

< 논문 >

저강도 초음파의 관절염 치료 적용성 평가

홍성민* · 한승무*
(2004년 2월 2일 접수, 2005년 4월 11일 심사완료)

An Evaluation of Low Intensity Ultrasonic Characteristics for Arthritis Healing

Sung-Min Hong and Seung-Moo Han

Key Words: Ultrasound(초음파), Osteoblast(조골세포), Arthritis(관절염)

Abstract

Nowadays chronic degenerative diseases such as arthritis are increasing rapidly, even though acute infectious diseases are decreasing due to the advance of modern medicine. Although many of remedies are developed for arthritis healing, there is no precise medical prescription, and pathogenesis is not examined exactly. In this study, we confirmed gene expression of BMP 1A, BMP 2B, osteonectin and MGP which are genes related with bone formation in osteoblast by using ultrasonic stimulation. Through this study, we also evaluated the fact that ultrasound could be applied to arthritis healing by making activated osteoblast induce remodeling of cartilage. As a result of this research, BMP 2B and MGP have higher rates of expression in specific ultrasound mode. In conclusion, it is expected that ultrasound could be used efficiently for healing arthritis if we use ultrasounds according to symptoms of arthritis on reasonable terms.

1. 서론

현대에 들어와 생활수준의 향상, 그리고 의학, 과학기술의 발달과 더불어 급성감염성 질환은 감소하는 반면 만성퇴행성 질환이 급증하고 있다. 이러한 질병양상의 변화로 만성질환이 현대인의 건강을 위협하는 중요한 요인으로 부각되고 있으며 대표적인 만성질환으로는 암, 당뇨병, 고혈압, 관절염, 호흡기 질환 등이 있다. 이 중에서 최근 관절염은 다른 근-골격계의 질환과 더불어 성인에게 나타나는 장애의 가장 흔한 원인으로 보고 되

고 있으며 미국에서는 4천만 이상의 사람들이 관절염으로 고통 받고 있다.⁽¹⁾

관절염의 치료 방법으로 염증을 감소시키는 약물 치료 요법, 연골 재생을 유도하는 수술법인 미세천공술,⁽²⁾ 손상부위가 큰 경우 인공적으로 만든 관절로 대체해 주는 인공관절 전치환술^(3,4) 등이 사용되어 왔다. 또한 세포를 이용한 방식으로 주목받고 있는 자가 연골세포 이식술⁽⁵⁻⁷⁾ 및 체외에서 조직공학적으로 제작된 연골을 이식하거나,⁽⁸⁾ 관절염 치료에 도움이 되는 유전자를 도입하는 유전자 치료법 등도 개발 중이다. 그러나 아직 관절염의 기전이 명확히 규명되지 않고 있으며 정확한 치료 방법 또한 제시되지 않고 있는 실정이다.

관절 연골은 생체 내에서 항상 물리적인 자극을 받고 있는 조직으로, 그 자극은 다양하고 복잡한 형태로 존재한다. 이러한 물리적인 자극이 정상적인 관절 연골의 경우에는 유지에 필요한

* 책임저자, 회원, 경희대학교 동서의학대학원 의료공학전공

E-mail : smhan@khu.ac.kr

TEL : (031)201-2171 FAX : (031)204-6117

* 경희대학교 동서의학대학원 의료공학전공

요소이기도 하지만 비정상적인 조직이거나 자극이 과도한 경우에는 조직의 파괴를 야기하기도 한다.^(9,10) 최근에는 물리적인 자극에 따른 연골세포의 신호전달체계를 포함한 대사 변화에 관하여 많이 보고 되고 있다.^(11,12)

초음파 치료는 다양한 통증질환을 다루는 효과적인 방법 중 하나로 관절염뿐만 아니라 상과염, 건초염, 근육경직 완화, 신경기능회복 등의 치료에도 사용할 수 있다. 초음파의 치료적 접근은 1927년 미국물리학자 Wood와 Loomis⁽¹³⁾에 의하여 그 생물학적 효과가 보고 되고 의료분야에 응용되기 시작하면서 오늘날 중요한 영역으로 자리잡게 되었다. 초음파는 음파의 형태이기 때문에 금속 삽입물이 생체조직 내에 있어도 비교적 안심하고 사용할 수 있다. 즉, 전류에 의한 화상 같은 영향이 거의 없으며 방사선 노출에 대한 위험이 없다. 이러한 이유 때문에 최근에 이르러 그 치료적 가치가 높게 평가되고 있다.

과거에는 $3.0W/cm^2$ 이상의 강도로 변환기를 움직이지 않은 상태로 3분 이상 적용하면 뼈에서 미세갈이 빠져나가고 성장판에 문제가 생기면서 뼈의 성장이 지연된다고 보고 되었다.⁽¹⁴⁾ 그러나 한편으로는 초음파치료를 하면 골세포형성과정을 자극한다는 주장도 있었다.⁽¹⁵⁾ 이와 같이 과거에는 골부위에 초음파를 적용하는 것이 해롭다는 연구가 많았으나 최근 연구에 의하면 골부위에 초음파를 적용할 경우에 골절치유 효과뿐만 아니라 손상된 건(tendon)에도 효과가 있을 것이라고 보고 되고 있다.⁽¹⁶⁾ 이러한 이유는 초음파 치료기구의 발달로 인해 초음파의 주파수나 강도, 그리고 전달 양식을 다양하게 변화시킬 수 있기 때문이라 할 수 있다. 그러나 골부위에 초음파 적용이 치유 효과가 있는지 여부는 아직도 논란의 대상이 되고 있다.

초음파는 치료시 사용되는 강도 및 치료시간의 조절에 의해 다양한 결과를 산출한다. 이를 위하여 강도 및 치료 시간의 조절이 가능한 시스템을 구성하고 각각의 조절을 통해 초음파의 관절염 치료에의 적용성과 초음파에 의해 활성화된 조골세포에서 골형성에 관여한다고 알려져 있는 유전자(BMP 1A, BMP 2B, Osteonectin, MGP)의 발현을 조사하였다. 이를 통해 관절염 치료를 위한 최적의 초음파 특성을 평가하여 초음파를 이용한 관절염 치료 프로그램 개발에 도움이 되고자 하

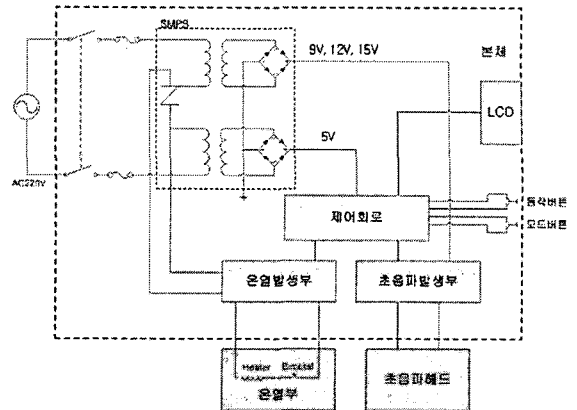


Fig. 1 The illustration of ultrasound treatment system

였다.

2. 실험방법

2.1 초음파 관절염 치료 시스템

본 연구에 사용된 시스템은 크게 초음파 치료부와 온열치료부로 구성되어 있다. 저강도 초음파는 비열(nonthermal), 기계적 효과의 성질을 갖는데 본 치료 시스템에서는 30~70℃까지 온도 조절이 가능한 온열치료부를 설계하여 실제 관절염 환자에 적용 시 초음파 치료와 더불어 온열치료를 병행할 수 있게 구성하였다.

초음파 치료부는 1MHz의 주파수를 가지며, 전원부, 구동부, 제어부, 출력부로 구성되어 있다. 전원부는 SMPS (Switching Mode Power Supply)를 통하여 상용전원 (정격전압 220V, 60Hz)을 각각의 회로에 맞게 변환시켜 전달한다. 구동부에서는 함수발생기(Function generator)가 1MHz의 정확한 주파수 펄스를 만들어 준다. 출력펄스는 카운터에서 조절된 활성주기를 역제신호로 받아 증폭기에서 증폭하여 출력부에 인가한다. 출력부의 카운터는 타이머와 함께 활성주기를 조절하여 초음파의 강도를 제어한다. 증폭된 신호는 제어부의 구동기를 거쳐 변압기(transformer)에서 고전압(high voltage)으로 증폭하여 압전소자의 진동을 유발시키며 초음파의 출력모드를 제어한다.

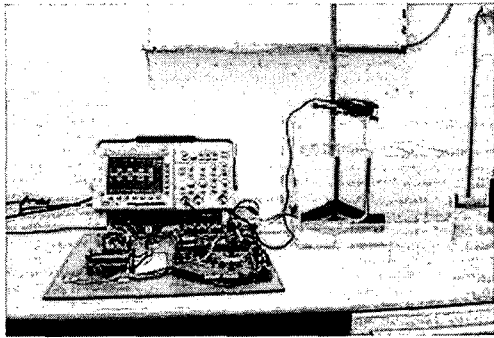


Fig. 2 Calibration device of ultrasound output signal

2.2 초음파 강도 측정

최적의 초음파 특성을 결정하기 위하여 본 실험에서는 3가지 종류의 활성화주기를 사용하였다. 활성화주기는 한 주기에서 초음파의 활성화와 비활성의 비율로 결정이 되며, 1주기 당 초음파의 활성화의 비율을 뜻한다. 본 실험에서 사용된 초음파의 주기(pulse period)는 50msec로 고정한 후 30, 50, 그리고 70%의 활성화주기를 갖도록 조정하였다. 또한 각각의 활성화주기에 0.1, 0.3 그리고 0.5W/cm²의 세 가지 강도를 적용하였다. 초음파의 강도가 높을 경우 초음파에 의해 골세포 형성과정을 파괴시킬 수 있으므로 초음파 치료 시 최대한의 주의를 해야 한다는 주장도 있다.⁽¹⁷⁾ 따라서 정확한 강도를 측정하는 것은 매우 중요한 일이라 할 수 있다.

정확한 강도를 측정하기 위하여 하이드로폰(hydrophone)을 사용한 초음파 출력 측정 시스템을 구축하였다. 음속평단면으로부터의 최대값을 측정하여 공간 피크값을 구하였으며, 오실로스코프상에 나타난 초음파의 실제파형으로부터 활성화요소를 고려하여 시간평균값을 계산하여 SPTA(Spatial Peak Temporal Average) 강도를 측정하였다. SPTA 강도는 다음과 같이 유도되어진다.

$$SPTA \text{ intensity} = \frac{SPTP \text{ intensity}}{\text{duty factor}}$$

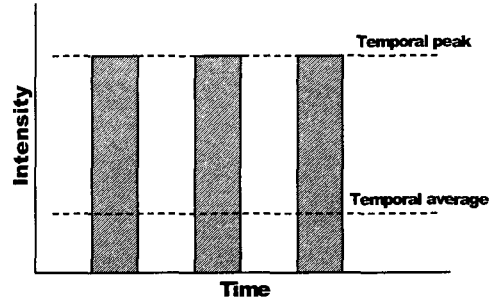


Fig 3. Consideration of temporal factor on pulsed ultrasound output signal

2.3 세포배양 및 초음파 조사

실험에 사용된 세포는 HOS 세포 (Human osteoblast cell, Caucasian, Female)이며 서울대학교 한국세포주은행에서 분양받아 사용하였다. 배양액은 DMEM media를 사용하였고, 각각의 매체에 1% penicilin-streptomycin, 10% fetal bovin serum을 섞어서 사용하여 5% CO₂ 배양기에서 일정기간 배양하였으며, 12 well plate에 1×10⁵ cell/well로 살포하여 37℃ CO₂ 배양기에서 16시간 배양한 후, 제작된 초음파 치료 시스템을 사용하여 배양된 세포에 초음파를 조사하였다. 세포의 오염을 방지하기 위하여 3mm의 직경을 갖는 초음파 horn을 사용하였으며 70% 에탄올로 소독하였다. 초음파 horn은 37℃에서 세포배양 배지 3mL로 채워진 12 well plate 위에 고정하였다. 초음파는 1MHz의 주파수로 0.1, 0.3, 그리고 0.5W/cm²의 강도로 조사하였으며 각 강도별로 활성화주기를 30, 50, 그리고 70%로 설정하여 각각의 세포에 0(control), 30초간 조사하였다. 그 후 다시 3일간 37℃ CO₂ 배양기에서 배양하여 RT-PCR 방법을 사용하여 유전자 발현양상을 측정하였다.

2.4 관련 유전자 발현 변화 양상 측정

초음파에 유전자 변화 양상을 알아보기 위하여 BMP 1A, BMP 2B, MGP 그리고 osteonectin의 유전자 발현을 측정하였다. BMP(Bone Morphogenetic Protein)는 골 형태 발생 단백질이며,

Osteonectin은 뼈의 단백질 성분으로 알려져 있다. 또한 MGP(Matrix GLA Protein)은 비타민 K에 의존적인 뼈 단백질로 뼈의 형성과 동맥의 석회화와 관련 있는 단백질이다.

Total RNA는 TRIzol™ (GIBCO BRL, MD, USA)을 사용하여 세포를 추출하였다. 분리된 total RNA는 분광분석기로 260nm에서 정량한 후 -80°C에서 보관하였다.

2 µg의 최종 RNA를 65°C에서 15분 동안 변성시킨 후, 200U moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (GIBCO BRL, MD, USA)을 이용하여 최종 부피가 25 µl인 반응 혼합액에서 역전사 반응을 수행하여 cDNA 혼합물을 얻었다. cDNA는 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.4 mM의 각 primer와 0.5 U Taq polymerase (TaKaRa, Shiga, Japan)을 포함한 20 µl의 반응 혼합액에서 PTC-100 Programmable Thermal Controller (MJ Research, Waltham, MA, USA)를 사용하여 증폭되었다. 각각의 primer는 GenBank에 기록된 염기서열을 토대로 적당한 부위를 선택하여 제작하였으며 각각의 염기서열은 아래와 같다.

- ① GAPDH : glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
forward : 5'-GGT GAA GGT CGG AGT CAA CGG-3'
reverse : 5'-GGT CAT GAG TCC TTC CAC GAT-3'
- ② BMP 1A : bone morphogenetic protein 1A
forward : 5'-GGT ACG ACT ATG TGG AGG TCC-3'
reverse : 5'-GCT GCT CTC ACT GTG CCC GTC-3'
- ③ BMP 2B : bone morphogenetic protein 2B
forward : 5'-AAT AAG AAC TGC CGC CGC CAC-3'
reverse : 5'-CAG CGG CAC CCA CAT CCC TCT-3'
- ④ MGP : matrix GLA protein
forward : 5'-ATG AAG AGC CTG ATC CTT CTT-3'
reverse : 5'-TCA TTT GGT CCC TCG GCG CTT-3'
- ⑤ Osteonectin
forward : 5'-GAT GAG GAC AAC AAC CTT CTG AC-3'
reverse : 5'-TTA GAT CAC AAG ATC CTT GTC GAT-3'

각각의 증폭반응의 조건은 다음과 같다. GAPDH는 58°C 30초, 58°C 30초, 58°C 30초의 반응주기를 30회 반복하였고 BMP 1A, BMP 2B, 그리고 Osteonectin은 68°C 30초, 68°C 30초, 68°C 30초의 반응주기를 35회 반복하였으며 MGP는 59°C 30초, 59°C 30초의 반응주기를 40회 반복하였

다. 증폭된 DNA는 1.5% agarose 겔에서 전기 영동하여 확인하였다. 겔 상의 밴드강도는 ImageMaster TotalLab (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA)을 이용하여 분석하였고 내부 표준물질로 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)를 사용하여 유전자의 정량적 발현 수준을 보정하였다.

3. 결과

3.1 활성화주기 30%의 초음파로 자극하였을 경우 활성화주기 30%인 초음파를 각각 강도에 따라 조사하고 3일간 배지에서 배양한 후 mRNA의 발현을 측정 비교한 결과 BMP 1A와 osteonectin은 대조군에 비하여 크게 변화하는 양상을 보이지 않았다. 하지만 BMP 2B의 경우 0.3W/cm²의 강도에서 대조군에 비해 발현율이 1.24배까지 증가하였으며 0.1W/cm²과 0.5W/cm²의 강도에서도 각각 1.17배, 1.16배 증가하였다.

MGP의 경우 특이하게 모든 강도에서 발현율이 감소하였으며 강도가 높아짐에 따라 큰 폭으로 감소하였다(Fig 4).

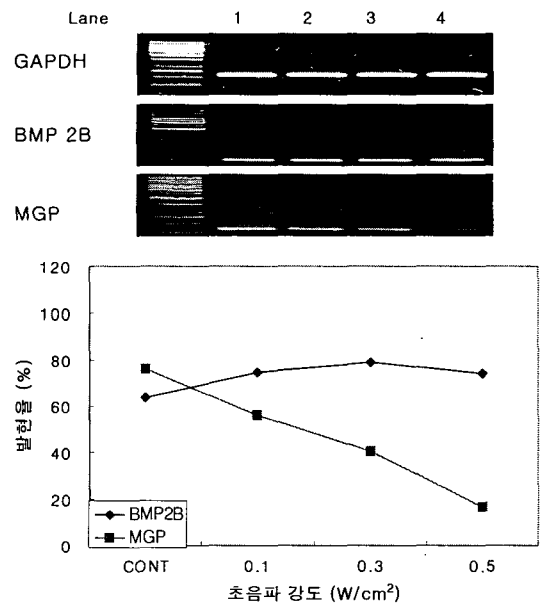


Fig. 4 The BMP 2B and MGP manifestation on 30% of duty cycles.

Lane 1: control, Lane 2: 0.1W/cm²,
Lane 3: 0.3W/cm², Lane 4: 0.5W/cm²

Table 1 The manifestation ratio on 30% of duty cycles

Intensity Mani- -festation ratio(%)	Control	0.1W/cm ²	0.1W/cm ²	0.1W/cm ²
BMP2B	63.8	74.8	79.1	74.3
MGP	76.2	56.4	40.4	16.4

Table 2 The manifestation ratio on 50% of duty cycles

Intensity Mani- -festation ratio(%)	Control	0.1W/cm ²	0.1W/cm ²	0.1W/cm ²
BMP2B	63.8	66.7	64.5	60.2
MGP	76.2	5.3	82.4	100.8

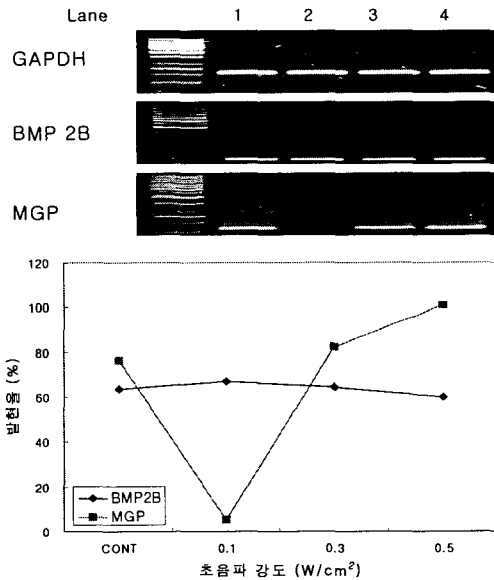


Fig. 5 The BMP 2B and MGP manifestation on 50% of duty cycles

3.2 활성화주기 50%의 초음파로 자극하였을 경우 50%의 활성화주기를 갖는 초음파를 조사한 실험군에서는 BMP 1A, BMP 2B, osteonetin 모두에서 mRNA의 발현이 대조군과 비슷한 수준으로 나타나며 거의 차이를 보이지 않았으며, 강도가 높아짐에 따라 각각의 유전자 발현율이 감소하는 현상을 나타내었다. BMP 1A의 경우 0.1W/cm²과 0.3W/cm²의 강도에서 다소 증가함을 관찰하였으나 유의성은 없다고 판단된다. MGP의 경우 0.1W/cm²의 강도에서는 거의 발현이 나타나지 않다가 0.3W/cm²의 강도에서 증가하면서 0.5W/cm²의 강도에서는 대조군에 비해 발현율이 1.32배나 높아짐을 확인할 수 있었다(Fig 5).

Table 3 The manifestation ratio on 70% of duty cycles

Intensity Mani- -festation ratio(%)	Control	0.1W/cm ²	0.1W/cm ²	0.1W/cm ²
BMP1A	82.1	78.6	70.9	53.1
MGP	76.2	88.5	86.6	105.7

3.3 활성화주기 70%의 초음파로 자극하였을 경우 70%의 활성화주기의 경우 BMP 1A는 모든 강도에서 대조군에 비해 발현이 낮게 나타나고 있으며 강도가 높아짐에 따라 발현율이 점차 낮아짐이 확인되었다. 특히 0.5W/cm²의 강도에서는 대조군에 비해 1.55배나 발현율이 낮아졌다.

BMP 2B의 경우 대조군에 비해 상대적으로 높은 발현율을 보이고는 있으나 BMP 1A와 마찬가지로 강도가 높아짐에 따라 발현율이 다소 감소하는 경향을 나타낸다. osteonetin의 경우도 대조군과 비교하여 비슷한 수준의 발현율을 보이고 있지만 다소나마 전체 강도에서 대조군에 비해 낮은 발현율을 보이고 있으며 0.5W/cm²의 강도에서는 감소율이 증가함을 확인할 수 있다.

MGP의 경우 다른 유전자와 대조적으로 강도가 높아짐에 따라 MGP의 발현율은 증가하는 특이한 경향을 보이고 있는데 0.5W/cm²의 강도에서 대조군보다 1.39배 증가한 현상을 확인하였는데 이는 MGP 전체에서 가장 높은 발현율을 나타냈다(Fig 6).

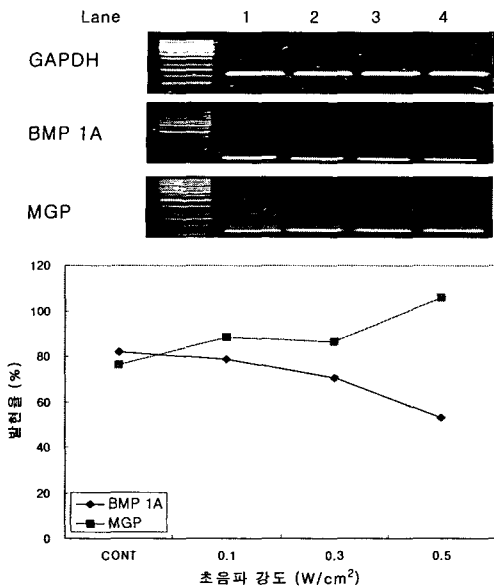


Fig. 6 The BMP 2B and MGP manifestation on 70% of duty cycles

4. 토 의

치료용 초음파는 일반적으로 고에너지 고강도 초음파와 저강도 초음파로 나눌 수 있다. 고강도 초음파는 조직에 의해 흡수되어 조직을 가열시키고 조직을 파괴하는 성질이 있고,⁽¹⁸⁾ 저강도 초음파는 비열, 기계적 효과로 파장 및 반사파 형태로 영상을 나타내는 성질을 보고한 바 있다.⁽¹⁹⁾ 치료용 초음파에서 저강도의 기계적 효과는 인접한 세포의 세포막 투과성을 변화시켜서 세포 안으로 Ca²⁺ 이온을 유입시킴으로써, 세포 내의 Ca²⁺ 농도를 증가시키고 이러한 세포 내의 변화는 세포의 움직임이나 성장요소 합성을 증가시켜 상처 치유에 이로운 영향을 준다고 보고한 바 있다.⁽²⁰⁾

관절 연골은 혈관과 신경의 분포가 없는 조직이므로 스스로 재생이 불가능하며, 재생을 유도하는 치료법이 현재까지 알려져 있지 않다. 최근 저 강도 초음파 자극이 골 형성과 골질의 치유를 촉진에 효과적이라는 결과가 보고 되고 있으며, Ryaby^(21,22) 등은 분화된 연골과 골세포의 칼슘흡수를 증가시킨다고 하였다. 이들 연구는 세포 활성도에 초음파가 영향을 줄 수 있다는 사실을 보여주고 있으며, 초음파가 치유속도에 영향을 준

다면 이에 관여하는 특이 유전자 발현에 영향을 줄 수 있음을 시사하고 있다. 이에 본 연구에서는 저강도 초음파와 자극이 조골세포에서 골형성 관련 유전자의 발현에 주는 영향을 확인하고 조골세포의 활성을 통해 연골세포의 재생을 유도함으로써 초음파의 관절염 치료 가능성을 확인하고자 하였다.

초음파는 강도와 전달양식의 변화에 따라 인체에 미치는 영향이 달라지기 때문에 본 연구에서는 0.1, 0.3, 그리고 0.5W/cm²의 저강도 초음파를 사용하였으며 각 강도에 따라 세 가지의 종류의 duty cycle을 사용하여 총 9가지 종류의 다양한 특성의 초음파를 사용하여 이를 통해 초음파가 유전자 발현에 미치는 영향을 분석하였다.

본 연구에서는 골 형성과 관련되어 있다고 알려져 있는 BMP 1A, BMP 2B, osteonectin, MGP의 발현에 대해서 관찰하였으며, 그 결과 BMP 1A와 osteonectin의 경우는 초음파의 강도나 duty cycle 변화에 거의 영향을 받지 않았으며 duty cycle 70%인 경우 강도가 높아짐에 따라 발현율이 저하되는 현상을 확인할 수 있었다. 그러나 BMP 2B에 대해 duty cycle 30%인 경우 0.3W/cm²의 강도에서 대조군에 비해 1.24배 높은 발현율을 보였으며, MGP의 경우 50%와 70% 활성주기에서 0.5W/cm²의 강도에서 각각 1.32배, 1.39배의 발현율을 증가를 보였다. 이를 통해 각각의 유전자가 발현되는 조건이 다를 수 있었다. Huang⁽²³⁾ 등과 Parvizi⁽²⁴⁾ 등에 의하면 동물 실험 결과 초음파에 의한 활성화된 연골세포에서 골형성 유전자 (TGF-β, osteocalcin, alkaline phosphatase, α1(I)-procollagen gene)의 발현보다는 단백질이나 제 2형 교원질의 발현을 상승시켜 연골의 구조를 유지하고 있는 교원질망을 보호함으로써 연골의 파괴나 분해를 방지하는 효과가 있다고 보고하였다. 그러나 본 연구결과 조골세포에서 골 형성 유전자의 경우 특정한 초음파의 전달양식이나 강도에 영향을 받는 것으로 나타났다. 이는 초음파에 의해 조골세포가 활성화 되었다는 것을 의미하며, 활성화된 조골세포가 연골세포의 재생에 영향을 끼쳐 관절염 치료에 효과적인 치료방법이 될 수 있음을 의미한다고 사료된다.

본 연구에서는 사람의 조골세포에 직접 초음파를 처리하여 초음파의 세기와 그에 따른 골 형성 관련 유전자의 발현을 관찰하였다. 저강도 초음

파가 강도 및 duty cycle에 따라 대조군에 비하여 발현율이 높게 나타나는 유전자가 있음이 관찰되어 초음파의 관절염 치료에 대한 적용성을 확인하였지만, 초음파가 유전자 발현에 어떠한 경로를 통하여 관여하고 있는지에 대한 연구는 이루어지지 않았다. 또한 유전자 발현과 더불어 각각의 단백질 합성 수준에서의 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 초음파 자극에 의한 일련의 반응이 일어나는 세포 내 기전을 자세히 이해하기 위해서는 분자생물학적인 수준의 연구와 신호전달체계에 대한 연구가 병행되어야 할 것이다. 그리고 생체 내 실험 및 임상에 적용하기 위해서는 골조직의 종류 및 두께에 따른 강도와 duty cycle에 대한 실험이 필요하다. 일반적으로 치유 및 재생과정에서는 여러 세포들이 모여들고 증식하게 되며, 이러한 과정에서 필요한 여러 가지 물질들을 분비한다.⁽²⁵⁾ 따라서 본 연구를 바탕으로 관절염 치료시기에 알맞은 특성의 초음파를 사용한다면 관절염 치료뿐만 아니라 골다공증 치료 등에 있어 골 조직 재생에 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료된다.

5. 결 론

(1) BMP 1A와 osteonectin은 초음파의 강도나 활성주기변화에 거의 영향을 받지 않았다.

(2) BMP 2B는 활성주기 30%, 0.3W/cm²의 특성의 초음파에서 대조군에 비해 1.24배 높은 발현율을 보였다.

(3) MGP의 경우 70% 활성주기, 0.5W/cm²의 강도에서 1.39배의 발현율을 증가를 보였다

이상과 같은 결론은 관절염 치료 및 골다공증 치료에 있어 초음파를 적용하는데 많은 도움이 될 것으로 사료된다.

후 기

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R05-2003-000-11163-0) 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

(1) Lawrence, R.C., et al., 1998, "Estimates of the

Prevalence of Arthritis and Selected Musculoskeletal Disorders in the United States," *Arthritis Rheum*, Vol. 41, No. 5, pp. 778~799.

(2) Menche, D.S., Fenkel, S.R., Blair B., Watnik, N.F., Toolan, B.C., Yaghoubian, R.S., and Pitman, M.I., 1996, "A Comparison of Abrasion Burr Arthroplasty and Subchondral Drilling in the Treatment of Full-Thickness Cartilage Lesions in the Rabbit," *Arthroscopy*, Vol. 12, pp. 280~286.

(3) Aston, J.E., Bentley G., 1986, "Repair of Articular Surfaces by Allograft of Articular and Growthplate Cartilage," *J Bone Joint Surg*, Vol. 68B, pp. 29~35.

(4) Bovic V., 1996, "Arthroscopic Osteochondral Autograft Transplantation in Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: A Preliminary Clinical Study Knee Surg," *Sports Traumatol Arthroscopy*, Vol. 3, pp. 262~264.

(5) Brittberg M., Lindahl A., Nilsson A., Ohlsson C., Isaksson O. and Peterson L., 1994, "Treatment of Deep Cartilage Defects in the Knee With Autologous Chondrocyte Transplantation," *New England J Med*, Vol. 331, pp. 889~895.

(6) Mayhew, T.A., Williams, G.R., Senica, M.A., Kuniholm G. and Du Moulm, G.C., 1998, "Validation of a Quality Assurance Program for Autologous Cultured Chondrocyte Implantation," *Tissue Eng*, Vol. 4, pp. 325~334.

(7) Minas T., 1998, "Chondrocyte Implantation in the Repair of Chondral Lesion or the Knee; Economics and Quality of Life," *Am J Orthop*, Vol. 27, pp. 739~744.

(8) Chu, C.R., Coutts, R.D., Yoshioka M., Harwood, F.L., Monosov, A.Z. and Amiel D., 1995, "Articular Cartilage Repair Using Allogenic Perichondrocyte-Seeded biodegradable Porous Polyactic Acid (PLA); A Tissue-Engineering Study," *J Biomed Mater Res*, Vol. 29, pp. 1147~1154.

(9) Setton, L.A., Mow, V.C. and Howell, D.S., 1995, "Mechanical Behavior of Articular Cartilage in Shear is Altered by Transection of the Anterior Cruciate Ligament," *J Orthop Res*, Vol. 13, pp. 473~482.

(10) Setton, L.A., Mow, V.C., Muller, F.J., Pita,

- J.C. and Howell, D.S., 1997, "Mechanical Behavior and Biochemical Composition of Canine Knee Cartilage Following Periods of Joint Disuse and Disuse with Remobilization," *Osteoarthritis and Cartilage*, Vol. 5, pp. 1~16.
- (11) Mow, V.C., Wang, C.C. and Hung, C.T., 1999, "The Extracellular Matrix Interstitial Fluid and Ion as a Mechanical Signal Transducer in Articular Cartilage," *Osteoarthritis and Cartilage*, Vol. 7, pp. 41~58.
- (12) Wang N., Butler, J.P. and Ingber, D.E., 1993, "Mechanotransduction Across the Cell Surface and Through the Cytoskeleton," *Science*, Vol. 260, pp. 1124~1127.
- (13) Wood, R. W. and Loomis, A. L., 1927, "The Physical Effects of High-Frequency Sound Waves of Great Intensity," *Phil. Mag*, Vol. 7, pp. 417~433.
- (14) Baldes, E.J., Herrick, J.F., Stroebelm, C.F., 1958, "Biologic Effects of Ultrasound," *Am J Phys Med*, Vol. 37, pp. 111.
- (15) Nyborg, W.L., Ziskin, M.C., 1985, "Biological Effects of Ultrasound," *Churchill Livingstone*, New York, pp. 9.
- (16) Enwemeka, C.S., Rodriguez O., Mendos S., 1990, "The Biomechanical Effects of Low-Intensity Ultrasound on Healing Tendons," *Ultrasound Med Biol*, Vol. 16, pp. 801~807.
- (17) Cook, S.D. et al., 1997, "Acceleration of Tibia and Distal Radius Fracture Healing in Patients who Smoke," *Clin Orthop*, Vol. 337, pp. 198~207.
- (18) Burdette, E.C., Svenson, G.K., Lu X-Q et al., 1994, "Ultrasound Hyperthermia System for Breast Cancer Treatment, 1994 Ultrasound Symposium," *IEEE*, pp. 1873~1877.
- (19) Suslick, K.S. ed: Ultrasound, 1998, "It's Chemical, Physical, and Biological Effect," *VCH Publishers*, New York.
- (20) Dinno M., Dyson M., Young S. et al., 1989, "The Significance of Membrane Changes in the Safe and Effective Use of Therapeutic and Diagnostic Ultrasound," *Phys Med Biol*, Vol. 34, pp. 1543~1552.
- (21) Ryaby, J.T., Bachner, E.J., Bendo J., et al., 1989, "Low Intensity Pulsed Ultrasound Increases Calcium Incorporation in Both Differentiating Cartilage and Bone Cell Cultures," *Trans Orthop Res Soc*, Vol. 14, pp. 15.
- (22) Ryaby, J.T., Matthew J., Duarte-Alves P., 1992, "Low Intensity Pulsed Ultrasound Affects Adenylate Cyclase Activity and TGF- β Synthesis in Osteoblastic Cells," *Trans Orthop Res Soc*, Vol. 17, pp. 590.
- (23) Huang, M.H., Ding, H.J., Chai, C.Y., Huang, Y.F., Yang, R.C., 1997, "Effects of Sonication on Articular Cartilage in Experimental Osteoarthritis," *J Rheumatology*, Vol. 24, pp. 1978~1984.
- (24) Parvizi J., Parpura V., Kinnick, R.R., Greenleaf, J.F., Bolander, M.E., 1999, "Low Intensity Ultrasound Stimulates Proteoglycan Synthesis in Rat Chondrocytes by Increasing Aggrecan Gene Expression," *J Orthop Res*, Vol. 17, pp. 488~494.
- (25) Ross R., 1968, "The Fibroblasts and Wound Repair," *Biol Rev*, Vol. 43, pp. 51~96.