

가토에서 체외 방사선 조사후 재이식한 자가관절의 조직학적 변화

고신대학교 복음병원 정형외과학교실
인제대학교 부산백병원 정형외과학교실*

김재도 · 조명래 · 유경식 · 김영창*

- Abstract -

Histologic Change of Extracorporeal Irradiated Autogenous Joint Transplantation in Rabbit's Knee

Jae-Do Kim, M.D., Myung-Rae Cho, M.D., Kyung Sik Yoo, M.D., Young Chang Kim, M.D.*

Department of Orthopaedic Surgery, Gospel Hospital, Kosin University, Pusan, Korea
*Department of Orthopaedic Surgery, Baek Hospital, Inje University, Pusan, Korea**

A new method of limb sparing by resection, extracorporeal irradiation and reimplantation has several theoretical advantages. This method preserves the mobility of a joint and avoids the problem of loosening or breakage of tumor prosthesis. This study involved using extracorporeal irradiated autogenous joint transplantation for reconstruction after en bloc resection, and observed the periods of functional union and histological changes in irradiated tissue of the knee joint. This study also aimed to clarify whether the degeneration of articular cartilage is induced in rabbits by a single 50Gy dose of irradiation at the knee joint. Twenty New Zealand rabbits about three kilograms were randomized into two groups of 10 rabbits each. In group 1, as control, we resected the knee joint followed by reimplantation without irradiation. Group 2 received extracorporeal irradiation on the resected knee joint followed by reimplantation. Following are the results of these observations. The osteotomy site showed external callus formation in the roentgenographic finding eight weeks after reimplantation. There was marked degenerative changes in the collagen fiber of the irradiated anterior cruciate ligament and meniscus during the fourth week, but new blood-vessel formation was observed in the vicinity. There was degenerative changes in the collagen fiber of articular cartilage treated extracorporeal irradiation at four and eight weeks in the scanning electron micrographic findings. These findings was in contrast to those of subchondral bone which showed decreased cellularity and empty lacuna at four and eight weeks. Autoradiography demonstrated active [³H]uridine incorporation by irradiated chondrocyte at eight weeks after reimplantation.

※통신저자 : 김 재 도
부산광역시 서구 압남동 34
고신대학교 복음병원 정형외과학교실
Tel : 051) 240-6467, Fax : 051) 243-0181, E-mail : jdkim@ns.kosinmed.or.kr

These results indicate that when destruction of the articular cartilage and soft tissue of the knee joint is not severe, extracorporeal irradiation and reimplantation can be used with several advantage in maintaining movement of the joint while avoiding problems of tumor prosthesis and rejection, and therefore extracorporeal irradiated autogenous joint transplantation can be used as a limb-sparing procedure for temporary biological spacer in the childhood bone tumor around the knee.

Key Words : Knee joint autotransplantation, Extracorporeal irradiation, Histologic change

서 론

최근 사지보존술에서 종양을 광범위하게 절제한 후 골 결손부를 재건하는 방법이 최근에 다양하게 시도 되고 있는데 이 방법을 사용할 때에도 종양 대체물 삽입술(tumor prosthesis), 동종골 이식술, 골시멘트를 이용한 일시적 공간 삽입술, 단순 자가골 이식술(autograft), 재활용 자가골 이식술(recycling autograft) 등이 이용되고 있고, 이중 재활용 자가골 이식술에는 고온고압 열처리, 저온 열처리, 방사선 조사 후 재활용하는 자가골 이식술이 최근에 이용되고 있다^{1,2,11)}.

슬관절 주변부는 원발성 골종양이 가장 흔하게 발생하며, 사지구제술이 가장 많이 시행되는 부위로 슬관절에서 발생한 종양의 광범위한 절제 후 재건술의 목적은 가능한 관절기능을 유지하는 것이다. 따라서 방사선 조사 후 재활용하는 자가관절 이식술은 종양에 의한 골파괴가 심하지 않을 경우 자가골 및 관절을 사용하여 골의 해부학적 원형을 유지한 상태로 재건하여 관절의 기능을 최대한 유지할 수 있는 장점을 가지고 있다²¹⁾.

본 실험에서는 슬관절 주위 악성종양 치료법인 사지구제술의 가토 원위 대퇴골부터 근위 경골까지 슬관절을 포함하여 절제하고, 체외 방사선 조사 후 자가관절 이식술을 시행하여 골접합부의 유합상태, 관절의 안정성, 관절내 연골 및 주위 연부조직의 조직학적 변화 및 연골세포의 생명력(viability)을 관찰하여 슬관절 주위 악성종양의 사지 구제술로 전 자가관절 이식술의 실제 임상 적용 가능성을 조사하였다.

연구대상 및 방법

1. 실험대상

생후 7개월된 체중 2~3kg의 가토 20마리를 실험

대상으로 삼았으며, 각 10마리씩 2군으로 나누어 실험군 및 대조군으로 세분하였고, 실험군은 체외 방사선 조사 후 자가관절 이식술을 시행하였으며 대조군은 슬관절을 포함한 대퇴 원위부 및 근위부를 절제, 방사선 조사를 하지않고 제자리에 이식하여 재건하였다. 각군을 각각 4주 및 8주에 5마리를 도살하여 관찰하였다.

2. 실험방법

1) 수술 방법

각군의 가토를 ketamine(90mg/kg)과 rompun(100 mg/kg)을 근육내 주사로 전신마취한 다음 양와위로 고정하고 대퇴부를 소독한 후 대퇴부 중앙부위를 중심으로 7cm 표피를 중절개하였다. 대퇴 사두근을 절개하여 슬개골을 외측으로 분리하였고 대퇴 이두근, 비복근을 절제한 후 대퇴골과 경골을 노출시켰다. 슬관절 주위 신경 및 동맥은 손상주지 않도록 수술하였으며, 말단 혈관은 압박 지혈시켰다. 슬관절을 중심으로 대퇴골 상부 30mm, 경골은 경골 결절 하부 10mm 부위를 ziggle saw를 이용하여 절골시켰다. 원위 대퇴골 및 근위 경골에 기시 및 부착하는 근육을 절제하였고, 골막은 절제하지 않았다. 대퇴 절골 부위는 0.062inch K 강선을 이용하여 대퇴 내과, 외과에서 후향적 골수강내 고정을 시행 하였고 경골 절골 부위는 경골 골절 상방 10mm 내측 및 외측에서 골수강내 고정을 하였다. 실험군인 방사선조사 군은 슬관절을 포함한 대퇴골 및 경골을 멸균된 gauze로 감싼 후 생리식염수가 들어 있는 플라스틱 통 속에 넣어 임상에서 이용하는 linear accelerator로 고용량인 50Gy를 일시에 방사선 조사를 실시한 후 골수강내 고정하였다. 대퇴골 및 경골 근위부에 기시 및 부착하는 근육은 vicryl 2-0 또는 nylon 3-0을 이용하여 골막 및 남아있는 조직에 고정하였고 생리식염수 및 과산화수소수로 소독 후 출혈 부위를 지혈한 다음 대퇴 사두근을 봉합하였다. 대조군은 방사선 조사하지 않고 대퇴골 및 경골 근위부

를 절제 후 K-강선을 이용하여 후향적 골수강내 고정을 시행하였다. 모든 수술과정은 무균적으로 시행하였으며, 감염을 예방하기 위하여 항생제를 1주일간 근육 주사하였다.

2) 단순 방사선 검사

절골 및 재건술을 시행한 직후에 단순 방사선 전후면 및 측면 사진을 촬영하였으며 4주, 8주 후에 각군의 가도를 전신마취하고, 단순방사선 전후면 및 측면 사진을 촬영하여 골유합 정도를 관찰하였다.

3) 슬관절 안정성 검사

슬관절의 안정성을 검사하기 위하여 가도를 양와 위로 고정하여 대퇴부 중앙 부위를 중심으로 7cm 표피를 종절개한 후 스트레스트검사를 시행하였다. 대퇴사두근을 절개하여 슬개골을 외측으로 분리하고 대퇴이두근, 비복근을 절제한 후 대퇴골 및 경골을 노출시켜 골수강내 고정된 K강선을 제거한 후 절골 부위의 안정성을 육안적으로 관찰하였고, 골 유합을 확인하였다.

4) 조직학적 관찰

슬관절부위 전방 십자인대 및 내측 반월상 연골을 절제하였고, 대퇴 내과 관절면에 있는 연골을 박리하였다. 2.5% glutaraldehyde에 전고정하고, 1% osmium tetroxide에 후고정한 후에, 0.1M phosphate buffer solution에 세척하여 ethyl alcohol 용액에 넣어 탈수하였다. 1 μ m 두께로 준 초박절한 후 hematoxylin & eosin(이하 H&E) 염색을 위해 파라핀 포매후 통상적인 방법으로 염색하였다.

슬관절 연골세포 및 연골기질을 관찰하기 위하여 연골을 2% buffered glutaraldehyde에 고정시켰고 탈수 및 건조시킨 후 백금도금 처리하여 10000배율의 주사전자현미경(이하 주사현미경)으로 관찰하였다.

5) 자가방사능 검사

슬관절 연골세포의 생존 유무를 관찰하기 위하여 자가 방사능 검사를 시행하였다. 대퇴 내과 관절면에서 박리한 연골을 10 μ Ci/ml(³H)uridine이 첨가된 RPMI 1640 배지에 6시간 CO₂ incubator에 배양시킨 후 phosphate buffered saline으로 3회 세척하였다. 10% buffered formaline에 고정 후 ethanol로 탈수시켜 paraffin 처리하였고 deparaffin 과정 후 autoradiographic emulsion 처리하였다.

밀폐된 상자속에 담아 3주간 4 $^{\circ}$ C 냉장고에 보관한 후 H&E 염색하여 광학현미경으로 연골세포의 생명력을 관찰하였다⁹⁾.

결 과

1. 육안적 관찰

슬관절을 포함한 원위 대퇴골 및 근위 경골을 절제하고, 체외 방사선 조사 및 자가관절 이식술을 시행한 4주째, 8주째 슬관절 안정성 검사를 전신 마취 후 시행하였으며 내전 및 외전검사와 전방전위, 후방전위 검사상 불안정성은 보이지 않았다. 8주째 육안으로 견고한 골유합이 대퇴골 및 경골 절골 부위에서 관찰되었다.

2. 단순 방사선 검사

자가관절 이식 후 4주째에 전후방 사진에서 절골 부위 간격은 원상태로 유지된 채 희미하게 가골이 형성되었으며, 8주째 전후방 및 측방사진상 대퇴골, 경골 절골 부위에서 절골부위 간격은 소실되고 가골이 형성되었으며 견고한 골유합이 관찰되었다(Fig. 1).

3. 조직학적 관찰

전방 십자인대는 체외 방사성 조사 후 자가관절 이식한 4주째 전방 십자인대가 비교적 균일한 배열을 보였으나, 핵과 세포질의 변성이 관찰되었고, 주변부에서 신생혈관 재생이 일어나고 있는 것이 관찰되어, 교원섬유가 균일하게 배열되어 있고 핵 및 세포질에서도 퇴행성 변화를 보이지 않은 대조군과 차이를 보였다(Fig. 2-A, B).

반월상 연골은 대조군 및 실험군에서 모두 균일한 교원섬유 배열을 보이고 있었으나, 세포질의 퇴행성 변화가 관찰되었다(Fig. 3-A, B).

대조군의 슬관절 대퇴내과에서 절제한 연골은 lacuna 속에 연골세포가 균일한 세포질 및 핵을 가지고 있으며, 실험군의 연골은 4주, 8주째 모두 lacuna 속에 균일한 핵과 세포질을 가진 연골세포가 보였으나, 연골하 골조직에서는 골수내 세포들이 괴사되어있고 연골세포가 없는 비어있는 골수강 형태를 관찰할 수 있어서 대조군과 차이를 보였다(Fig. 4-A, B).

슬관절 십자인대의 기질내 교원섬유는 주사현미경



Fig. 1. Firmly united osteotomy site with external callus formation at 8 weeks

소견상 실험군에서 퇴행성 변화를 관찰할 수 있었으나(Fig. 5-A, B), 연골소강내의 연골세포는 정상적인 형태를 보였다(Fig. 6-A, B).

4. 자가방사능 검사

체의 방사선 조사된 자가관절 이식술 후 4주, 8주째 연골세포의 방사선 동위원소 표식된 [^3H] Uridine 결합은 체외 방사선 조사를 하지않은 대조군과 차이가 없었다(Fig. 7-A, B).

고 찰

원발성 골종양 치료의 한 방법으로써 1970년대 항암 화학요법의 발달과 영상 진단기술의 발달로 광범위한 종양 절제가 가능해졌고, 수술 전에 항암제 투여로 수술시 종양전파 및 원격전이를 방지하여 악성 골 및 연부 조직 종양 환자의 생존율을 높이는 데에

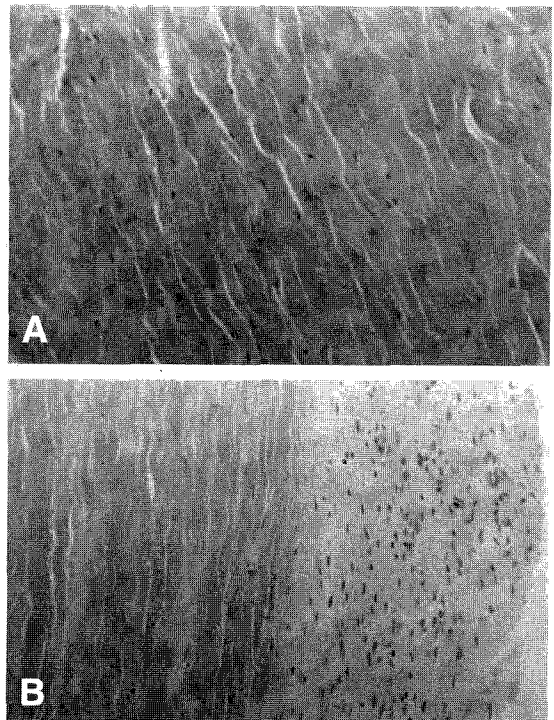


Fig. 2-A. Normal architecture of collagen fiber in control ACL(H&E stain $\times 100$).

B. Degenerative change of collagen fiber in irradiated ACL at 4 weeks after reimplantation(H&E stain $\times 100$). The nucleus of collagen fiber was not noted, but fibrills show uniform arrangement. Neoangiogenesis in the vicinity was observed.

커다란 진보가 있었다^{9,11,15,16}.

이에 따라 광범위 종양 절제후 골결손부를 재건하는 방법이 발달되어 왔으며 현재 종양 대체물 삽입술(tumor prosthesis), 동종골 이식술, 골시멘트를 이용한 일시적 공간 삽입술, 단순 자가골 이식술(autograft), 재활용 자가골 이식술(recycling autograft) 등이 이용되고 있고, 이중 재활용 자가골 이식술에는 고온고압 열처리, 저온 열처리, 방사선 조사 후 재활용하는 자가골 이식술이 최근에 이용되고 있다^{1,11}. 특히 방사선 조사한 자가골 및 자가관절 이식술은 관절의 유동성을 유지할 수 있고, 종양 대체물 삽입술에서 나타나는 해리, 마모, 골절 등의 합병증이 없고, 동종골 이식술의 높은 감염 위험성을 피할 수 있는 장점이 있다^{5,6,8,10,21}.

본 실험에서는 이런 장점 때문에 슬관절을 포함한 대퇴골 및 경골을 광범위하게 절제, 방사선 조사 후

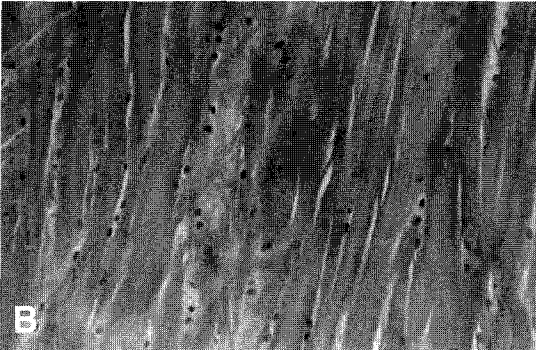
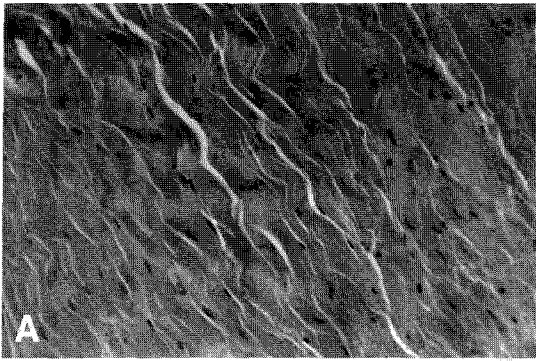


Fig. 3-A. Normal architecture of collagen fiber in control meniscus(H&E stain $\times 100$).
B. Minimal degenerative change of collagen fiber in irradiated meniscus at 4 weeks(H&E stain $\times 100$).

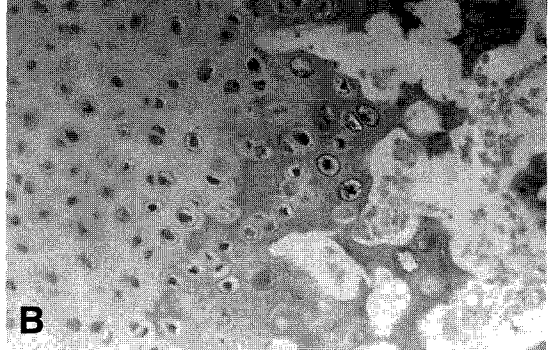
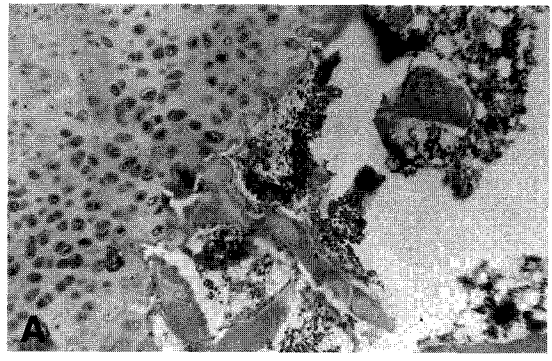


Fig. 4-A. Normal architecture of articular cartilage at 4 weeks in control(H&E stain $\times 100$).
B. No obvious change of irradiated cartilage at 4 weeks(H&E stain $\times 100$).

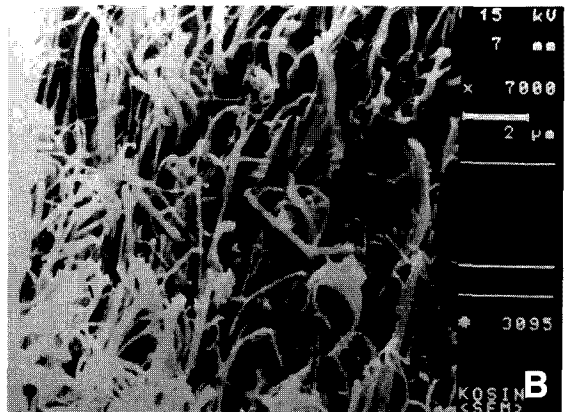
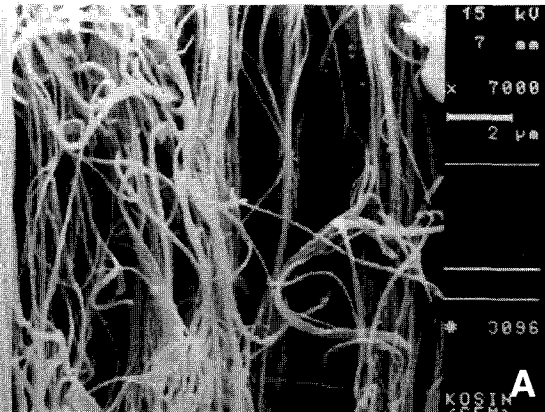


Fig. 5-A. The collagen fiber of articular cartilage at 8 weeks in control(SEM $\times 5000$).
B. The collagen fiber of articular cartilage show marked degenerative change at 8 weeks(SEM $\times 5000$).

자가 관절을 이식하여 슬관절의 안정성 및 연골세포의 생명력과 슬관절 주위 조직의 변화를 관찰하였다.

수술 중 방사선 조사법은 체내 방사선 조사와 체외 방사선 조사법이 있는데, 체내 방사선 조사는 피

하 절개 후 골종양이 전파되지 않은 정상 골주위 조직까지 방사선 조사하기 때문에, 골조직에 국한하여 방사선 조사를 하는 체외 방사선 조사법보다 주위 조직 및 혈관의 광범위한 손상으로 후기 허혈성 골

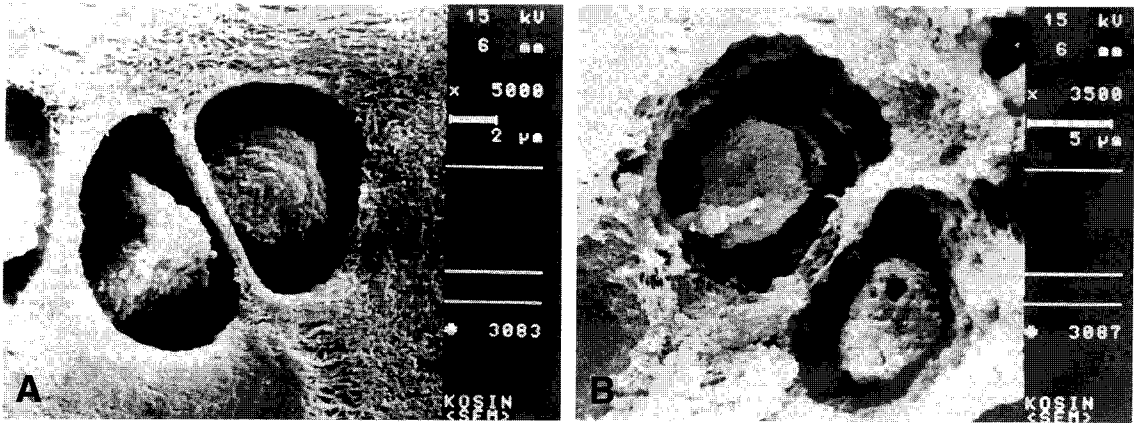


Fig. 6-A. The chondrocyte of articular cartilage in the lacuna at 8 weeks in control(SEM × 7000).
B. The chondrocyte of articular cartilage show normal architecture at 8 weeks(SEM × 7000).

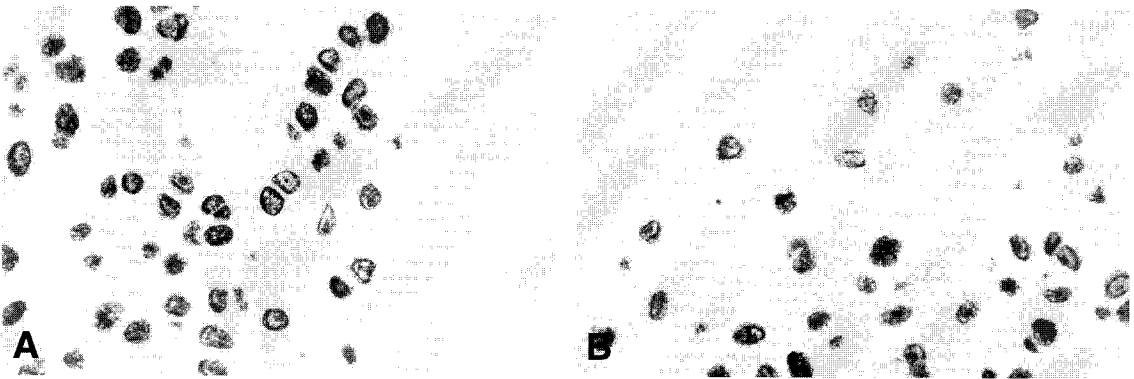


Fig. 7-A. Active [³H]uridine incorporation of chondrocyte at 8 weeks in control group.
B. Active [³H]uridine incorporation of irradiated chondrocyte at 8 weeks.

조직 괴사 및 병적골절 유발가능성이 높은 단점이 있어, 본 실험에서는 후기 허혈성 골조직 괴사가 적은 체외 방사선 조사법을 이용하였다²⁰.

방사선 조사량과 종양세포의 생존여부에 대한 실험에서 종양세포를 완전히 사멸시키면서 동시에 정상 골조직에 생역학적, 생리적 손상을 최소화 시킬 수 있는 이상적인 방사선 조사량은 아직도 연구되고 있으나, 본 실험은 Nakashima 등¹³이 수술중 50-100Gy 방사선 조사시 종양세포의 장기적이고 완벽한 국소재발 방지를 보고한 결과를 인용하여 수술중 절제한 관절을 체외에서 선상가속기로 고용량의 50Gy를 일시에 조사하여 재이식하였다.

방사선 조사가 종양세포를 사멸시키고 골조직 괴사를 유발하는 기전은 독성 유리 라디칼을 생성하여 종양세포 및 골원세포, 조혈세포의 유전자에 치명적

인 손상을 주고 동시에 혈관 조직에 손상을 주어 후기 허혈성 조직 괴사를 유발한다고 알려졌다^{4,5,18,20}.

방사선 조사 8주째 단순 방사선 검사 및 육안적 관찰에서 견고한 골유합이 형성된 것을 관찰하였는데 이는 Takahashi 등^{19,20}이 50-200Gy 체외 방사선 조사 후 골유합이 이루어 진다는 보고와 일치하였다. 이들은 가토 경골을 1.5cm 절제한 후 체외 방사선을 조사하여 단순 방사선 촬영을 하였는데, 체외 방사선 조사 후 6주째 절골부위에 견고한 골유합을 보였고, 12주에 자가 이식골의 골흡수가 관찰되었으며, 동시에 가골은 재형성과정을 거쳐 신생골을 형성하였고, 26주경 재흡수되지 않는 일부 자가 이식골이 관찰되었지만 대부분 재흡수되어 신생골을 형성하였다. 본 실험은 원위 대퇴골부터 경골 결절 하부 1cm까지 슬관절을 포함하여 절제한 후 체외에

서 일시에 방사선 50Gy를 조사하여 관찰한 결과, 이들의 결과와 골유합기간이 유사하여 이후 골재형성 과정도 동일할 것으로 사료된다.

방사선 조사 후 4주째 및 8주째에 전신마취시킨 후 슬관절 부위의 안정성 검사를 시행하였던 바 내전 및 외전검사와 전방전위 및 후방전위 검사상 불안정성을 보이지 않았다. 이같은 결과는 방사선 조사 후 견고한 근육 내고정과 연부조직의 적절한 봉합 후 즉시 체중 부하를 시켰으며, 방사선 조사에도 불구하고 슬관절 연부조직 기능장애가 거의 없었기 때문이라 생각된다.

슬관절내 전방 십자인대 및 반월상 연골은 체외 방사선 조사 후 4주째에 대조군에 비해서 퇴행성 변화를 보였지만 주변부에서 신생혈관이 형성되고 있는 것이 관찰되었다. 이는 슬관절을 포함한 체외 방사선조사 연구가 국내외에 보고되지 않아서 비교할 수는 없지만 체외 방사선 조사를 위하여 슬관절 주변부를 전부 절제하였기 때문에 필연적으로 주위 영양혈관이 파괴되어 퇴행성 변화를 보였고, 상대적으로 초기에 신생혈관이 형성되어 교원섬유 및 기질에 영양을 공급할 수 있어 최소한의 변성만 보였다고 생각된다.

Sugimoto 등¹⁸⁾이 가토 슬관절 주위 피부절개 후 체내 방사선 조사하여 조직학적 변화를 관찰하였는데, 방사선 조사 후 4주째 슬관절의 연골하 골세포가 결여되어 있는 골수강 수가 증가하기 시작하였고, 골수강내 골원세포의 현저한 감소 및 기질의 퇴행성 변화가 나타났으며, 12주에서 52주까지 골수내 혈관과 간엽조직, 골세포가 지속적으로 감소하였고, 52주 후에 골조직이 정상조직으로 회복한다고 보고하였다. 본 실험에서는 슬관절내 연골하 골수부위는 조직학적 검사상 방사선 조사 4주, 8주째에 대조군에 비하여 조혈세포의 광범위한 괴사가 나타났으며, 조혈세포의 감소 및 기질의 퇴행성 변화도 관찰되어 이들과 유사한 결과를 보였다.

일반적으로 연골세포는 postmitotic 세포이며, 혈관이 분포하지 않기 때문에 방사선 저항성 조직(radioresistant)으로 알려져 있다¹⁹⁾. Takahashi 등²⁰⁾의 연구에 의하면 가토 슬관절 피부 절개 후 근육을 포함한 슬관절 부위를 체내 50Gy로 조사하여 연골세포 및 연골조직의 교원섬유에 명백한 퇴행성 변화는 보이지 않았으며, 주사 현미경상 연골기질부의 교원섬

유 배열구조의 변성도 보이지 않았다고 보고하였다.

본 실험에서는 이들에 비하여 주위 조직에 손상이 적고 가능한 슬관절 연부조직을 보존하면서 골종양 부위만 국소화시킨 체외 방사선 조사 후 자가 관절 이식술을 시행하여 체내 방사선 조사한 결과와 비교하였는데, 조직학적 검사상 체외방사선 조사후 4주 및 8주째 연골세포 및 연골기질의 퇴행성 변화가 관찰되지 않았으며, 실험 8주에 관찰한 주사현미경 소견상, 슬관절 연골의 기질내 교원섬유가 퇴행성 변화를 보였으나 연골세포의 퇴행성 변화는 보이지 않았고, 자가 방사능검사에서도 방사선 동위원소가 표식된 [³H] Uridine 결합은 대조군과 차이가 없었다. 이는 Takahashi 등²⁰⁾의 체내 방사선 조사 후 연골세포의 주사현미경 검사와 자가방사능 검사에서 연골세포의 생명력이 시간이 경과함에 따라 변화가 없었다는 결과와 유사하였다.

이상의 실험결과는 임상에서 체외방사선 조사 후 자기 관절이식술을 시행하는 데 기초자료로 이용할 수 있으며, 관절연골의 운명에 대해서는 장기간의 추시가 필요할것으로 사료된다.

결 론

가토 슬관절을 포함한 원위 대퇴골 및 근위 경골을 절제하고, 임상에서 사용하는 선상가속기로 50Gy 방사선을 일시에 체외에서 조사 후 자가관절 이식술을 시행하여 슬관절의 안정성, 관절내 연골 및 주위 연부조직의 조직학적 변화 및 연골세포의 생명력(viability)을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다. 슬관절 주위에 원발성 골종양이 발생시 주위 골조직 파괴가 심하지 않는 경우에 체외 방사선 조사 후 자가관절 이식술은 자가골의 해부학적 원형, 관절연골 및 주위 연부조직의 상태를 그대로 유지할 수 있어 슬관절의 운동성을 얻을 수 있고, 종양 대체물이나 동종골 이식술의 부작용을 피할 수 있다는 장점 때문에 소아 골 관절 종양환자에서 일시적인 생물학적 공간 대체물의 한 방법으로 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) 이수용, 전대근, 이종석, 최석민, 정동환 : 슬관절 수위

- 악성 골 및 연부 조직 종양에서 골수강내 고정물과 골 시멘트를 이용한 한시적 슬관절 유합술. *대한정형외과학회지*, 30:89-96, 1995.
- 2) 이종석, 전대근, 김하웅, 강용혁, 정동환, 이수용 : 골 및 연부조직 종양 절제 후 열처리 자가골 이식술을 이용한 골결손부 재건. *대한정형외과학회지*, 30:1308-1315, 1995.
 - 3) **Abe M, and Takahashi M** : Intraoperative radiotherapy: the Japanese Experience. *Int j Radiat Oncol Biol Phys*, 7:863-867, 1981.
 - 4) **Abe M, Takahashi M, Yamamoto E, and Sugimoto M** : Techniques, indications and results of intraoperative radiotherapy of advanced cancers. *Radiology*, 116:693-702, 1975.
 - 5) **El-Naggar AM, Hanna IRA, and Chanana AD, Carsen AL, Cronkite EP** : Bone marrow changes after localized acute and fractionated X irradiation. *Radiat Research*, 84:46-52, 1980.
 - 6) **Howland WJ, Loeffler RK, and Starchment DE, Johnson RG** : Atrophic changes of bone and related complications. *Radiology*, 117:677-685, 1975.
 - 7) **Jacobsson M, Kalebo P, and Tjellstrim A, Turesson I** : Bone cell viability after irradiation: an enzymehistochemical study. *Acta Oncol*, 26:463-469, 1987.
 - 8) **Jaffe N, Warrs H, and Fellow KE, Vatew G** : Local en block resection for limb preservation. *Cancer Treat Rep*, 62:217-223, 1978.
 - 9) **Maeda M, Bryant MH, Yamagata M, Li G, Earle JD, and Chao EYS** : Effect of irradiation in cortical bone and their time-related changes: a biochemical and histomorphological study. *J Bone Joint Surgery*, 70A:392-396, 1988.
 - 10) **Mankin HJ, Gebhardt MC, and Jennings LC, Jaffer F** : Long-term results of allograft replacement in the management of bone tumors. *Clin Orthop*, 324: 86-97, 1996.
 - 11) **Marcove RC, and Rosen G** : En block resections for osteogenic sarcoma. *Cancer*, 45:3040-3045, 1980.
 - 12) **Nagashima T, Yamamuro M, Kotoura Y, Takahashi M, Abe M, and Nakashima Y** : Histological studies of the intraoperative irradiation on osteosarcoma. *J Jpn Orth Ass*, 57:1681-1686, 1983.
 - 13) **Parker RG** : Tolerance of mature bone and cartilage in clinical radiation therapy. *Front Radia Ther Oncol*, 6:312-317, 1972.
 - 14) **Powers BE, Gillete EL, McChesney SL, and LeCoeur RA** : Necrosis and tumor induction following experimental intraoperative irradiation. *Int J Radi Oncol Biol Phys*, 17:559-564, 1989.
 - 15) **Rosen G, Marcove RC, Caparros B, Nirenberg A, Kosloff C, and Huvos AG** : Primary osteogenic sarcoma: The rationale for preoperative chemotherapy and delayed surgery. *Cancer* 43:2163-2169, 1979.
 - 16) **Rosen G, Caparros B, Huvos AG, Kosloff C, Nirenberg A, Cacavio A, and Marcove RC** : Preoperative chemotherapy and delayed surgery. *Cancer*, 43:2163-2169, 1979.
 - 17) **Sugimoto M, Takahashi S, Toguchida J, Kotoura Y, Shibamoto Y, and Yamamoto T** : Changes in bone after high-dose irradiation: Biomechanics and histomorphology. *J Bone J Surg*, 73B:492-498, 1991.
 - 18) **Takahashi S, Sugimoto M, and Kotoura Y** : Long-lasting tolerance of articular cartilage after experimental intraoperative radiation in rabbits. *Clin Orth Reser*, 275:300-306, 1992.
 - 19) **Takahashi S, Sugimoto M, Kotoura Y, Yamamuro T, Oka M, and Shibamoto Y** : Incorporation of cortical bone autograft following intraoperative extracorporeal irradiation in rabbits. *Rad Oncol Bio Phy*, 21: 1221-1227, 1991.
 - 20) **Uyttendaele D, Schryver A, Claessens H, Roels H, Berkvens P, and Mondelaers W** : Limb conservation in primary bone tumors by resection, extracorporeal irradiation and re-implantation. *J Bone J Surg*, 70B:348-353, 1988.