온보관 (simple cold storage) 하거나 냉동건조 시키거나 방사선 조사법 등의 여러가지 방법이 시도되었다. Gibson<sup>56)</sup>과 Muhlbauer<sup>57)</sup> 등이 보고한 Merthiolate 저장하는 방법은 수년전에 많이 쓰였던 방법으로 흡수가 비교적 경미했으나 이식체의 석회화가 일어났다. Cialit(sodium 2 ethylmercurimercapto)-benzoxazol-5-carboxylate)는 예전에 유럽에서 많이 사용되었으며 McGlynn과 Sharpe<sup>58)</sup>(1981)는 용비술에 cialit에 보관한 동종 연골을 이식해서 좋은 결과를 얻었다고 보고하였고 이식체의 석회화가 있었으며 낮은 흡수를 보였다고 하였다.

Curran과 Gibson<sup>20)</sup>(1956)은 냉동 연골세포의 생활력에 대하여 방사성 동위 원소(<sup>35</sup>S)의 흡수를 이용한 실험에서 4°C로 보관한 연골은 40일간 생활력이 유지되었으며 Gibson<sup>21)</sup>(1957)은 glycerol로 처리한 연골을 -15°C까지 서서히 냉동시킨후 세포의 생활력을 보존하지 못했으며 이는 세포주위의 기질에서 glycerol이 세포내로 침투해 들어가는 것을 방해했기 때문이라고 하였다. Heyner<sup>22)</sup>(1960)는 병아리, 생쥐, 흰쥐의 배(胚)상태의 연골 냉동실험에서 병아리의 경골을 glycerol(20%, 30%, 40%)로 처리후 -79°C까지 천천히 냉동시켰을때 신선한 상태의 연골과 비슷하게 조직배양이 되었고, 생쥐나 흰쥐의 경우는 성장이 잘되지 않았으며, 기질을 제거하기 위해 trypsin으로 전 처리하고 glycerol 처리후, 냉동시킨 흰쥐의 경우 신선한 연골과 비슷한 성장을 보였다고 보고했다. 본 실험에서 사용한 15% Glycerol 농도는 연골 고정에 적당한 농도로 알려져 있고 이식후 생활력을 보았을때 신선한 연골과 비슷한 연골 성장을 보였다.

Smith<sup>23)</sup>(1965)는 연골세포를 보존하기 위한 실험적 연구에서, collagenase와 papain으로 연골세포를 분리해낸 후 DMSO로 처리하였고 -20°C까지는 1°C/min으로 -20°C에서 -79°C까지는 4°C/min로 냉각시킨 후 1주일간 냉동해서 해동시킨후 현미경으로 관찰하였는데 정상적인 세포모양을 나타냈으며 37°C에서 8~24시간동안 위상차 현미경(phase-contrast microscope)에서 활발한 활동을 보였다고 보고하였다. Lowe와 Smith<sup>59)</sup>(1975)는 저농도(0.01mg/ml)와 0.025mg/ml)의 collagenase로 분리한 성장판연골

(growth plate chondrocyte) 세포를 DMSO 처리후 -79°C에서 냉동보관하였을때 이식후 생활력을 보고하였고, -196°C까지 냉각시킨 후 2년간 생활력을 유지할 수 있었다고 보고하였으나 높은 농도(0.05mg/ml)와 2.5mg/ml)의 collagenase로 분리해 낸 연골 세포에서는 냉동시 세포가 살아있지 않았다고 하였다.

Chesterman<sup>24)</sup>(1968) 등은 토끼의 관절연골로부터 분리한 연골세포를 신선 연골세포, 10% DMSO로 처리한 연골세포, 단순냉동 연골세포, 10% DMSO로 처리후 냉동시킨 연골세포 등으로 나누어서 실험한 결과 신선 연골세포와 10% DMSO로 처리한 연골세포, 10% DMSO 처리후 -79°C까지 냉동시킨 연골세포는 Euchrynsine 3R에 정상염색되어 형광현미경에서 모두 정상(green fluorescence)으로 보였으나 10% DMSO로 처리하지 않고 냉동시킨 연골은 붉은 색으로 변하여 비정상적이었다.

Bentley<sup>60)</sup>(1978) 등은 관절연골면의 결손부에 성장판에서 분리해낸 연골세포를 이식하여 8주후에 부분적으로 분리된 세포는 결손부위의 47%를 유리연골로 채웠으나 완전히 분리된 연골세포는 불과 20%만을 채웠다고 했으며 DMSO로 처리후 부분적으로 분리해서 냉동시킨 연골세포는 유리연골의 성장이 있었으나 33%만을 채웠다고 보고하였다.

Schachar<sup>61)</sup>(1977) 등은 3H-cytidine 흡수를 이용한 생활력 실험에서 사람의 연골이 동물의 연골보다 냉동에 저항력이 강하며 5%~10%의 DMSO가 가장 적절한 냉동보호(Cryoprotection) 역할을 할 수 있는 농도라고 하였다.

Brighton<sup>62)</sup>(1979) 등과 Black<sup>63)</sup> 등은 조직 배양 기술을 연골보관에 응용시키는 방법에서 <sup>35</sup>S의 흡수를 이용한 실험에서 얇게 자른 관절연골(articular cartilage slice)을 10% DMSO에서 배양후 -180°C까지 냉동시켰을때 생활력이 없었으나 37°C의 조직 배양 배지에서 보관한 경우에는 60일간 생존했다고 하였으며 관절연골의 보관문제는 조직 배양 기술로 해결하는 것이 좋다고 하였다.

냉동보존제는 또한 정상적인 세포에 독성을 미치는 것으로 알려졌으며 DMSO는 세포내 효소가 세포막 수준에서 세포독성이 있었고 높은 농도에서 glycerol은 세포내 전위(intracellular electrical potential)에 치명적인 영향을 준다고 하며 세포의 종류에 따라

냉동보존제의 농도와 노출시간, 온도등에서 다르게 영향이 나타난다고 하였다<sup>64,65</sup>.

Tomford<sup>66</sup>(1981) 등은 DMSO와 glycerol의 독성에 관한 연구에서 세포를 12% 이하의 DMSO 농도에서 90분이하로, 온도를 4°C로 유지할때 독성이 가장 적다고 하였으며 glycerol은 그 이상의 농도에서 독성이 있으나 노출시간이 더 짧아야 독성이 적다고 하였다. Tomford<sup>67</sup> 등에 의하면 glycerol과 DMSO의 최대 농도는 약 12%이며 최대 노출시간은 60~90분이 좋다고 하였으며 냉동보존제의 온도를 4°C를 유지하면 독성은 감소하고 냉동보존제의 냉각이 세포내로의 흡수를 억제하므로 온도에 따라 영향이 다르다고 하였다. 본 연구에서는 10% DMSO와 15% glycerol 냉동보존제로 사용하였고 30~60분간 전 처리후 냉동시켰다.

Schachar<sup>68</sup>(1982) 등은 또한 연골의 삼투압적 특성에 대해서 냉동시에 조직으로부터 물이 빠져나가는 속도를 조절하는 요소로서 세포의 기질의 중요성에 대해 보고하면서 세포막에서 얼음이 형성되는 것과 동시에 용질이 세포막에서 농축되어 세포내의 수분과 삼투압 평형을 유지하려 하며 이렇게 되면 세포내의 수분이 세포막으로 빠져나오게 되고 세포내에는 비정상적인 높은 농도의 용질이 남아있게 되어 세포의 급격한 수축이 일어나 세포막에 손상을 주게 된다고 하였다. 따라서 냉각속도를 세포내에 얼음이 최소로 생기고 세포의 수축이 일어나지 않도록 세포내외의 가장 적절한 수분의 평형이 이루어지도록 조절해야 한다.

냉동보존제에 의한 세포보호 기전은 완전히 밝혀지지 않으나 Meryman<sup>69</sup> 등은 세포내로 침투한 냉동보존제가 결합하는 성질 때문에 보호효과가 나타난다고 하였으며 어느 과정에서 DMSO가 세포내의 용질의 농도를 증가시키는 효과를 발휘하여 세포내 수분을 유지한다고 하였고 또한 세포내의 액체의 점성이 증가되어 수분이 세포 밖으로 빠져나가는 속도를 느리게 하여 급격한 세포의 수축을 방지할 수 있다고 하였다.

세포의 생활력을 최대로 하기 위해서는 2단계냉각법(two-stage cooling technique)을 이용하며 처음 -40°C까지는 비교적 느린속도로 냉각시켜 세포의 온도 평형을 전반적으로 균일하게 유지하고 -40°C에서 -80°C까지는 빠른속도로 냉각시켜 세포에 대한 냉동손상

(freezing injury)을 최소화하는 것이 좋다<sup>70</sup>. 본 연구에서는 동종 연골의 적출시 흐르는 증류수에 세척하고 즉시 15% Glycerol 및 10% DMSO 용액에 전 처리하여 -790C 냉동실에 보관하여 사용하였으며 2단계 냉동법을 거치지 않았다. Tomford<sup>71</sup> 등의 DMSO와 glycerol 등의 냉동보존제의 세포 영향에 대한 연구에 의하면 세포의 생활력은 전반적으로 DMSO가 glycerol 보다 우수한 것으로 보고 하였으며 본 연구에서도 DMSO가 glycerol에 비해 좋은 결과를 보였다. 이는 Tomford의 연구와도 일치된다고 사료된다.

이식된 이연골의 생활력을 보기위한 염색법으로는 Hematoxylin-Eosin법, 탄력섬유조직을 보기위한 Verhoeff-van Gieson법, mucopolysaccharide의 이동량을 보기위한 Alcian blue periodic acid-Schiff (AB-PAS)법, Masson Trichrome(MT)법 등이 있으며 냉동연골을 해동시킨후 생활력을 알아보기 위해서는 trypan-blue dye-exclusion법이 있는데 세포막이 정상이면 염색되지 않으나 세포막이 손상되거나 죽은 세포의 경우 염색이 된다. 본 연구에서도 H&E 염색법, van-Gieson 염색법, MT염색법, AB-PAS 염색법 등을 시행하였으나 AB-PAS 염색에서 주위 변성 반응이 미약하게 나타나 구별이 어려웠고 MT 염색에서 연골세포의 활성도가 뚜렷이 나타나 생활력을 관찰하는데 도움이 되었다. 본 연구에서 염증 세포 침윤 및 이물형 거대세포의 출현은 이식술 및 이물반응으로 여겨지는데 염증세포침윤이 증가인 4주까지 Glycerol군이 DMSO군보다 많이 나타나고 6주이후에는 차이가 없었는데 이는 동종골 이식 때문에 염증 및 이물반응이 나타났지만 6주이후에는 염증반응이 사라진 것은 연골이식 자체가 약한 항원으로써 냉동보존제의 냉각이 독성 감소를 일으킨다고 사료되지만 초기에 Glycerol군이 더 많은 이물 반응을 보이는 것은 DMSO군보다 항원항체반응을 더 발생시키며 보다 많은 세포독성이 있기 때문으로 사료된다. 연골세포의 변성은 연골세포 수의 감소, 불규칙한 배열의 연골소장 등으로 나타나는데 전반적으로 Glycerol군 보다 DMSO군에서 많이 나타났으나 이식기간이 길어짐에 따라 8주에는 차이가 없었고 이는 호흡률과 혐기성 작용이 Glycerol군이 더 낮고 동종이식 연골자체의 이물반응과 동반되어 나타났다으리라고 사료되며 이식연골주위의 섬유조직의

증식과 모세혈관의 증식이 DMSO군에서 전반적으로 많이 나타났으며 이러한 소견은 연골이식후 연골성 결합이 아닌 섬유성 결합에 의해 수혜부와 이식체 간의 결합이 이루어지며 혈류공급이 DMSO군이 더 잘 이루어진다고 하겠다. 본 연구의 동종이식 실험군 모두 이식체의 생활력의 유지를 보였는데 이식연골의 생활력은 이식초기인 1주에는 모두 높게 유지되다가 2, 4, 6주에는 DMSO군이 Glycerol군 보다 높게 유지되었고 이는 혈액공급이 풍부한 곳에서 연골의 생활력이 유지되기 쉬워 모세혈관 증식(Table 4)과 일치되어 있었다. 또한 본 연구에서는 이식연골 자체의 길이성장 및 길이 수축은 나타나지 않았고 과두 관찰면 및 측두골에 변성이 일어나지 않아 이식연골 자체가 악관절원판 절제술후 우수한 대치물임을 알수 있었고 이식연골 자체의 부가성장은 실험군 모두 관찰되었으나 부가성장이 이식중기인 4주까지 DMSO군에서 많이 관찰되었고 이후는 이식연골의 활성이 사라져 부가성장이 감소된 소견과 일치되었다. 따라서 DMSO 보존군이 Glycerol 보존군보다 냉동보존재로 우수하다고 여겨지며 연골을 보존하려는 노력이 아직 실험중이므로 향후 연골의 생활력을 유지하려는 방법에 대한 새로운 연구가 더욱 진행되어야 한다고 사료되며 실제 임상에서의 적용에 대해서는 더 많은 연구가 요망된다.

## V. 결 론

악관절원판 재건술시 이용되는 이연골의 생활력에 미치는 냉동보존제의 영향을 알아보고자 가토에서 채취한 동종이연골을 10% DMSO와 15% Glycerol로 전 처리하여 냉동시킨후 각각의 악관절에 이식하여 1, 2, 4, 6, 8주후의 조직 소견을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 이식연골 주위의 염증세포 침윤은 이식후 4주까지 Glycerol 군이 DMSO군보다 많았으나 이후에는 차이가 없었다.
2. 이식연골세포의 변성은 4주까지 Glycerol군이 DMSO군보다 많았다.
3. 이식연골과 하악과두의 섬유성 유합은 이식초기인 1주에 DMSO군에서 Glycerol군보다 먼저 관찰되기 시작하였다.
4. 이식연골주위의 혈관증식은 4주까지 DMSO처리군이 많았다.
5. 이식연골의 부가성량은 전반적으로 DMSO군이 Glycerol군보다 많이 관찰되었다.
6. 이식연골의 생활력은 초기에는 차이가 없었으나 중기에는 DMSO군이 더 높게 유지되었고 말기에는 차이가 없었다.

이상과 같은 소견으로 보아 15% Glycerol과 10% DMSO 용액은 동종 연골 이식시 냉동보존재로써 연골 생활력을 유지할 수 있었고 특히 10% DMSO 용액에서 초기염증반응 및 이물반응, 변성작용이 적게 일어나서 우수한 냉동보존재로서의 사용가능함을 나타내었다.

## REFERENCES

1. Swartz L : Disorders of the Temporomandibular Joint. Philadelphia, PA, Saunders, 1959.
2. Morgan DH(ed) : Diseases of the Temporomandibular Apparatus : A Multidisciplinary Approach. St Louis/Toronto, Mosby, 1982.
3. Hansen WC, Deshazo BW : Silastic reconstruction of temporomandibular joint meniscus. Plastic Reconstr surg 4 : 43, 1969.
4. Howe DJ : Preformed silastic temporomandibular joint implant. J Oral Surg 37 : 59, 1979.
5. Georgiade NG : The surgical correction of the temporomandibular joint dysfunction by means of autogenous dermal graft. Plast Reconst Surg 30 : 68, 1962.
6. Narang R, Dixon RA : Temporomandibular joint arthroplasty with fascia lata. Oral Surg 39 : 47, 1975.
7. Rudelt HG : Symptomatik und Behandlungsergebnisse bei Diskusluxationen des Kiefergelenkers, Schweiz, Msch, Zahnbeilk, 91 : 566, 1981.
8. Perko M : Indikationen und Kontraindikationen für chirurgische Eingriffe am Kiefergelenk. Schweiz Msch Zahnheilk 83 : 73, 1973.
9. Ioannides C, Maltha JC : Replacement of the interarticular disc of the craniomandibular joint with fresh autogenous sternal or auricular cartilage. An experimental study in guinea pig. J



- Cranio-maxillofac Surg 16 : 343, 1988.
10. Tucker MR, Kennady MC, Jacoway MC, Jacoway JR : Autogenous auricular cartilage implantation following discectomy in the primate temporomandibular joint. J Oral Maxillofac Surg 48 : 38, 1990.
  11. Ioannides C, Freihofer HPM : Replacement of the damaged interarticular disc of the temporomandibular joint. J Cranio-maxillofac Surg 16 : 273, 1988.
  12. Matukas VJ, Lachner J : The use of autogenous auricular cartilage for temporomandibular joint disc replacement. : A preliminary report. J oral Maxillofac Surg 48 : 348, 1990.
  13. Hall HD, Link JJ : Discectomy alone and with ear cartilage interposition graft in joint reconstruction. Oral Maxillofac Surg Clinics of North America 1(2) : 329, 1989.
  14. Köle A : Erfahrungen mit der Verwendung von Homogenem Konserviertem Knorpel in der Kiefer und Gesichtschirurgie. Arch Klin Chir 299 : 737, 1959. Junqueira IC, J Carneiro, A Coutopoulos : Basic histology. 2nd Ed Lange Los Altos Calif, 1977.
  15. Laskin DM, Sarnat BG : Respiration and anaerobic glycolysis of transplanted cartilage. Proc Exp Biol Med 79 : 474, 1952.
  16. Laskin DM, Sarnat BG : The metabolism of fresh transplanted and preserved cartilage. Surg Gynecol Obstet 96 : 493, 1953.
  17. Wirth F : Die Verwendung von Knorpel (autogen und homogen) in der Gesichtschirurgie. Arch Klin Chir 292 : 836, 1959.
  18. Krüger E : Die Knorpeltransplantation Experimentelle Grundlagen und Klinische Anwendung in der Kiefer- und Gesichtschirurgie. Hanser München, 1964.
  19. Curran RC, Gibson T : The uptake of labelled sulphate by human cartilage cells and its use as a test for viability. Proc Roy Soc London B 144 : 572-576, 1956.
  20. Gibson T : Viability of cartilage after freezing. Proc R Soc Br 147 : 528, 1957.
  21. Heyner S : The survival of embryonic mammalian cartilage after freezing to -79°C. J Exp Zool 144 : 165, 1960.
  22. Smith AU : Survival of frozen chondrocytes isolated from cartilage of adult mammals. Nature 205 : 782, 1965.
  23. Chesterman PJ, Smith AU : Homotransplantation of articular cartilage and isolated chondrocytes : An experimental study in rabbits. J Bone Joint Surg 50B : 18, 1968.
  24. Georgiade NG : The surgical correction of the temporomandibular joint dysfunction by means of autogenous dermal grafts. Plast Reconstr Surg 30 : 68, 1962.
  25. Zetz MR, Irby WB : Repair of the adult temporomandibular joint meniscus with autogenous dermal graft. J Oral Maxillofac Surg 42 : 167, 1984.
  26. Tucker MR, Jacoway JR, White RP : Autogenous dermal grafts for repair of temporomandibular joint disc perforations. J Oral Maxillofac Surg 4 : 781, 1986.
  27. Kiersch TA : The use of proplast-teflon implants for meniscectomy and disc repair in the TMJ, 1984. Clinical Congress on Temporomandibular Joint Surgical Update, 1984.
  28. Timmis DP, Aragon SB, Aufdermorte TB : Comparative study of alloplastic materials for temporomandibular joint disc replacement in rabbits. J Oral Maxillofac Surg 44 : 541, 1986.
  29. 김명래, Dolwick DM : 측두하악관절의 인공원판 대체물과 관절치환보철의 예후. 대한구강악안면 외과학회지 17권 2호, 44-49, 1991.
  30. Valentine JD, Reiman BEF, Beuttenmuller RNEA, Donovan MG : Light and electron microscopic evaluation of proplast II TMJ disc implants. J Oral Maxillofac Surg 47 : 689, 1989.
  31. Bronstein SL : Retained alloplastic temporomandibular joint disk implants : A retrospective study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 62 : 2, 1986.

32. Timel R, Grundschober F : The interposition of lyodura in operations for ankylosis of temporomandibular joint : An experimental study using pigs. *J Maxillofac Surg* 10 : 193, 1982.
33. Longmire WP, Cannon J, Werer R : "General Surgical problems of tissue transplatation. Preservation and transplatation of normal tissue" P. 23 JA Churchill Ltd 1954.
34. Brent B : The versatile cartilage autograft : Current trends in clinical transplatation. *Clin Plast Surg* 6 : 163, 1979.
35. Gorney M, Murphy S, Falces E : Spliced autogenous conchal cartilage in secondary ear reconstruction. *J Plast Reconstr Surg* 47 : 432, 1971.
36. Don A, Linthicum FH Jr : The fate of cartilage grafts for ossicular reconstruction in secondary ear reconstruction. *J Plast Reconstr Surg* 47 : 432, 1971.
37. Gorney M, Murphy S, Falces e : Spliced autogenous conchal cartilage in secondary ear reconstruction. *J Plast Reconstr Surg* 47 : 432, 1971.
38. Don A, Linthicum FH Jr : The fate of cartilage grafts for ossicular reconstruction in tympanoplasty. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 84 : 187, 1975.
39. Meyer R : New concepts in Laryngealtracheal reconstruction. *Trans Am Acad Ophthamol Otolaryngol* 76 : 758, 1972.
40. Stark RB, Frilech SP : Conchal cartilage grafts in augmentation rhinoplasty and orbital floor reconstruction *J Plast Reconstr Surg* 43 : 591, 1969.
41. Hendler BH, Gateno J, Smith BM : Use of auricular cartilage in the repair of orbital defects. *Oral Surg Med Oral Pathol* 74 : 719, 1992.
42. Konig F : Zur Deckung von Defecten in der Vorderen Tracheealwand. *Berlin Klin. Wochenschr* 33 : 1129-1139, 1986.
43. Hunter W : On the structure and diseases of articulating cartilages. *Philo Trans Roy Soc London* 9 : 267, 1743.
44. Dorner cited by Marchand F : Der PProcess Der Wundheilung. *Deuschc Chirturgie* 16 : 268, 1901.
45. Meckel, Pauli F cited by Dupertius, 1941.
46. Leidy J : On the intimate structure and history of articulating cartilage. *Amer Jour Med Sci* 17 : 277, 1849.
47. Bert P : Surla Greffe Animale. *Compt Rend Acad d Sei* 61 : 587, 1865.
48. Ollier L : "Traite Experimental et Clinique de la Regeneration des Os et de la Production Artificielle du Tissue Osseux" 1 : 162. V Masson et fils Paris, 1867.
49. Fischer E : Ueber Transplantationen von Organischem Material. *Deutsche Ztschr. f. Chir* 17 : 362, 1982.
50. Prudden TM : Experimental studies on the transplatation of cartilage. *Amer Jour Med Sci* 82 : 360-370, 1887.
51. Loeb L : Autotransplatation and homoiotransplatation of cartilage in the guinea pig. *Amer Jour Path* 2 : 11-122, 1926.
52. Key JA : Experimental arthritis : Changes in joints produced by creating defects in articular cartilages. *Jour Bone and Joint Surg* 13 : 725-739, 1931.
53. Schands AR : The regeneration of hyaline cartilage in joints. *Arch Surg* 22 : 137-178, 1931.
54. Peer LA : The fate of living and dead cartilage transplanted in humans. *Surg gynec and Obst.* 68 : 603-609, 1939.
55. 이동근 : 하악골 측두하악관절의 이연골을 이용한 악관절원판 재건술에 관한 연구. *대한구강악안면 외과학회지*, 19권 3호, 313-318, 1993.
56. Gibson A : Hyaline cartilage degeneration and regeneration. *Cand Med Assoc Jour* 73 : 442-447, 1955.
57. Gibson T, Davis WB : The distortion of autogenous cartilage graft : Its cause and prevention. *Br J Plast Surg.* 10 : 257, 1958.
58. Muhlbauer WD, Schmidt-Tintemann U, Glaser M : Long term behavior of preserved homologous rib cartilage in the correction of saddle nose deformity. *Br J Plast Surg* 24 : 325, 1971.

59. McGlynn MJ, Sharpe DT : Cialit preserved homograft cartilage in nasal augmentation : A long term review. *Br J Plast Surg* 34 : 53, 1981.
60. Lowe C, Smith AU : Isolation freezing and storage of rabbit growth plate chondrocytes. *Lab Pract* 24 : 511, 1975.
61. Bentley G, Smith AU, Mukerjee R : Isolated epiphyseal chondrocyte allografts into joint surfaces. *Ann Rheum Dis* 37 : 449, 1978.
62. Schachar NS, Tomford WW and Mankin HJ : The effect of cryopreservative agents on the viability of human articular cartilage. Presented at the Can Orthop Res Soc Annual Meeting, 1977.
63. Brighton CT, Shadle CA, Jimenez SA, Irwin JT, Lane JM, Lipton M : Articular cartilage preservation and storage I. Application of tissue culture techniques to the storage of viable articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 22 : 1093, 1979.
64. Black J, Shadle CA, Parsons JR, Brighton CT : Articular cartilage preservation and storage II. Mechanical indentation testing of viable, stored articular cartilage. *Arthritis Rheum* 22 : 1102, 1979.
65. Karow AM Jr : Dimethylsulphoxide effect on myocardial  $\beta\alpha$ [-Αδρενοϋπερτορσ[letter.] *J Pharm and Pharmacol* 24 : 419-421, 1972.
66. Schlafer, Marshal : Drugs that modify cellular responses to low temperature (cryoprotectants) : A Pharmacological perspective of preserving biological systems by freezing. *Fed Proc* 36 : 2590-2594, 1977.
67. Tomford WW, Fredericks GR, Mankin HJ : Cryopreservation of isolated chondrocytes. (abstr) *Trans orthop Res Soc* 6 : 76, 1981.
68. Tomford WW, Fredericks GR, Mankin HJ : Cryopreservation of intact articular cartilage. *Trans Orthop REs Soc* 7 : 176, 1982.
69. Schachar NS, Heard J, McGann L : Relevance of the permeability coefficients and differential cooling rates to the cryopreservation of isolated articular cartilage chondrocytes. *Trans. Orthop. Res. Soc.* 7 : 120, 1982.
70. Meryman HT, Willans RJ, Douglas M St J : Freezing injury from "Solution Effects" and its prevention by natural or artificial cryoprotection. *Cryobiology.* 14 : 287-32, 1977.
71. Pegg DE, Trotman RE : The preservation of human bone marrow at -79°C. A Temperature-controlled method of two stage cooling. *J. clin. pathol.* 12 : 477-482, 1959.
72. Tomford WW, Fredericks GR, Mankin HJ : Studies on cryopreservation of articular cartilage chondrocytes, *Jour Bone and Joint Surg* 66 : 253-258, 1984.

## 사진 부도 설명

- Fig 1. Photomicrography of glycerol group, 1 week/  
Grafted auricular cartilage was covered by fibrin clots.  
Foreign body type giant cells and degeneration of cartilage by mononuclear cells was noted (H&E,  $\times 100$ ).
- Fig 2. Photomicrography of DMSO group, 1 week.  
Inflammatory cell infiltration and foreign body reaction was less than that of glycerol group (H&E,  $\times 100$ ).
- Fig 3. Photomicrography of glycerol group, 1 week.  
Homogenous heavy stained chondrocyte matrix was observed (P. A. S.  $\times 100$ ).
- Fig 4. Photomicrography of DMSO group, 1 week.  
The red color for mucopolysaccharide of cartilage matrix was homogenous stained (P. A. S,  $\times 100$ ).
- Fig 5. Photomicrography of glycerol group, 1 week.  
Viable chondrocyte was homogenous stained (van-Gieson,  $\times 100$ ).
- Fig 6. Photomicrography of DMSO group, 1 week.  
Brown colored homogenous stain for elastic fiber was noted (van-Gieson,  $\times 100$ ).
- Fig 7. Photomicrography of glycerol group, 2 weeks.  
Chondrocyte degeneration by mononuclear cells and foreign body type giant cells were observed (H&E,  $\times 100$ ).
- Fig 8. Photomicrography of DMSO group, 2 weeks.  
Appositional growth of chondrocytes were noted (M. T.  $\times 100$ ).
- Fig 9. Photomicrography of glycerol group, 8 weeks.  
Non-reactive chondrocyte covered by fibrous tissue was noted (P. A. S.  $\times 100$ ).
- Fig 10. Photomicrography of DMSO group, 8 weeks.  
Meniscus connected with grafted cartilage was noted. (P. A. S.  $\times 40$ ).
- Fig 11. Photomicrography of glycerol group, 8 weeks.  
Blue-colored mineralization at chondrocyte matrix was noted.  
Vitality of chondrocyte was not seen (M. T.  $\times 100$ ).
- Fig 12. Photomicrography of DMSO group, 8 weeks.  
Viable chondrocyte was more than that of glycerol group (M. T.  $\times 200$ ).

사진부도 ①



Fig. 1

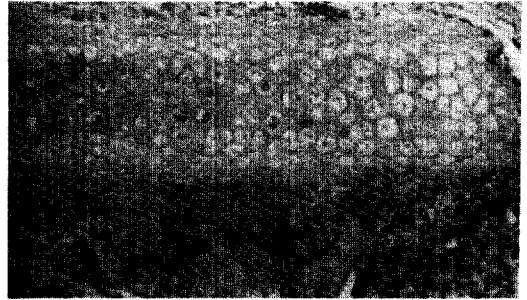


Fig. 2



Fig. 3

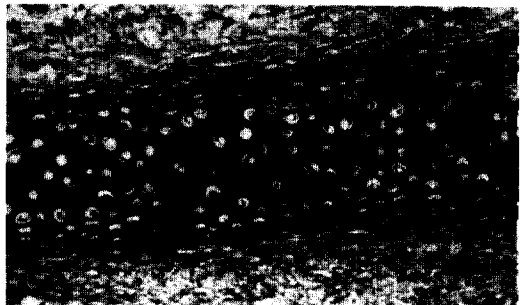


Fig. 4



Fig. 5

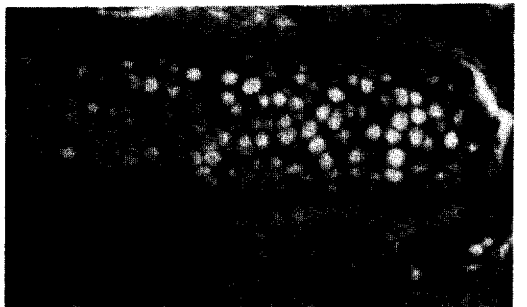


Fig. 6

사진부도 ②



Fig. 7

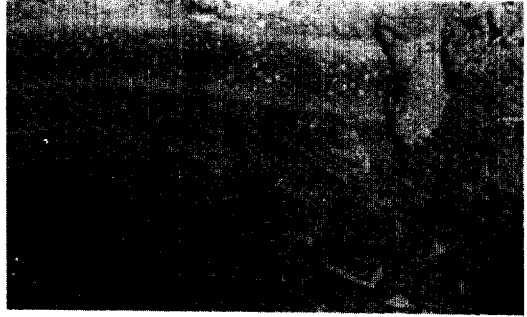


Fig. 8



Fig. 9



Fig. 10



Fig. 11

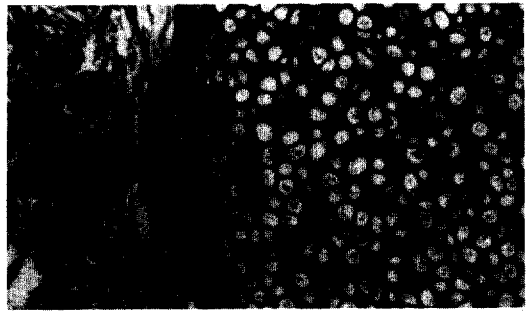


Fig. 12