

가토의 대퇴골에서 이식한 자가골의 체외 방사선 조사에 따른 조직 형태학적 변화

고신대학교 의학부 정형외과학교실

김재도 · 임 언 · 사석진

Histomorphological Effects of Extracorporeal Irradiation on Autografted Cortical Bone of Femur in Rabbits

Jae Do Kim, M.D., On Lim, M.D., Sok Jin Sa, M.D.

*Department of Orthopaedic Surgery, Kosin Medical Collage,
Pusan, Korea*

- Abstract -

Background Skeletal reconstruction is an inevitable procedure when limb sparing operation is indicated in the treatment of the malignant bone tumor of extremities. After a bone tumor is widely resected, several procedures have been used such as tumor prosthesis, allograft, allograft-prosthesis composite, ordinary autograft, recycling autograft (autoclave, low heat treated, extracorporeal irradiated) to fill the large osseous defect.

Methods The rabbits were divided into three groups according to the irradiation dose given to the separated femoral segment ; 0 (control), 20, and 50 Gy, respectively. A cortical bone segment of the unilateral femoral diaphysis in rabbit was resected, irradiated extracorporeally, and reimplanted immediately as an autograft, and then examined over a 8-week period by plain roentgenography, bone scan, gross and histologic findings.

Results There were no definite difference among three groups. ; The osteotomy site was grossly stable with external callus formation. On plain roentgenography, the gap of osteotomy site was disappeared with abundant external callus formation. On bone scan, the uptake of radioactive isotope was increased in incorporated site compared with contralateral one. Histologically, the resorption of the graft began on the outer surface of cortex. New bone formation was confined around the osteotomy sites. It was much more prominent on the periosteal side than in the endosteal side in both the control and irradiated groups.

Conclusion These results suggest that bone union is not affected by irradiation of 20 Gy to 50 Gy as used in this study. Therefore, extracorporeal irradiated autogenous bone graft can be used as a limb preserving procedure for the malignant bone tumor.

Key Word : Autograft, Extracorporeal irradiation, Histomorphologic change.

서 론

사지의 악성 골종양의 치료에 있어서 과거에 기본적인 치료 방법이었던 절단술에 대비되는 개념으로, 사지 보존술이 보편화되기 시작한 것은 불과 20년이 되지 않는다.¹⁾ 최근 들어서 사지 보존술의 발전을 가능하게 한 것은 무엇보다도 자기공명영상과 같은 영상 진단 기술과 항암 화학 요법, 방사선 요법 등 보존적 치료 방법들의 발전에 기인하였다. 종양의 파급 정도를 3차원적으로 정확하게 파악할 수 있게 되고, 새로운 항암제들과 술전 화학 요법과 같은 치료 방법의 개발은 결국 골관절 악성 종양 환자의 치료에 있어서 절제 범위를 줄이고, 기능을 최대한 유지하면서 생존률을 높이는 데 결정적인 역할을 했다고 할 수 있다.²⁻⁵⁾ 사지 보존술은 광범위한 종양의 절제 후 남게된 골 결손과 연부 조직을 재건하는 순서로 이루어진다. 골 결손부의 재건을 위해 여러 가지 다양한 수술 방법들이 시도되고 있는데, 종양 대치물로 대체하는 방법, 골관절 또는 분절성 동종골로 이식하는 방법, 동종골-종양 대치물의 복합체를 이용하는 방법, 종양 절제 후 골이식, 또는 금속

내고정물이나, 골 시멘트 등을 보조적으로 사용하여 관절 부위를 유합하는 방법, 단순 자가골 이식술, 재활용 자가골 이식술 등이 이용되고 있는데, 이 중 재활용 자가골 이식술에는 가압 증기소독, 저온 열처리, 체외 방사선 조사 후 시행하는 자가골 이식술 등이 있다.⁶⁻¹⁰⁾

체외 방사선 조사 후 시행하는 자가골 이식술은 종양에 의한 골 파괴가 심하지 않은 골 종양에서 광범위 절제 후 가열 처리 대신에 5000rad 정도의 대량의 방사선을 조사한 후 재삽입하는 방법이다. 가열처리만큼 널리 사용되지는 않지만 자가골 및 관절을 사용하여 해부학적 형태를 유지한 상태로 재건할 수 있으며, 관절연골, 건, 근막 등 연부 조직을 부착한 채로 조사한 후 재삽입 할 수 있으므로 재건 수술이 훨씬 용이하다는 장점이 있다.¹¹⁾ 또한 동종골 이식술시 발생하는 감염, 질병의 전파나 면역반응을 피하고, 종양 대치물 삽입술시 발생하는 해리, 파손, 마모 등의 합병증이 없으며, 치료 범위내의 방사선량으로는 골의 세포외적 구조는 영향을 받지 않아 종양이 침범하지 않은 골조직의 초기 역학적 특성에 영향이 없다는 것이다.¹²⁻¹⁶⁾ 본 실험에서는 가토의 대퇴골 간부 피질골을 부분 절제하여 임상에서 사용하

는 선형가속기로 0, 20, 50Gy 등의 세 군으로 나누어 각각의 방사선량을 일시에 체외 조사하고 재이식하는 재합용 자가골 이식술을 시행한 후 일정 기간이 경과하여 육안, 단순 방사선, 골 스캔 및 조직학적 방법으로 각 군간의 골유합 정도와 형태학적 변화를 비교 관찰하여, 악성 골종양의 사지 보존술의 한 방법인 체외 방사선 조사 후 자가골 이식술의 임상적 적용 및 결과를 예측 하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

생후 7개월 된 체중 2-3kg의 가토 15마리를 실험 대상으로 하였으며, 각각 5마리씩 실험군과 대조군으로 분류하였다. 실험군은 20Gy군과 50Gy군으로 나누어 대퇴골 간부를 20mm 간격으로 부분 절제하여 각각 체외 방사선 조사 후 자가골 이식술을 시행하였으며, 대조군은 방사선 조사를 하지 않고 동일한 방법으로 재건하였다.

2. 실험 방법

1) 수술 방법

각 군의 가토에 ketamine(90mg/kg)과 lumbun(100mg/kg)을 근육 내 주사하여 전신 마취를 한 다음 양와위로 고정하고 대퇴부를 소독한 후 대퇴부 중상을 중심으로 약 7cm 종절개하였다. 대퇴 사두근을 절개하고 대퇴 동맥 및 주위 신경 손상을 피하며 대퇴 간부를 노출시켰다. 대퇴골은 슬관절로 부터 상방으로 3cm에서 약 20mm의 크기로 Gigli saw를 이용하여 절골하였다. 가급적 주위의 연부 조직 손상을 피하였고 골막은 절제하지 않았다. 대조군은 절골된 골을 다시 정위치 시켜 0.062 inch K-강선을 이용하여 대퇴골 원위부 내과 및 외과에서 후향적 골수강 내고정술을 시행하였고, 실험군인

방사선 체외 조사군은 절골된 20mm 가량의 대퇴골 간부를 생리식염수로 적신 거즈로 잘 둘러싼 후 생리식염수가 가득찬 투명한 플라스틱 용기에 넣고 즉시 임상에서 사용하는 선형가속기로 20Gy와 50Gy를 각각 일시에 방사선 조사 후 대조군과 같은 방법으로 골수강 내고정술을 시행하였다.

생리식염수와 과산화수소수로 수술 부위를 소독하고 출혈 부위를 지혈하고, 연부 조직을 vicryl 2.0 이나 nylon 3.0 등을 이용하여 봉합하였다. 압박붕대로 창상을 처리하여 부종 및 혈종의 형성을 방지하였다. 모든 수술 과정을 무균 조작하였고, 사용한 기구는 소독된 일반 수술 기구를 사용하였다. 감염을 예방하기 위하여 항생제 신세프(신풍제약, 세푸록심 나트륨) 3.5mg/kg을 1주일간 근육 주사하였다.

2) 단순 방사선 검사

각 군은 절골 부위를 재고정 직후와 술후 8주에 각각 단순 방사선 전후면 및 측면 사진을 촬영하여 골유합 정도를 관찰하였다.

3) 골 주사 검사

각 군은 술후 8주째 가토를 양와위로 고정하고 Tc-99m MDP 골 동위원소를 정맥 주사하여 절골 부위의 유합 정도를 수술을 시행하지 않은 견측과 비교하였는데, SOPHY r-camera (No. 1195)를 사용하여 촬영하였다.

4) 육안적 관찰

술후 8주째 각 군간의 골유합 정도를 관찰하기 위해 가토를 양와위로 고정하고 이전의 절개선을 따라 피부를 종절개 하고, 심부 근육을 절개하여 유착된 조직을 박리한 후 골절 부위를 노출시켰다. 이전에 골수강에 내고정된 K-강선을 제거한 뒤 절골 부위의 안정성을 확인하였고 골유합의 범위를 육안적으로 관찰하였다.

5) 조직학적 관찰

가토의 대퇴골에 이식한 자가골의 유합 부위

를 포함하여 원, 근위부로 각각 20mm의 정상골 조직을 채취하여 10% buffered formalin 고정 후 hydrochloric acid(DE-CAL RAPID solution[®])로 골조직의 칼슘 성분을 제거하였다. 물로 충분히 세척하고 파라핀을 포매한 후 통상적인 hematoxylin & eosin(이하 H&E) 염색을 하여 광학현미경으로 절골 부위의 골유합 소견과 이식한 골조직의 조직학적 변화를 관찰하였다.

결 과

1. 육안적 관찰

가토의 대퇴골 절골술 및 분절골의 체외 방사선 조사 후 자가골 이식술을 시행한지 8주째 육안적 소견상 실험군이나 대조군 모두에서 골

이식 부위의 불유합이나 불안정성은 보이지 않았고 이식한 대퇴골의 절골 부위에서 가골을 통한 견고한 골유합 소견이 보였으며, 각 군간의 골유합 정도에 차이점을 발견할 수 없었다.

2. 단순 방사선 검사

체의 방사선 조사 후 자가골을 이식한지 8주째 전후방 및 측면 단순 방사선 사진상 실험군이나 대조군 모두 대퇴골의 절골 부위에서 골편간의 간격은 거의 소실되고 골 가교가 형성되었으며 가골을 통한 골유합 소견이 관찰되었다(Fig. 1). 대조군과 비교하여 실험군에서 가골형성과 골절 간격의 소실이 다소 지연되는 것처럼 관찰되었으나 각 군간의 특이한 차이점을 발견할 수 없었다.

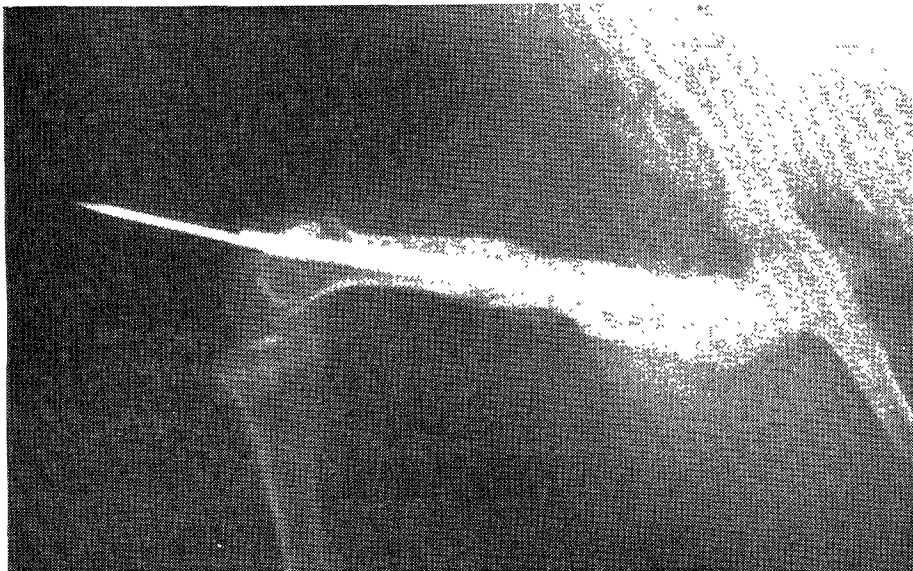


Fig. 1. The gap of the irradiated autograft site has disappeared and callus formation at 8 weeks after 50Gy irradiation

3. 골 주사 검사

술후 8주째 촬영한 골 주사 검사상 각 군 모두 견착인 반대측 대퇴골에 비하여 이식한 대

퇴골의 간부 절골 부위에서 방사선 동위 원소의 강한 섭취 증가 소견을 보였고 섭취율의 증가는 다양하게 나타났으나 각 군간의 차이점은 발견할 수 없었다(Fig. 2).

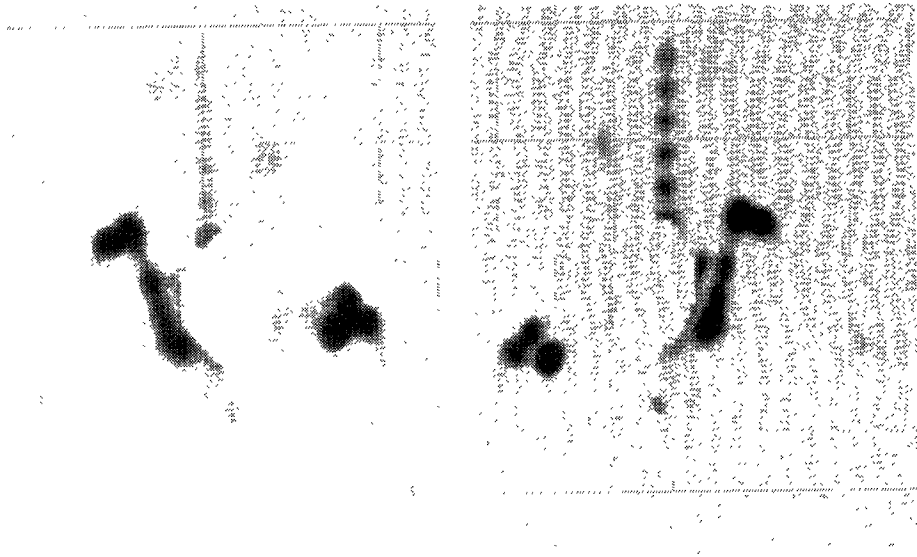


Fig. 2. Increased uptake of the incorporation site at 8 weeks in 50Gy irradiation.



Fig. 3. Bone incorporation of osteotomy site at 8 weeks in 20Gy irradiation.(x20)

4. 조직학적 관찰

술후 8주째 채취한 조직 소견상 모든 군에서 절골 부위에 혈종의 기질화가 진행되고 있으며, 섬유조직, 연골 및 직골 등으로 구성된 가골을 형성하면서 골유합이 진행되고 있음을 보여주고 있다. 이식한 자가골의 골세포들은 모든 군에서

비슷한 분해 과정을 보이는데 대부분의 골세포가 괴사되어 비어있는 골수강이 관찰되고 있으며, 작고 농축되어 있는 핵을 가진 골세포들이 관찰되었다. 실험군의 골수강 내에는 골수 조직의 섬유화 및 골수 내 조혈 세포들의 괴사가 관찰되었으며 일부 절골 부위에 섬유성 조직이 증식되어 골유합이 지연되는 곳도 있었다. 그러나 대조군

에서는 골수강 내의 망상구조가 비교적 잘 유지되었고 골수 조직의 재생이 이식골 주변부에서부터 시작되고 있음을 보여 주었다. 각 군 모두 정상적인 부위의 골조직에서 골세포를 포함한 골기질이 이식된 피질골의 외측면에서부터 골 재흡수를 하였다. 절골 부위의 주변으로 가골을 통한 신생골이 형성되고 있었는데 골내막측 보다는 골외막측에서 더 현저함을 보였다. 대조군에서 풍부한 가골 형성이 관찰되었으나 실험군에서는 다

소 빈약한 형성을 보였다. 그러나 두 군간의 특이한 차이점은 없었다. 이상의 조직학적 소견을 요약하면 실험군에서 골수강의 피사나 재형성 과정 및 가골 형성의 정도에 있어서 대조군과 약간의 차이점을 보였을 뿐 각 군간의 골유합의 전반적인 진행은 유사하였으며, 20Gy군과 50Gy군간에서도 명확한 차이점을 발견할 수가 없었다 (Fig. 3,4,5,6).



Fig. 4. Bone incorporation of osteotomy site at 8 weeks in 20Gy irradiation.(x100)



Fig. 5. Bone incorporation of osteotomy site at 8 weeks in 50Gy irradiation.(x20)

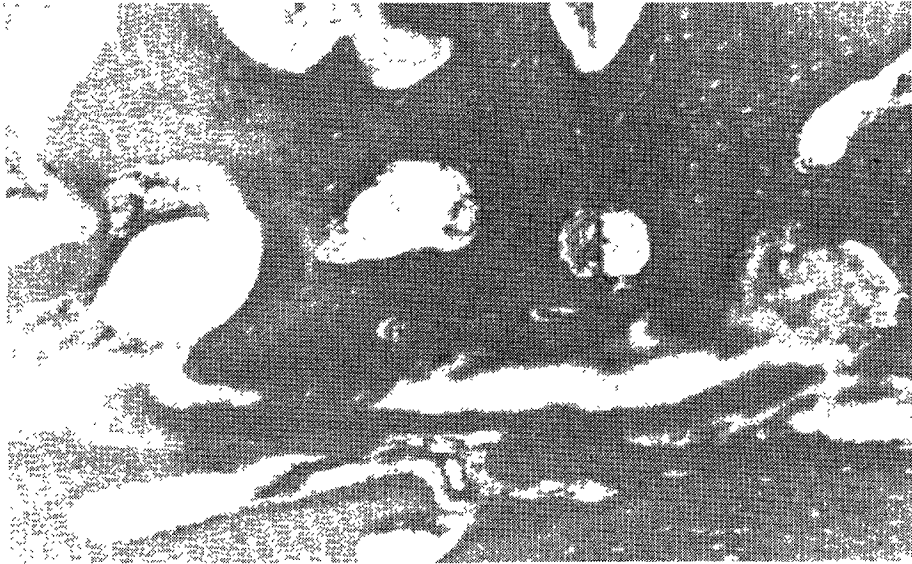


Fig. 6. Bone incorporation of osteotomy site at 8 weeks in 50Gy irradiation.(x100)

고 찰

최근 악성 골종양의 치료에 있어서 방사선학적 영상 기술의 발전과 항암 화학 요법, 방사선 요법 등의 보조 요법의 발달로 절단 및 이단술 보다는 사지 보존술이 많이 시행되고 있다.²⁻⁵⁾ 그러나 사지 보존술은 광범위한 종양의 절제 후 남게된 골 결손과 연부 조직을 재건해야 하는 문제가 있어 이 골 결손을 재건하기 위해 여러 가지 방법이 연구되어 왔다.

그 중 방사선 조사 후 시행하는 자가골 이식술은 종양 대체물 삽입술시 나타나는 해리, 마모, 골절 등의 합병증이 없고, 동종골 이식술의 높은 감염율과 질병의 전파를 피할 수 있는 장점이 있어 현재 많은 연구가 진행되고 있다.^{6,11-19)}

방사선 조사량과 종양 세포의 생존 여부에 대한 실험에서 종양 세포를 완전히 사멸시키면서 동시에 정상 골조직에 생역학적 손상을 최소화시킬 수 있는 방사선 조사량은 아직도 연구되고 있으나 본 실험은 Kotoura 등²⁰⁾이 수술 중 50-100Gy 방사선 조사시 종양 세포의 장기적이고 완벽한 국소 재발 방지를 보고한 결과

를 인용하여 수술 중 절제한 가토의 대퇴골 간부 피질골을 선형가속기로 0, 20Gy, 50Gy의 방사선량을 세 군으로 나누어 각각 일시에 체외 조사하여 재이식술을 시행하였다.

다양한 골이식의 종류들 중에서 신선 자가골 이식술이 가장 빠른 골유합을 보이는데, 자가골이 정상 유합이 되는 과정에 영향을 주는 요소로는 첫째, 이식골에서 기원한 골원 세포들과 둘째, 골기질 내에 함유된 골형성 단백질(bone morphogenic protein) 및 전환 성장 인자(transforming growth factor) 등과 같은 국소 성장 인자들과 셋째, 골전도와 압전 효과(piezoelectric properties)와 같은 골기질의 구조적 특성에 기인한다고 한다.¹⁶⁾

방사선 조사가 종양 세포를 사멸시키고 골조직의 피사를 유발하는 기전은 독성 유리 라디칼을 생성하여 종양 세포, 골원 세포 및 조혈 세포의 유전자에 치명적인 손상을 주고 동시에 혈관 조직에 손상을 주어 후기 허혈성 조직 피사를 유발한다고 알려져 있는데,^{15-17,21)} 살아있는 세포에 대한 50Gy 혹은 그 이상의 단일 방사선 조사에 대한 영향은 주로 DNA의 손상에 기인하여 방사선 조사된 대부분의 세포에서 죽거나

적어도 분화 능력이 소실되며, 결국에는 방사선 조사 그 자체나 동반된 허혈의 영향으로 죽게 된다.¹⁶⁾ 이에 반하여 이 정도의 방사선량으로는 골기질내의 함유된 골형성 단백질의 활성화에 영향을 주지 못한다고 하며^{22,23)} 또한 콜라겐을 포함한 세포 외 구조물들에 대해서도 영향이 없다고 한다.^{24,25)} 따라서 Takahashi 등²³⁾은 50Gy 부터 200Gy까지의 방사선량으로는 골유도나 골전도 능력이 손상 받지 않는다고 하면서 이식한 골수강의 세포 성분은 방사선 조사량에 따라 영향을 받을 수 있으나 골기질은 영향이 없어 방사선학적으로나 조직학적으로 방사선이 조사되지 않은 대조군과 비교하여 동일한 방식으로 골유합이 이루어진다고 했다. 골유합의 속도는 방사선 조사군에서 약간 늦어지나 대조군과의 차이점이 없었으며, 50Gy, 100Gy, 200Gy군간의 골유합 속도에 차이점이 발견되지 않았다고 하였다. 그러나 Bright 등은 megarad 정도의 방사선량은 골유합에 심한 손상을 주어 불유합이나 이식골의 완전한 흡수를 초래한다고 하였다.²⁶⁾

본 실험에서도 가토의 대퇴골 간부 피질골을 부분 절제한 후 체외에서 일시에 20Gy과 50Gy을 조사하여 방사선학적, 조직학적으로 비교 관찰한 결과 대조군인 방사선을 조사하지 않은 군에 비하여 실험군에서 단순 방사선 소견상 가골의 형성이 다소 적고 골질 간격의 소실이 지연되었으며, 조직학적 소견상 대조군에 비하여 가골 및 신생골의 형성과 골수강내 섬유화 및 골수조직의 재생이 지연되는 소견이 관찰되었으나 전반적인 골유합 과정에는 큰 차이점을 발견할 수 없었고 이는 Takahashi 등의 보고와 일치하였다.^{15-17,21)} Sugimoto 등¹⁵⁾은 가토의 경골에 50Gy의 방사선 조사 후 52주간의 경과를 관찰하였는데 4주째 경골의 굴곡 강도는 변화가 없었으나 12주에서 골 강도가 현저히 약해지며 24주째는 평균 강도가 대조군과 비교하여 반 이하로 감소하였다가 52주에서 회복되는 것을 관찰하였으며, 피질골의 다공성(porosity), 골수강 내의 조혈 세포 및 골내 신생골 형성

(endosteal new bone formation) 등의 손상과 회복에 대한 변화가 시기적으로 유사함을 발견하였다.^{15,27,28)} 본 실험에서는 비록 단기간의 변화만을 관찰하였지만 이후의 골 재형성 과정도 Sugimoto 등의 보고와 유사할 것이라고 생각된다. 한편 체외 방사선 조사 후 재활용 자가골 이식에서 Shinobu 등은 방사선 조사 후에도 연골 조직의 변이가 일어나지 않는다고 하였고, 조사 후 12주에 혈관 분포가 현저히 줄어들며 52주에서 연골하 골의 재생이 나타났다고 하였다.¹⁴⁾ Uyttendaele 등은 연골 조직의 방사선 저항성에 의한 관절 기능 유지가 가능하다고 하였다.¹¹⁾

본 실험의 결과는 이식골의 양, 절골 범위, 고정 방법, 체중 부하의 상태 및 종양의 존재 등을 종합적으로 고려해야 하므로 임상적 관점에서 인체에 직접적으로 적용할 수는 없으나, 임상에서 사용되는 50Gy에서 100Gy정도의 방사선량으로 종양 세포를 사멸시켜 장기적이고 완벽한 국소 재발 방지를 얻을 수 있으며, 비록 골유합에 소요되는 기간은 지연될 수 있으나 골유합 과정에는 큰 영향이 없을 것으로 생각된다. 따라서 본 실험은 악성 골종양의 사지 보존술의 한 방법으로 체외 방사선 조사 후 자가골 이식술에 대한 유용한 정보를 제공할 수 있을 것으로 생각되며, 임상적으로 골유합 소견이 관찰될 때까지 절골 부위의 충분한 고정 및 조기의 체중 부하는 피하는 것이 필요하다고 판단된다. 그러나 고용량의 방사선 조사와 장기적인 추시 관찰을 통해 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

본 연구는 가토의 피질골에서 체외방사선 조사 후 이식한 자가골의 골유합 정도를 방사선을 조사하지 않은 대조군과 비교 평가하며, 방사선 조사량에 따른 이식골의 골유합의 차이점을 조직 형태학적으로 보고자 하였다. 가토의

대퇴골 간부 피질골을 부분 절제하여 임상에서 사용하는 선형가속기로 20Gy, 50Gy의 각각의 방사선을 일시에 체외에서 조사한 후 자가골 이식술을 시행한 실험군과 방사선을 조사하지 않은 대조군에서 8주 경과하여 절골 부위의 육안적, 방사선학적, 조직학적 소견을 관찰하였는데 체외 방사선 조사 후 자가골 이식술은 임상에서 사용하는 용량의 방사선 조사로는 골유합의 기간은 지연될 수는 있으나 골유합에는 큰 영향이 없을 것으로 생각되며, 임상적으로 골유합 소견이 관찰될 때까지 절골 부위의 충분한 고정 및 조기의 체중 부하는 피하는 것이 필요하다고 판단된다. 따라서 악성 골종양의 사지 보존술시 골 재건술의 한 방법으로 유용하다고 판단되며 또한 고용량의 방사선 조사 및 장기적인 추시 관찰을 통해 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

- Simon MA : Limb salvage for osteosarcoma in the 1980s. Clin Orthop 270 : 264-270, 1991
- Jaffe N, Warrs H, Fellow KE, Vatew G : Local en block resection for limb preservation. Cancer Treat Rep 62 : 217-223, 1978
- Marcove RC, and Rosen G : En block resections for osteogenic sarcoma. Cancer 45 : 3040-3044, 1980
- Rosen G, Caparros B, and Huvos AG, Kosloff C, Nirenberg A, Cacavio A, Marcove RC : Preoperative chemotherapy for osteogenic sarcoma : Selection of postoperative adjuvant chemotherapy based on the response of the primary tumor to preoperative chemotherapy. Cancer 49 : 1221-1230, 1979
- Rosen G, Marcove RC, Caparros B, Nirenberg A, Kosloff C, an Huvos A G : Primary osteogenic sarcoma : The rationale for preoperative chemotherapy and delayed surgery. Cancer 43 : 2163-2177, 1979
- 이수용, 전대근, 이종석, 최석민, 정동환 : 슬관절 주위 악성골 및 연부 조직 종양에서 골수 강내 고정물과 골시멘트를 이용한 한시적 슬관절 유합술. 대한 정형외과학회지 30 : 89-96, 1995
- 이종석, 전대근, 김하용, 강용혁, 정동환, 이수용 : 골 및 연부 조직 종양 절제 후 열처리 자가골 이식술을 이용한 골 결손부 재건. 대한 정형외과학회지 30 : 1308-1315, 1995
- Aho AJ, Ekfors T, and Dean PB : Incorporation and clinical results of large allografts of the extremities and pelvis. Clin Orthop 307 : 200-213, 1994
- Inoue O, Ibaraki K, Takeuchi M, Nakano M : "Resection, irradiation and vascularized fibular graft" for the limb saving surgery on osteosarcoma(Abstr.). 5th Intrnational Symposium on Limb Salvage. 1989, 142
- Mankin HJ, Gebhardt MC, Jennings LC, Jaffer F : Long term clinical results of allograft replacement in the management of bone tumors. Clin Orthop 324 : 86-97, 1996
- Uyttendaele D, Schryver A, and Claessens H, Roels J, Berkvens P, Mondelaers W : Limb conservation in primary bone tumors by resection, extracorporeal irradiation and reimplantation. J Bone Joint Surg 70B : 348-353, 1988
- Maeda M, Bryant MH, and Yamagata M, Li G, Earle JD, Chao EYS : Effects of irradiation on cortical bone and their time-related changes; a biochemical and histomorphological study. J Bone Joint Surg(Am) 70A : 392, 1988
- Masauki S, Shinobu T, Yoshihiko K and

- Takao Y : Changes in bone after high-dose irradiation. *J Bone Joint Surg* 73B : 492-497, 1991
14. Shinobu T, Masayuki S, Yoshimoto K, Keisuke S, Masanori O and Takao Y : Long term changes in the harversian systems following high-dose irradiation. *J Bone Joint Surg* 76A : 722-737, 1994
15. Sugimoto M, Takahashi S, Toguchida J, Kotoura Y, Shibamoto Y, Yamamoto T : Changes in bone after high-dose irradiation : Biomechanics and histomorphology. *J Bone Joint Surg* 73B : 492-497, 1991
16. Takahashi S, Sugimoto M, and Kotoura Y, Yamamuro T, Oka M, Shibamoto Y : Incorporation of cortical bone autograft following intraoperative extracorporeal irradiation in rabbits. *Int. J. Rad Oncol Biol Phys* 21 : 1221-1230, 1991
17. Abe M, Takahashi M, Yamamoto E, Sugimoto M : Techniques, indications and results of intraoperative radiotherapy of advanced cancers. *Radiology* 116 : 693-702, 1975
18. El-Naggar AM, Hanna IRA, Chanana AD, Carsen AL, Cronkite EP : Bone marrow changes after localized acute and fractionated irradiation. *Radiat Res* 84 : 46-52, 1980
19. Jacobsson M, Kalebo P, Tjellstrim A, Turesson I : Bone cell viability after irradiation : an enzyme histochemical study. *Acta Oncol* 26 : 463, 1987
20. Kotoura Y, Yamamuro T, Kashara Y, Takahashi M : Intraoperative radiation therapy for malignant bone tumors. In : Kiat TS ed. *Limb salvage current trends*. 7th International symposium ed, Singapore, ISOL, 1993, 151-154.
21. Abe M, Takahashi M : Intraoperative radiotherapy : the Japanese Experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 7 : 863, 1981
22. Buring K, Urist MR : Effects of ionizing radiation on the bone induction principle in the matrix of bone implants. *Clin. Orthop* 55 : 225-234, 1967
23. Urist MR, Hernandez A : Excitation transfer in bone-deleterious effects of cobalt 60 radiation-sterilization of bank bone. *Arch. Surg* 109 : 486-493, 1974
24. Pelker RR, Friedlaender GE, Markham T : Biomechanical properties of bone allografts. *Clin. Orthop* 174 : 54-57, 1983
25. Urist MR : Practical application of basic research on bone graft physiology. In : AAOS instructional course lectures. St. Louis: C.V. Mosby, 25 : 1-26, 1976
26. Bright RW, Smarsh JD, Gambill VM : Sterilization of human bone by irradiation. In : Friedlaender GE, Mankin HJ, Sell KW, eds. *Osteochondral allografts - biology, banking and clinical applications*. Boston/Toronto, Little, Brown and Company, 1983, 223-232.
27. Howland WJ, Loeffler RK, Starchment DE, Johnson RG : Atrophic changes of bone and related complications. *Radiology* 117 : 677-85, 1975
28. Powers BE, Gillette EL, and McChesney SL, LeCouteur RA and Withrow SJ : Bone necrosis and tumor induction following experimental intraoperative irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 17 : 559-567, 1989