

가토에서 인위적 관절 손상 후 포도당 용액과 자가 혈청 주사 치료의 효과

순천향대학교 의과대학 재활의학교실, ¹병리학교실, ²김상윤 재활의학과의원

김수아 · 김의한¹ · 김상윤² · 이성용 · 윤재남 · 이양균

The Effects of Hyperosmolar Dextrose and Autologous Serum Injection in the Experimental Articular Defect of Rabbit

Soo A Kim, M.D., Eui Han Kim, M.D.¹, Sang Yun Kim, M.D.², Sung Yong Lee, M.D., Jae Nam Yoon, M.D. and Yang Kyun Lee, M.D.

Departments of Rehabilitation Medicine and ¹Pathology, Soonchunhyang University College of Medicine, ²Dr. Kim's Rehabilitation Clinic

Objective: Although the clinical effects of prolotherapy on osteoarthritis has been reported, there have been few previous studies showing the effects as a proliferant on articular cartilage. Also the autologous blood has been reported to used as a growth factor stimulant recently, we were trying to use dextrose and autologous serum for tissue regeneration respectively and evaluated the proliferative effect of autologous serum comparing with that of dextrose.

Method: Twenty four rabbits were used for this study. The rabbits were divided into three groups. Group A did not get any special treatment. Group B was treated with 10% dextrose and group C with autologous serum. Six weeks la-

ter, gross appearance and histologic findings were evaluated. **Results:** After sacrifice, the gross inspection of the knee joints revealed that group B and C were filled with the translucent tissue in defective cartilage. Group A still had defective cartilage. Histologic evaluation revealed increase of cellularity in the defect of the injected specimens when compared with the control. There was no morphological difference between group B and C.

Conclusion: The repair process of the articular cartilage defects using dextrose and autologous serum were shown to be more effective than that of control group. (J Korean Acad Rehab Med 2006; 30: 173-178)

Key Words: Autologous serum, Dextrose, Articular cartilage, Proliferant

서 론

연령이 증가함에 따라 이와 동반되어 근골격계 질환은 증가한다. 그 중 퇴행성 슬관절염은 초기에 보존적 치료를 시행한다고 하더라도 완전히 정상 관절로 회복되는 것이 아니라 노후생활에 지속적인 불편함을 유발하여 삶의 질을 감소시키는 경향이 있다. 지금까지 보존적 치료로 소염진통제 및 운동요법, 관절 내 스테로이드 주사나 히알루론산(hyaluronic acid) 주사 치료 등을 시행하고 있다. 관절 내 스테로이드 주사치료는 일시적인 통증 경감에는 효과적이거나 연골 손상을 초래할 수 있다.⁴⁾ 히알루론산 주사의 경우 부작용은 적으나 반복 주사의 단점이 있으며 심한 퇴행성 슬관절염에는 효과가 미미하기 때문에 사용범위가 넓지 않다.¹²⁾ 최근에 포도당 용액을 이용한 증식치료를 시도하고 있는데, 이런 고농도 용액을 주사하면 염증 반응을 통해 건

이나 인대를 비후시키고 연골의 두께가 증가함을 알 수 있었다.^{10,13)}

Reeves와 Hassanen¹⁴⁾도 퇴행성 슬관절염 환자에게 10% 포도당용액을 주사하여 방사선학적으로 슬관절 내 연골의 두께가 증가함을 확인하였다. 또한 Reeves¹³⁾는 포도당이나 고장액 또는 저장액 용액에 노출되면 세포 분화와 성장인자수의 증가가 일어난다고 하였다. Edwards와 Calandruccio⁶⁾는 자가 혈액을 만성 외상성 상과염에 주입하여 통증완화 및 재발감소 효과를 보였다고 하였다.

일부 문헌에서 증식치료로 퇴행성 슬관절염이 임상적으로 호전되었다고 하였으나 연골에 대한 효과를 이론적으로 증명할 근거가 충분치 않았으며^{10,13)} 또한 혈액을 사용한 문헌은 일부 보고되어 있으나 매우 미미한 상태이다. 이에 저자는 포도당 용액과 혈액을 관절 내 주사 후 조직학적으로 연골세포의 변화를 관찰하였다. 특히 성장인자를 포함하는 혈액을 이용하면 염증반응을 통한 증식효과와 동시에 성장인자에 의한 연골세포 증식으로 포도당 용액을 주사한 경우보다 효과가 뛰어날 것으로 생각하였다. 그러나 전혈을 사용하는 경우 일부 환자들에서는 피를 주사한다는 사실에 거부반응을 보일 수 있다. 따라서 혈액 중 세포 면역 및 세포 매개에 관여하는 성분과 성장인자는 그대로 포함하고

접수일: 2005년 1월 14일, 게재승인일: 2005년 2월 2일

교신저자: 김수아, 충남 천안시 봉명동 23-20

© 330-721, 순천향대학교 부속 천안병원 재활의학과

Tel: 041-570-2217, Fax: 041-570-2776

E-mail: soopamr@schch.co.kr

있는 혈청을 분리하여 실험을 하였다.

본 연구에서는 대조군과 포도당 용액을 주입한 군, 혈액을 원심 분리하여 혈청만 추출한 뒤 주입한 군으로 나누어 실험하였고 포도당을 사용한 증식치료에 비해 혈청을 사용하였을 때 증식효과에 차이가 있는지 알아보기 위해 육안적, 조직학적 변화를 관찰하였다.

연구대상 및 방법

1) 연구대상

New Zealand White 종 가토 암수 구별 없이 24마리를 사용하였으며 각각 8마리씩 세 군으로 나누었다. 각 군을 구성하는 가토의 표준 체중은 각각 2.55 ± 0.33 , 2.53 ± 0.15 , 2.55 ± 0.11 kg로 일정한 체중을 유지하였다. 실험기간 동안 사육장의 온도($24 \sim 26^{\circ}\text{C}$)와 습도($60 \sim 65\%$)는 일정하게 유지하였다. 먹이와 물은 충분히 공급하였고 가토의 운동은 제한하지 않고 자유롭게 움직이도록 하였다.

2) 연구방법

가토 24마리를 A군($n=8$), B군($n=8$), C군($n=8$)으로 나누어 가토의 복부에 마취제인 20% chloral hydrate를 2ml/kg씩 주사하였다. 20분 후 완전히 가토가 마취된 상태에서 양측 슬관절 주위 피부를 앞쪽에서 수직 방향으로 절개하여 슬개골을 노출시켰다. 그 다음 슬개골을 외측으로 제껴서 이동시킨 후 슬개골과 대퇴골이 만나는 관절 연골에 전기드릴을 이용하여 직경 2 mm의 원형 형태의 심부 관절 결손(full-thickness articular defect)을 2 mm 깊이가 되도록 만들었다. A군은 출혈이 되지 않도록 미세 혈관들을 처치하고 주위 구조물을 확인한 뒤 슬개골을 제자리에 위치시켰다. 나머지 B군과 C군은 관절 연골 결손을 확인한 후 각각 10% 고농도 포도당 용액과 자가 혈액을 1 ml 채취하여 3,500 rpm에서 6분 간 원심분리를 시킨 후 추출한 자가 혈청 0.5 ml를

주입하였다. 처치 후 가토의 피부는 6-0 나일론실로 단순 봉합술을 시행하고 수술 후 감염방지를 위해 gentamicin (건일, 한국) 10 mg을 1회 근육 주사하였다. 6주 동안 가토의 움직임을 관찰한 후 슬관절 적출을 위해 희생시켰다. 각각의 가토에서 슬관절 연골의 육안적 변화를 확인하였다. 결손 부위를 포함한 슬관절 연골을 10% 포르말린 완충액(buffered formalin)으로 72시간 고정된 후 New Declac 용액에 상온에서 1주간 넣어서 탈칼슘화시켰다. 각각의 조직을 파라핀 처리한 후 결손 부위가 포함되도록 수직으로 절편하였다.

각 조직은 Hematoxyline-eosin (H-E) 염색과 Koneff 염색을 시행하였으며 가토의 상태를 모르는 한 명의 병리의사가 연골 결손에 대한 조직학적 측정을 Wakitani 등²²⁾이 제안한 정량적 판독기준에 따라 판독하였다(Appendix). 결과분석을 위해 SPSS 11.0 프로그램을 사용하였고 세 군 간의 비교를 위해 Kruskal-Wallis 검사를 하였고 통계적 유의수준은 $p < 0.005$ 로 하였다.

결 과

1) 관절 결손 부위와 주변 연골의 육안적 소견

포도당과 혈청을 주사하고 6주째 각 슬관절 결손 부위를 육안적으로 관찰하였다. A군에서는 결손 부위가 함요되어 있고, 불투명 연부 조직이 일부 관찰되며 인접 부위와 쉽게 감별되는 손상 상태를 유지하고 있었다. B군에서는 A군에 비해 결손 부위가 반투명 조직으로 채워져 있었고 조직 표면이 편평하며 색깔이 균일하였으며 인접 부위와의 경계가 확실하지 않았다. C군에서도 역시 A군에 비해 결손 부위가 회복되어 반투명 조직으로 채워져 있는 양상을 보였으나, B군과 C군에서는 육안적으로 차이를 구별할 수 없었다(Fig. 1).

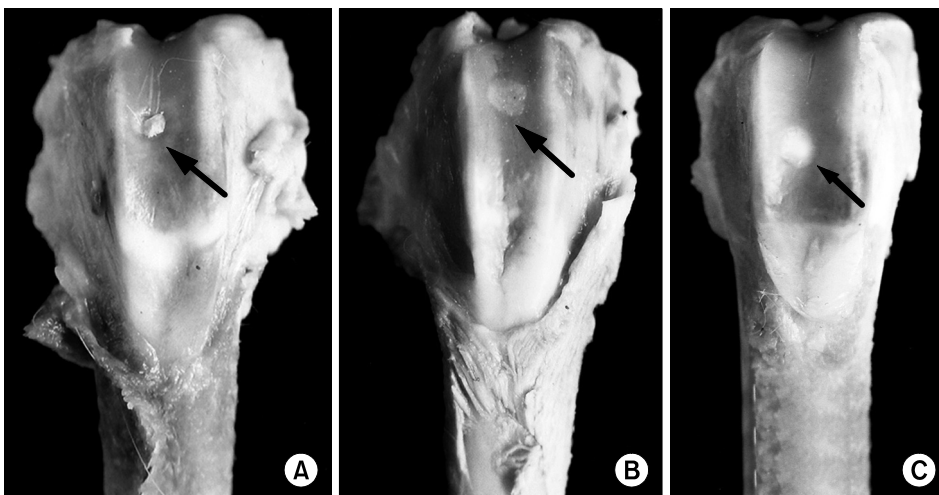


Fig. 1. Gross appearances of the femoral groove of each groups 6 weeks after the defect was made. The arrows indicate the injury site. (A) In the control group, the defect articular lesion was not filled with soft tissue. (B) In the 10% dextrose treated group, the defect articular lesion was filled with translucent and gray tissue. (C) In the autologous serum treated group, the defect was showed similar to B.

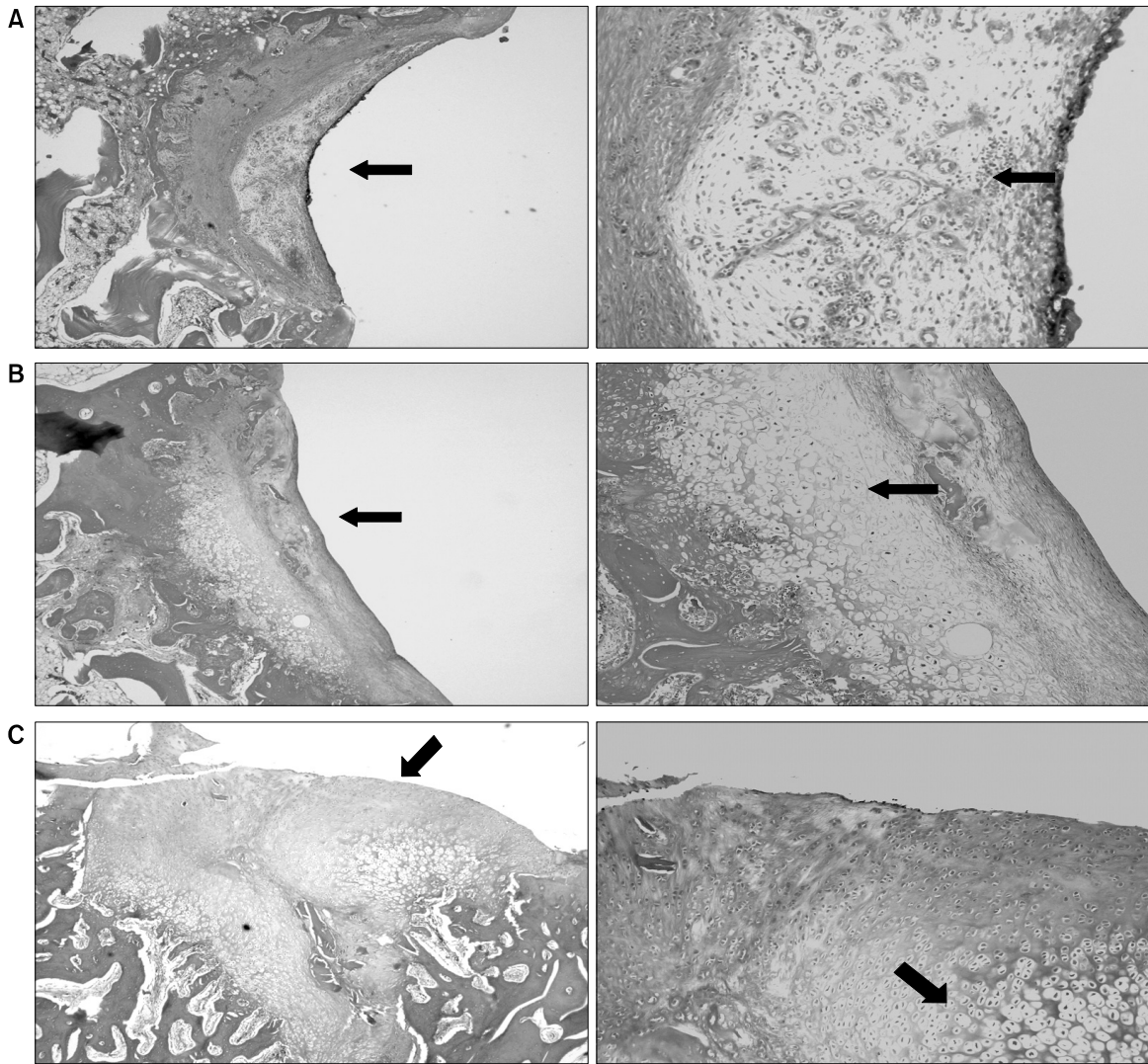


Fig. 2. On light micrograph (H-E stain) of cross section of each groups 6 weeks after the defect was made. In left column of figures, the arrow indicated the defect area ($\times 40$). (A) In the control group, the defect area was filled with granulation tissue. The arrow of the right figure indicated granulation tissue ($\times 200$). (B) In the 10% dextrose treated group, the defect showed irregular arrangement of chondrocyte. The arrow of right figure indicated the chondrocyte ($\times 100$). (C) In the autologous serum treated group, the defect was showed similar to B. The arrow of right figure indicated the chondrocyte ($\times 100$).

2) 관절 결손 부위의 광학 현미경 소견

Hematoxyline-eosin 염색과 Koneff 염색을 시행하여 연골 세포 생성여부와 배열정도를 비교 관찰하였다. A군은 결손 부위가 함요되어 있고 표면이 불규칙하게 형성되어 있었으며 내부에는 육아조직이 관찰되었다. 반면 B군은 결손 부위의 표면이 편평하게 인접한 정상 연골 조직과 균일하게 연결되어 있었으며 고배율에서 관찰할 때 연골세포가 불규칙적인 배열로 형성되어 있는 것을 확인할 수 있었다. C군도 B군과 비슷한 소견을 보여주었으며 불규칙적인 배열의 연골세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

3) 조직학적 판정기준 결과

Wakitani 등²²⁾이 언급한 정량적 판정기준에 따라 연골 결손을 측정하였으며, 세 군의 현미경학적 수치를 판정한 결과, 총점이 A군에서 평균 10.50점, B군에서 평균 7.38점, C군에서 평균 7.75점으로 A군이 나머지 두 군에 비해 수치가 높게 판정되었으며 각 항목 중에서 세포의 형태, 연골 표면의 규칙성, 인접 연골 조직과의 일관성에서도 B군과 C군에서 수치가 낮았다. Kruskal-Wallis 검사 결과 A군과 B군, A군과 C군 사이에는 유의한 차이가 발견되었으나($p < 0.005$), B군과 C군 사이에는 유의한 차이가 없었다(Table).

Table. Results of Histologic Grading Scale

	Histologic grading scale					Total*
	I*	II	III*	IV	V*	
Group A	2.63±0.52	2.00±1.88	2.25±0.71	1.63±0.52	2.00±1.13	10.50±1.07
Group B	2.00±0.00	1.88±0.64	1.13±0.35	1.25±0.71	1.13±0.35	7.38±0.92
Group C	2.00±0.00	1.88±0.64	1.25±0.46	1.13±0.83	1.50±1.54	7.75±1.67

Values are mean±standard deviation.

*p<0.005 compared to group A (Kruskal-Wallis test)

고찰

퇴행성 슬관절염이 발생하면 일반적으로 보존적 치료를 하는데 소염진통제 및 운동요법 등으로 일부 환자에서는 증상이 호전되나 충분한 치료를 시행하더라도 증상의 경감을 보이지 않는 환자들이 있다. 또한 연령이 증가함에 따라 고혈압이나 당뇨 등의 만성 질환을 동반하여 치료에 제한이 생기고 이로 인해 만성 동통은 더욱 진행되는 경향을 보인다. 약물에 의한 부작용, 동통으로 인한 활동량 감소, 체중 증가에 따른 슬관절 동통 등의 악순환이 반복되어 장애를 일으키게 되며 의료비의 증가를 유발하게 된다. 따라서 질병 경과를 호전시키려는 여러 방법이 시도되고 있으며 이 중 관절 내 주사요법이 외래진료에서 쉽게 시술이 가능하여 빈번하게 시행되고 있다. 그러나 스테로이드 주사치료는 단기간 증상을 호전시키는 데는 용이하나 외측 상과염과 같은 만성적인 건의 손상에서는 재발되는 경우가 많다.

그런데 최근 몇 년 동안 인대나 건의 손상, 퇴행성 관절염에 포도당 용액과 같은 증식제를 이용한 증식치료를 통하여 임상적 호전을 관찰하였다. 특히 기존의 보존적 치료에 반응하지 않는 만성 퇴행성 관절 질환 및 건이나 인대치료를 용이하게 사용하고 있다.³⁾

김 등¹⁾에 의하면 만성 근골격계 통증환자에서 15% 포도당을 인대나 건의 섬유-골 접합부에 주사 후 통증정도를 평가하였는데 통증 부위나 통증 기간에 관계없이 의미 있는 증상 호전을 관찰하였다고 한다. 김²⁾에 의하면 슬관절 골관절염 환자에서 내 외측 측부 인대에 15% 포도당을 주사하고 관절강 내에 25% 포도당을 주사하여 통증지수가 의미 있게 감소하였다고 한다.

이론적으로 포도당 용액과 같은 외부 물질이 손상된 조직 내로 주입되면 이에 저항할 수 있는 방어기전으로 염증반응이 일어나며 대식작용과 백혈구의 구성 성분 중 일부가 화학주성을 통해 이러한 과정에 관여하게 되고 섬유화가 진행된다.⁸⁾

포도당 용액을 주입하는 증식치료는 세포의 분화를 일으

키고 성장인자 발현을 증가시킨다고 한다. 이를 통해 인대의 두께가 두꺼워지고 장력이 강해지며 퇴행성 슬관절염이 진행되지 않고 통증이 완화된다.^{11,13)}

증식치료에 사용되는 증식제는 포도당 용액 이외에 직접 성장인자를 주입하거나 혈액 등을 이용하여 시도되고 있다.

실험적으로 일부 사이토카인과 함께 성장인자가 연골세포를 자극하여 연골기질과 모세포를 증식시킨다고 알려져 있다. 여기에 속하는 인자들로 섬유모세포 성장인자(basic fibroblast growth factor, bFGF),^{5,18)} 골형성단백질(bone morphogenic protein, BMP),⁷⁾ 변형성장인자(transforming growth factor beta, TGF β)²¹⁾ 등이 있다. 혈소판 유래 성장인자(platelet derived growth factor BB, PDGF-BB)도 TGF β와 함께 섬유모세포 증식, 교원질 합성에 영향을 미쳐 인대 치유에 효과적으로 작용한다.^{9,17)}

Van Beuningen 등^{20,21)}은 실험동물의 슬관절 내에 TGF-β를 투여한 후 골극 형성 및 연골 내 프로테오글라이칸 합성정도를 관찰하였다. 일반적으로 TGF-β를 슬관절 내 주입하면 관절 연골뿐만 아니라 골막을 자극하여 새로운 연골 구조물을 형성한다. 성장인자를 직접 손상된 건이나 인대에 주사하여 증상을 호전시킨 여러 동물실험도 발표되었지만 이를 임상에 적용하기에는 아직까지 경제적인 면이나 안전성, 부작용 측면에서 충분한 고찰이 부족한 상태이다.

Edwards와 Calandruccio⁶⁾는 일부 만성 외측성 상과염 환자에서 자가 혈액을 사용하여 통증이 호전되었고 그 중 일부는 통증이 완전히 없어졌다는 임상 결과를 발표하였다. Taylor 등¹⁹⁾도 가토의 슬개건에 자가 혈액을 투여하여 대조군에 비해 장력이 증가함을 확인하였고 이는 혈액이 풍부한 성장인자를 내포하고 있어 섬유세포의 이주를 자극하고 신생혈관이 생기도록 유도하기 때문이라고 하였다. Sanchez 등¹⁶⁾도 역시 슬관절 연골과열을 동반한 환자에서 자가 혈액 중 혈장을 추출하여 관절경하에 주입하여 연골관절이 치유된 것을 확인하였다.

결국 Kim 등¹⁰⁾이 기술하였듯이 혈액은 내인성 성장인자를 포함하고 있어 연부조직의 증식치료에 적용이 가능하리라 본다.

혈액은 자체적으로 성장인자를 포함하고 있기 때문에 포도당 주사에 비해 더욱 효과적으로 증식제로서 역할을 할 것으로 생각하였으나 본 연구에서 포도당 주사 치료와 비교할 때 차이가 없었다.

연골 결손에 대한 조직학적 판정 소견을 각 항목별로 측정된 결과 세포 형태 및 결손표면의 규칙성, 손상되지 않은 인접 연골과의 연관성은 혈청과 포도당 주사군 모두 대조군에 비해 의미 있는 차이를 보였다. 반면 연골의 두께 및 기질염색 정도에서는 대조군에 비해 통계학적인 의미는 없으나 양 군 모두에서 수치가 낮게 평가되는 경향을 보였다. 본 연구에서는 한 명의 병리의사가 주관적으로 조직 소견을 판단한 뒤 수치화하여 평가를 하였기 때문에 각 항목에 대한 구체적인 판정에 일부 오차가 발생할 가능성도 배제하기 어렵다.

일반적으로 관절 내에 직접적으로 포도당을 주사하는 치료가 비록 건이나 인대에 주사하는 시술보다 빈번히 사용되지는 않으나 현재까지 꾸준히 시술되고 있다. 또한 혈액을 관절 내에 투여하는 경우 혈구세포 중 백혈구가 단백질 용해효소를 가지고 있어 연골기질을 손상시킬 수 있으나 빈번한 시술이 아니라면 관절의 기능이나 연골에 이상을 유발시키지는 않는다.¹⁵⁾ 본 연구에서 혈구세포가 포함되지 않은 혈청을 이용하였기 때문에 연골세포에 손상 없이 성장인자가 작용하였을 것으로 생각되며 포도당 용액을 주입한 군과 혈청을 주입한 군 모두 감염소견이나 그 외 이상 반응은 발견되지 않았다. 따라서 시술 부위에 대한 전처치가 충분히 된다면 관절 내 주사의 위험성은 크지 않을 것으로 생각된다.

본 연구를 통해 혈청을 증식치료에 충분히 사용할 수 있다는 것을 확인하였지만 가토의 슬관절 내 혈청과 포도당을 1회만 주사 후 관찰하였고 관찰기간을 6주로 한정하여 포도당 용액에 의한 증식치료와의 비교 결과에 일부 제한이 있을 수 있다. 따라서 향후 연구에서는 반복 주사 및 단계적인 기간 설정에 의한 효과 관찰과 관절 결손 부위의 방사선학적 변화에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서는 가토 24마리의 슬관절을 인위적으로 손상시켜 관절 결손을 만든 뒤 어떤 주사도 시행하지 않은 A군, 10% 고농도 포도당 용액을 주사한 B군, 혈청을 주입한 C군으로 나눈 뒤 육안적, 조직학적 소견을 관찰하였다. 초기 1회 주사한 뒤 6주 뒤 관찰한 결과 A군의 경우 연골 결손 부위가 손상상태를 그대로 유지하고 있는 반면 B군과 C군에서는 결손 부위가 연부조직으로 채워지고 연골세포가 잘 증식되어 있는 소견을 관찰할 수 있었다. 이는 포도당을 주입할 때 나타나는 증식효과가 혈청을 주입한 군에서도 나

타나는 것으로 생각된다. 향후 기간에 따른 효과 판정과 주사 횟수에 따른 효과 등 추가적인 연구가 필요할 것으로 보이며 임상 실험을 통한 자가 혈청의 증식제로서의 사용 가능성에 대한 의학적 검증이 필요하리라 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) 김백근, 신주연, 서경목: 만성근골격계 통증에서 프로로테라피의 효과. 대한재활의학회지 2001; 25: 128-133
- 2) 김종문: 슬관절 골관절염에서 프로로테라피의 효과. 대한재활의학회지 2002; 26: 445-448
- 3) 신주연, 서경목, 김돈규, 김백근, 강시현: 주관절 외측 상과염에서의 프로로테라피의 효과. 대한재활의학회지 2002; 26: 764-768
- 4) Behrens F, Shepard N, Mitchell N: Alteration of rabbit articular cartilage by intraarticular injections of glucocorticoids. J Bone Joint Surg Am 1975; 57: 70-76
- 5) Cuevas P, Burgos J, Baird A: Basic fibroblast growth factor (FGF) promotes cartilage repair in vivo. Biochem Biophys Res Comm 1988; 156: 611-618
- 6) Edwards SG, Calandruccio JH: Autologous blood injections for refractory lateral epicondylitis. J Hand Surg [Am] 2003; 28: 272-278
- 7) Grgic M, Jelic M, Basic V, Basic N, Pecina M, Vukicevic S: Regeneration of articular cartilage defects in rabbits by osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7). Acta Med Croatica 1997; 51: 23-27
- 8) Guyton AC: Resistance of the body to infection: I. leukocytes, granulocytes, the monocyte-macrophage system, and inflammation. In: Guyton AC, Hall JE, editors. Textbook of medical physiology, 10th ed, Philadelphia: WB Saunders, 2000, pp 392-401
- 9) Hildebrand KA, Woo SL, Smith DW, Allen CR, Deie M, Taylor BJ, Schmidt CC: The effect of platelet-derived growth factor-BB on healing of the rabbit medial collateral ligament. An in vivo study. Am J Sports Med 1998; 26: 549-554
- 10) Kim SR, Stitik TP, Foye PM, Greenwald BD, Campagnolo DI: Critical review of prolotherapy for osteoarthritis, low back pain, and other musculoskeletal conditions. a physiatric perspective. Am J Phys Med Rehabil 2004; 83: 379-389
- 11) Liu YK, Tipton CM, Matthes RD, Bedford TG, Maynard JA, Walmer HC: An in situ study of the influence of a sclerosing solution in rabbit medial collateral ligaments and its junction strength. Connect Tissue Res 1983; 11: 95-102
- 12) Peyron JG: Intraarticular hyaluronan injections in the treatment of osteoarthritis: state-of-the-art review. J Rheumatol 1993; 39(Suppl): 10-15
- 13) Reeves KD: Prolotherapy: Basic science, clinical studies, and technique. In: Lennard TA, editor. Pain procedures in clinical practice, 2nd ed, Philadelphia: Hanley & Belfus, 2000, pp172-190

- 14) Reeves KD, Hassanein K: Randomized prospective double-blind placebo-controlled study of dextrose prolotherapy for knee osteoarthritis with or without ACL laxity. *Altern Ther Health Med* 2000; 6: 68-74, 77-80
- 15) Safran MR, Johnston-Jones K, Kabo JM, Meals RA: The effects of experimental hemarthrosis on joint stiffness and synovial histology in a rabbit model. *Clin Orthop* 1994; 303: 280-288
- 16) Sanchez M, Azofra J, Anitua E, Andia I, Padilla S, Santisteban J, Mujika I: Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion. A case report. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35: 1648-1652
- 17) Scherping SC Jr., Schmidt CC, Georgescu HI, Kwoh CK, Evans CH, Woo SL: Effect of growth factor on the proliferation of ligament fibroblasts from skeletally mature rabbits. *Connect Tissue Res* 1997; 36: 1-8
- 18) Shida J, Jingushi S, Izumi T, Iwaki A, Sugioka Y: Basic fibroblast growth factor stimulates articular cartilage enlargement in young rats in vivo. *J Orthop Res* 1996; 14: 265-272
- 19) Taylor MA, Norman TL, Clovis NB, Blaha JD: The response of rabbit patellar tendons after autologous blood injection. *Med Sci Sports Exerc* 2002; 34: 70-73
- 20) Van Beuningen HM, Glansbeek HL, Van der Kraan PM, Van den Berg WB: Osteoarthritis-like changes in the murine knee joint resulting from intra-articular transforming growth factor beta injections. *Osteoarthritis Cartilage* 2000; 8: 25-33
- 21) Van Beuningen HM, Van der Kraan PM, Arntz OJ, Van den Berg WB: Transforming growth factor- β 1 stimulates articular chondrocyte proteoglycan synthesis and induces osteophyte formation in the murine knee joint. *Lab Invest* 1994; 71: 279-290
- 22) Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, Young RG, Mansour JM, Caplan AI, Goldberg VM: Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1994; 76: 579-592

Appendix. Histologic Grading Scale for Cartilage Defect

I. Cell morphology	0 Hyaline cartilage
	1 Mostly hyaline cartilage
	2 Mostly fibrocartilage
	3 Mostly noncartilage
	4 Noncartilage only
II. Matrix staining (metachromasia)	0 Normal (compared to host)
	1 Slightly reduced
	2 Significantly reduced
	3 No metachromatic stain
III. Surface regularity ¹⁾	0 Smooth (> 3/4)
	1 Moderate (1/2 ~ 3/4)
	2 Irregular (1/4 ~ 1/2)
	3 Severely irregular (< 1/4)
IV. Thickness of cartilage ²⁾	0 > 2/3
	1 1/3 ~ 2/3
	2 < 1/3
V. Integration of donor to host adjacent cartilage	0 Both edges integrated
	1 One edge integrated
	2 Both edges not integrated
Total Maximum: I ~ V	14

1. Total smooth area of reparative cartilage compared to the whole area of the cartilage defect, 2. Average thickness of reparative cartilage compared to that of surrounding cartilage