

Réparation du cartilage articulaire par ingénierie tissulaire

Cell therapy for the treatment of cartilage defects

Didier Hannouche

Service de chirurgie orthopédique, Hôpital Lariboisière, Paris.

Mots clés

- ◆ Cartilage
- ◆ Cellules souches mésenchymateuses
- ◆ Biomatériaux
- ◆ Thérapie cellulaire
- ◆ Ingénierie tissulaire

Résumé

La chirurgie orthopédique a bénéficié au cours des dix dernières années de progrès fulgurants dans le domaine technologique, qu'il s'agisse de l'amélioration des matériaux prothétiques, du développement de systèmes de navigation, ou des progrès de la biotechnologie. Le domaine de la réparation des lésions cartilagineuses focales est un exemple de bouleversement de nos pratiques chirurgicales survenu au cours des dix dernières années, avec l'apparition de plusieurs stratégies thérapeutiques dans cette indication. Certaines visent à stimuler la réparation naturelle du cartilage par le recrutement de cellules progénitrices contenues dans la moelle (microfractures), d'autres ont pour objectif la réparation du défaut par une greffe (mosaicplasty). Enfin, les techniques de thérapie cellulaire ont pour ambition la régénération complète de la lésion par l'implantation de cellules chondrogéniques ou de véritables tissus fonctionnels fabriqués au laboratoire à partir de cellules autologues et de matériaux supports résorbables. Cette dernière approche s'intègre dans un domaine plus vaste, celui de l'ingénierie tissulaire, qui fait appel à des compétences pluridisciplinaires dans les sciences physiques (biomécanique), les sciences chimiques (biopolymères), les sciences pour l'ingénieur, les sciences du vivant (biologie cellulaire et moléculaire) et la médecine.

Keywords

- ◆ Cartilage
- ◆ Mesenchymal stem cells
- ◆ Biomaterials
- ◆ Cell therapy
- ◆ Tissue engineering

Abstract

In the last decades, orthopedic surgery has advanced considerably with improvements in prosthetic designs, quality of materials, navigation systems, and biotechnology. The treatment of large cartilage defects in the knee remains a clinical challenge and is an example of how new technologies have fundamentally changed the way we treat these lesions today.

Current methods include the perforation of the subchondral bone to recruit repairing cells locally (microfractures), autologous osteochondral grafting (mosaicplasty), and the implantation of competent cells within the defect. Three major strategies are currently being studied to repair cartilage lesions using cell therapy: (i) the implantation of culture expanded cells seeded onto biodegradable scaffolds; (ii) the implantation of a more or less pre-shaped and structured tissue, obtained in vitro by the assembly and three-dimensional culture of cells and a resorbable matrix; (iii) the stimulation of in situ tissue repair by different means, including growth factors or genetically modified cells.

Surgeons treating cartilage defects will have an increasing variety of treatment options available, some of which will probably supersede current procedures in the near future. Although very promising, these techniques are invasive and expensive, and several issues should be overcome before they can be adapted for widespread clinical use.

Les lésions chondrales et ostéochondrales localisées, intéressant toute l'épaisseur du cartilage articulaire en zone portante, peuvent justifier un geste chirurgical chez le sujet jeune après un traitement médical bien conduit (Fig. 1). Un prérequis indispensable est d'agir sur un genou axé dans le plan coronal, sans trouble torsionnel notable dans le plan axial, et stabilisé. Deux méthodes sont couramment pratiquées aujourd'hui en France et visent soit à stimuler la réparation naturelle de la lésion par le recrutement de cellules contenues dans l'os sous-jacent (perforations de la surface osseuse ou microfractures), soit à réparer le défaut par une greffe ostéochondrale en mosaïque prélevée en périphérie de l'articulation (mosaicplasty). Ces deux méthodes sont effi-

caces mais ne peuvent être proposées qu'à de petites lésions, et ont des complications propres qui justifient la recherche de méthodes alternatives par thérapie cellulaire. L'objectif ici est la régénération complète de la lésion par l'implantation de cellules chondrogéniques autologues, ou la greffe de tissus cartilagineux fabriqués au laboratoire à partir de cellules cultivées sur des matériaux supports résorbables. Cette dernière approche s'intègre dans un domaine plus vaste, celui de l'ingénierie tissulaire, qui fait appel à des compétences pluridisciplinaires dans les sciences physiques (biomécanique), les sciences chimiques (biopolymères), les sciences pour l'ingénieur, les sciences du vivant (biologie cellulaire et moléculaire) et la médecine.

Correspondance :

Pr Didier Hannouche

Service de chirurgie orthopédique, Hôpital Lariboisière, 2 rue Ambroise Paré, 75010 Paris.

Tél : 33 (1) 49 95 91 34 - Fax : 33 (1) 49 95 91 32 - E-mail : didier.hannouche@lrb.aphp.fr

Disponible en ligne sur www.acad-chirurgie.fr

1634-0647 - © 2013 Académie nationale de chirurgie. Tous droits réservés.

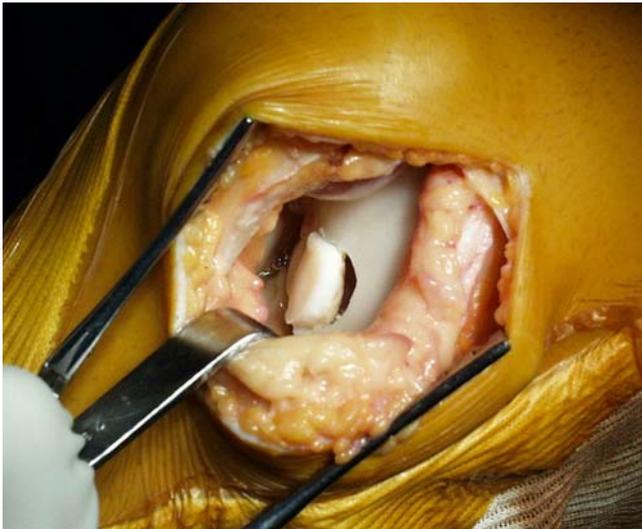


Figure 1. Ostéochondrite du condyle médial, fragment mobile. Indication à une réparation cartilagineuse.

Le développement de structures cartilagineuses hyalines *in vitro* à partir de chondrocytes ou de cellules souches mésenchymateuses autologues représente une voie d'avenir prometteuse, mais plusieurs étapes sont encore nécessaires avant de pouvoir disposer de tissus dont la composition et la structure reflètent celles du cartilage natif.

Implantation de chondrocytes autologues en suspension (ACI, Autologous chondrocyte implantation)

S'appuyant sur des études expérimentales présentées en 1984 (28), les premiers résultats de cette méthode ambitieuse ont été publiés par Brittberg en 1994 (4). Lors d'une première intervention sous arthroscopie des copeaux cartilagineux sont prélevés le long de l'échancrure inter-condylienne, puis envoyés dans un laboratoire agréé où les chondrocytes sont isolés, cultivés et amplifiés *in vitro*. Le deuxième temps opératoire est effectué à ciel ouvert. Le précipité cellulaire de chondrocytes est implanté au sein du défaut après l'avoir recouvert d'un lambeau de périoste prélevé à la face antéromédiale du tibia et suturé en périphérie au fil 6/0. Une application complémentaire de fibrine permet d'étanchéifier le lambeau de périoste. En cas de lésion de plus de 8 mm de profondeur, certains auteurs proposent une technique dite en sandwich, où les cellules sont implantées entre deux couches de périoste (27). Une mobilisation passive continue est débutée immédiatement après l'intervention et l'appui est interdit pendant trois mois. La reprise d'activité sportive se fait progressivement à partir du 6^{ème} mois.

L'intérêt clinique de cette technique coûteuse est encore controversé. Les études publiées sont essentiellement des essais non contrôlés prospectifs (3,5,11,14,23,35,40) ou rétrospectifs (27,29,34) avec des reculs relativement courts. Les résultats cliniques semblent bons sur les condyles fémoraux avec 92 % de bons résultats fonctionnels au recul moyen de sept ans, mais restent mauvais sur la rotule. Dans une étude portant sur 58 patients ayant une ostéochondrite disséquante du condyle fémoral, 15 patients ont eu une évaluation par IRM de la réparation cartilagineuse et 22 une arthroscopie pour en évaluer l'aspect macroscopique sur la base d'un score à 12 points. Treize des 15 patients ayant eu une IRM avaient un aspect comparable de la zone greffée et du cartilage alentour, et le score moyen appréciant l'aspect macroscopique était de 11,2 témoignant d'une incorporation satisfaisante de la réparation (30). Peu de publications font état de complica-

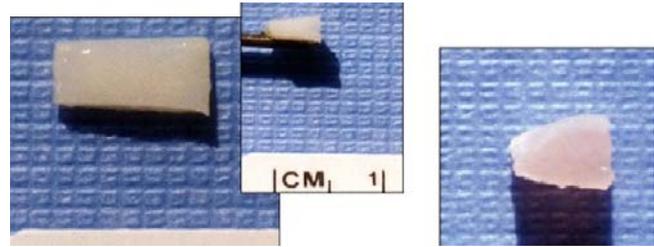


Figure 2. Fabrication de structures cartilagineuses à partir de cellules souches mésenchymateuses et d'une matrice en acide polyglycolique (PGA) et en collagène de type 1.

tions, essentiellement liées au détachement de la greffe, et à la survenue d'une hypertrophie du lambeau de périoste (30). Entre 1994 et 2009, plus de 40 études ont été publiées sur cette méthode, dont seule une dizaine sont des essais contrôlés de niveau 1. Les conclusions des essais comparatifs sont d'interprétation difficile pour des raisons méthodologiques, mais leurs résultats sont finalement assez peu concluants pour la greffe de chondrocytes par rapport aux microfractures et à la mosaïoplasty. Il s'agit par ailleurs d'une technique lourde nécessitant deux interventions, deux anesthésies, et un temps de culture cellulaire au coût élevé.

Parmi les inconvénients et inconnues de cette méthode, on peut citer les difficultés techniques, nécessitant une courbe d'apprentissage, l'absence d'étude sur la participation réelle des cellules implantées à la réparation du défaut, l'absence de contrôle du phénotype des cellules avant leur implantation, l'évaluation insuffisante du cartilage néoformé, en termes histologique, biochimique, et biomécanique.

Ingénierie tissulaire du cartilage

Les inconvénients et limites de la greffe de chondrocytes expliquent qu'elle ne soit couramment pratiquée que dans certains pays comme les États-Unis ou la Suède où plus de 5 000 implantations ont été effectuées. La recherche porte actuellement sur le développement de matériaux supports sur lesquels pourraient être directement cultivées les cellules avant leur implantation, et qui permettraient de sécuriser les cellules dans le défaut cartilagineux sans avoir recours au patch de périoste. L'objectif est de fabriquer au laboratoire des structures cartilagineuses ayant une composition biochimique et des propriétés mécaniques les plus proches possibles de celles du cartilage natif. Historiquement, les premières cellules utilisées étaient les chondrocytes pour leur capacité naturelle à produire une matrice cartilagineuse riche en glycosaminoglycanes et en collagène de type II. Une autre source importante de cellules chondrogéniques est la moelle osseuse, qui contient une population de cellules pluripotentes, appelées cellules souches mésenchymateuses (CSM), capables de se différencier *in vitro* en chondrocytes sous certaines conditions de culture.

Choix du matériau support

Les matériaux supports sélectionnés doivent favoriser le contact entre les cellules, inhiber la dédifférenciation cellulaire observée en culture sur supports standard, et stimuler la différenciation chondrocytaire. Ils doivent être biocompatibles, poreux et biodégradables avec une vitesse de dégradation compatible avec la vitesse de néoformation tissulaire. Il peut s'agir d'éponges de collagène, dans les produits Novocart® (TETEC, Reutlingen, Allemagne), Arthromatrix® (Orthogen, Düsseldorf, Allemagne), ou de gel de collagène dans les produits CaReS® (Fraunhofer Institute for Interfacial Engineering and Biotechnology, Stuttgart) et Atelocollagen® (Koken, Japon). Dans le procédé Cartipatch®, les chondrocytes sont en-

semencés sur un matériau d'alginate couplé à de l'agarose (*Cartipatch*[®], TBF, France). Enfin, les chondrocytes peuvent être couplés à un gel d'acide hyaluronique.

Source cellulaire

Théoriquement, on pourrait utiliser toute cellule capable de différenciation en chondrocytes. Cependant, nous sommes dans un cas de chirurgie fonctionnelle et il paraît donc difficile d'envisager l'utilisation de cellules allogéniques requérant l'utilisation d'immunosuppresseurs ou l'implantation de cellules souches embryonnaires. La majorité des travaux effectués jusqu'à présent ont été réalisés avec des cellules autologues adultes, qu'il s'agisse de chondrocytes ou de cellules souches mésenchymateuses.

Chondrocytes

Les chondrocytes sont obtenus par digestion enzymatique d'une biopsie cartilagineuse, puis directement cultivés sur différents matériaux supports. L'étude clinique multicentrique de phase II réalisée en France avec le *Cartipatch*[®] a porté sur 17 patients présentant des lésions traumatiques ou secondaires à une ostéochondrite (36), et évalués avec un recul minimum de deux ans. Le score IKDC était significativement amélioré, l'analyse histologique effectuée dans 13 cas montrait un cartilage de type essentiellement hyalin dans huit cas, et l'IRM effectuée à deux ans montrait un signal identique au cartilage normal dans 10 cas sur 15. Une étude comparative versus mosaïcplasty est en cours. Dans l'étude de Nehrer (25), 36 patients symptomatiques ont été traités par le *Hyalograft C*[®] (*Fidia, Italie*). Les meilleurs résultats étaient obtenus chez les patients de moins de 30 ans ayant une lésion condylienne unique. Les résultats cliniques, évalués par les scores de Cincinnati, Lysholm et IKDC semblaient se maintenir au recul de trois ans.

Cellules souches mésenchymateuses

Friedenstein (12) fut le premier à démontrer le potentiel de prolifération et de différenciation de cellules adhérentes fibroblastiques présentes dans le stroma de la moelle osseuse, et appelées « Colony Forming Units - Fibroblasts » (CFU-F). Ces cellules ont souvent le qualificatif de cellules souches en raison de leur capacité de prolifération et de leur pluripotentialité, mais on connaît en réalité assez mal leur capacité d'auto-renouvellement *in vivo*, ainsi que les possibilités d'interconversion des lignées cellulaires qui sont encore très controversées. Par la suite, ces cellules ont reçu différentes dénominations, cellules souches du stroma de la moelle (Marrow Stromal Stem Cells, MSSC) (31), ou cellules souches mésenchymateuses (Mesenchymal Stem Cells, MSCs) (6,32), terme qui sera privilégié dans cet article. Les CSM ont d'abord été isolées de la moelle osseuse, mais d'autres sources cellulaires ont été proposées pour recueillir des cellules souches adultes, en particulier le tissu adipeux (graisse sous-cutanée, espace graisseux rétro-rotulien) (15), la membrane synoviale (37), le sang périphérique (18), le sang de cordon ombilical (21), les vaisseaux (9), les dents (24). La ponction de sang périphérique apparaît comme une source de CSM attrayante compte tenu de son caractère non invasif, mais n'a pu être reproduite par tous les auteurs (19). Une fois isolées, les CSM ont un potentiel de croissance important *in vitro*, qui peut être maintenu jusqu'à 26 passages en culture. On estime aujourd'hui pouvoir obtenir un milliard de cellules au 6^{ème} passage *in vitro* à partir d'une boîte de culture contenant 100 à 500 cellules adhérentes. Les CSM sont des cellules pluripotentes, capables de se différencier sous certaines conditions en cellules de la lignée mésenchymateuse (ostéoblastiques, chondroblastiques, fibroblastiques, et adipocytaires), mais aussi dans de nombreuses autres voies (2,8). La différenciation

chondrogénique des CSM se fait sous la dépendance d'un puissant facteur de transcription (Sox 9) (10), et requiert des conditions de culture très particulières. La possibilité d'une différenciation chondrocytaire à partir de CSM a été d'abord décrite sur des précipités cellulaires infra-millimétriques (17), et plus récemment sur des supports de petite taille en gélatine (33), alginate (7), fibrine (26), acide hyaluronique (1), ou collagène (13) (Fig. 2).

Limites et perspectives

Malgré une composition proche de celle du cartilage natif, les structures obtenues *in vitro* avec les chondrocytes ou les CSM ne peuvent être qualifiées de cartilage hyalin. Trois facteurs jouent un rôle déterminant sur le processus de différenciation chondrocytaire, et peuvent agir indépendamment sur la production de GAGs et/ou de collagène de type II (16) : les facteurs de croissance, les conditions d'oxygénation, la nature et l'importance des contraintes mécaniques. Ces facteurs doivent être optimisés avant d'envisager une éventuelle application clinique.

Une alternative particulièrement prometteuse à la greffe de cellules souches ou de chondrocytes est l'implantation de matrices acellulaires chargées de facteurs de croissance. Cette approche, également appelée régénération *in vivo*, est d'autant plus intéressante qu'elle permet de s'affranchir de l'étape de culture cellulaire, coûteuse, et potentiellement à risque d'infection. Dans une étude récente, Lee (20) a pu reconstruire chez le lapin une épiphyse humérale entière à partir d'une matrice en poly-caprolactone fabriquée taille pour taille par prototypage rapide et chargée d'un facteur de croissance chondrogénique, le TGF β .

Conclusion

L'incidence exacte des lésions cartilagineuses est inconnue, mais elle semble en augmentation constante du fait d'un meilleur dépistage radiologique et arthroscopique. On estime par exemple que 40 à 60 % des entorses graves du genou avec rupture du ligament croisé antérieur seraient responsables de lésions chondrales, et que 20 % d'entre elles seraient des lésions profondes atteignant la plaque osseuse sous-chondrale. La découverte d'une telle lésion n'impose cependant pas la réalisation d'une greffe, car bien que l'on ne dispose que de très peu de données objectives sur l'évolution naturelle de ces lésions, il semble qu'une partie d'entre elles puissent cicatriser spontanément (en dessous de 3-5 mm de diamètre) ou, en tout cas, n'induire aucune gêne fonctionnelle à terme. La possibilité de réparer une perte de substance ostéo-chondrale par thérapie cellulaire ouvre des perspectives thérapeutiques fascinantes pour un certain nombre de patients. L'implantation de CSM non différenciées a été proposée par plusieurs auteurs (38,39), mais elle reste limitée à la réparation de pertes de substance de très petite taille (<3 mm) sur petit modèle animal. La réparation de défauts de plus grande taille, tels que ceux observés en clinique, nécessite l'implantation d'un très grand nombre de CSM, dont la différenciation chondrocytaire *in vivo* sera probablement incomplète. La prédifférenciation des CSM en chondrocytes *in vitro* a l'avantage de réduire les risques de différenciation des CSM dans d'autres phénotypes après implantation, comme cela a été observé avec les cellules souches embryonnaires (22), et de connaître avec précision le degré de maturation des structures implantées. Une voie prometteuse est celle des matériaux chargés de facteurs de croissance sans adjonction de cellules, les facteurs de croissance ayant pour rôle d'attirer les cellules de l'hôte et de promouvoir la réparation tissulaire.

Références

- Angele P, Kujat R, Nerlich M, Yoo J, Goldberg V, Johnstone B. Engineering of osteochondral tissue with bone marrow mesenchymal progenitor cells in a derivatized hyaluronan-gelatin composite sponge. *Tissue Eng* 1999;5:545-54.
- Black IB, Woodbury D. Adult rat and human bone marrow stromal stem cells differentiate into neurons. *Blood Cells Mol Dis* 2001;27:632-6.
- Briggs TW, Mahroof S, David LA, Flannelly J, Pringle J, Bayliss M. Histological evaluation of chondral defects after autologous chondrocyte implantation of the knee. *J Bone Joint Surg Br* 2003;85:1077-83.
- Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 1994;331:889-95.
- Browne JE, Anderson AF, Arciero R, Mandelbaum B, Moseley JB Jr, Micheli LJ et al. Clinical outcome of autologous chondrocyte implantation at 5 years in US subjects. *Clin Orthop Relat Res* 2005;237-45.
- Caplan AI. Review: mesenchymal stem cells: cell-based reconstructive therapy in orthopedics. *Tissue Eng* 2005;11:1198-211.
- Caterson EJ, Nesti LJ, Li WJ, Danielson KG, Albert TJ, Vaccaro AR et al. Three-dimensional cartilage formation by bone marrow-derived cells seeded in poly(lactide)/alginate amalgam. *J Biomed Mater Res* 2001;57:394-403.
- Chen LB, Jiang XB, Yang L. Differentiation of rat marrow mesenchymal stem cells into pancreatic islet beta-cells. *World J Gastroenterol*. 2004;10:3016-20.
- De Angelis L, Berghella L, Coletta M, Lattanzi L, Zanchi M, Cusella-De Angelis MG et al. Skeletal myogenic progenitors originating from embryonic dorsal aorta coexpress endothelial and myogenic markers and contribute to postnatal muscle growth and regeneration. *J Cell Biol* 1999;147:869-78.
- de Crombrugge B, Lefebvre V, Behringer RR, Bi W, Murakami S, Huang W. Transcriptional mechanisms of chondrocyte differentiation. *Matrix Biol* 2000;19:389-94.
- Ferruzzi A, Calderoni P, Grigolo B, Gualtieri G. Autologous chondrocytes implantation: indications and results in the treatment of articular cartilage lesions of the knee. *Chir Organi Mov* 2004;89:125-34.
- Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, Frolova GP. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation* 1968;6:230-47.
- Hannouche D, Terai H, Fuchs JR, Terada S, Zand S, Nasser BA et al. Engineering of implantable cartilaginous structures from bone marrow derived mesenchymal stem cells. *Tissue Eng* 2006;13:87-99.
- Henderson I, Francisco R, Oakes B, Cameron J. Autologous chondrocyte implantation for treatment of focal chondral defects of the knee--a clinical, arthroscopic, MRI and histologic evaluation at 2 years. *Knee* 2005;12:209-16.
- Huang JI, Kazmi N, Durbhakula MM, Hering TM, Yoo JU, Johnstone B. Chondrogenic potential of progenitor cells derived from human bone marrow and adipose tissue: a patient-matched comparison. *J Orthop Res* 2005;23:1383-9.
- Ikenoue T, Trindade MC, Lee MS, Lin EY, Schurman DJ, Goodman SB et al. Mechanoregulation of human articular chondrocyte aggrecan and type II collagen expression by intermittent hydrostatic pressure in vitro. *J Orthop Res* 2003;21:110-6.
- Johnstone B, Hering TM, Caplan AI, Goldberg VM, Yoo JU. In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells. *Exp Cell Res* 1998;238:265-72.
- Kuwana M, Okazaki Y, Kodama H, Izumi K, Yasuoka H, Ogawa Y et al. Human circulating CD14+ monocytes as a source of progenitors that exhibit mesenchymal cell differentiation. *J Leukoc Biol* 2003;74:833-45.
- Lazarus HM, Haynesworth SE, Gerson SL, Caplan AI. Human bone marrow-derived mesenchymal (stromal) progenitor cells (MPCs) cannot be recovered from peripheral blood progenitor cell collections. *J Hematother* 1997;6:447-55.
- Lee CH, Cook JL, Mendelson A, Moiola EK, Yao H, Mao JJ. Regeneration of the articular surface of the rabbit synovial joint by cell homing: a proof of concept study. *Lancet* 2010;376:440-8.
- Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood*. 2004;103:1669-75.
- Mackenzie TC, Flake AW. Multilineage differentiation of human MSC after in utero transplantation. *Cytotherapy*. 2001;3:403-5.
- Minas T. Autologous chondrocyte implantation for focal chondral defects of the knee. *Clin Orthop Relat Res* 2001;391:349-61.
- Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:5807-12.
- Nehrer S, Domayer S, Dorotka R, Schatz K, Bindreiter U, Kotz R. Three-year clinical outcome after chondrocyte transplantation using a hyaluronan matrix for cartilage repair. *Eur J Radiol* 2006;57:3-8.
- Oshima Y, Watanabe N, Matsuda K, Takai S, Kawata M, Kubo T. Fate of transplanted bone-marrow-derived mesenchymal cells during osteochondral repair using transgenic rats to simulate autologous transplantation. *Osteoarthritis Cartilage* 2004;12:811-7.
- 2Peterson L, Brittberg M, Kiviranta I, Akerlund EL, Lindahl A. Autologous chondrocyte transplantation. Biomechanics and long-term durability. *Am J Sports Med* 2002;30:2-12.
- Peterson L, Menche D, Grande D. Chondrocyte transplantation: an experimental model in the rabbit. *Trans Orthop Res Soc* 1984;9:218.
- Peterson L, Minas T, Brittberg M, Lindahl A. Treatment of osteochondritis dissecans of the knee with autologous chondrocyte transplantation: results at two to ten years. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85:17-24.
- Peterson L, Minas T, Brittberg M, Nilsson A, Sjogren-Jansson E, Lindahl A. Two- to 9-year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clin Orthop Relat Res* 2000;212-34.
- Petite H, Hannouche D. Marrow stromal stem cells for repairing the skeleton. *Biotechnol Genet Eng Rev* 2002;19:83-101.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143-7.
- Ponticelli MS, Schinagl RM, Kadiyala S, Barry FP. Gelatin-based resorbable sponge as a carrier matrix for human mesenchymal stem cells in cartilage regeneration therapy. *J Biomed Mater Res* 2000;52:246-55.
- Robert H, Bahuaud J, Kerdiles N, Passuti N, Capelli M, Pujol JP et al. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation: a review of 28 cases. *Rev Chir Orthop* 2007;93:701-9.
- Roberts S, McCall IW, Darby AJ, Menage J, Evans H, Harrison PE et al. Autologous chondrocyte implantation for cartilage repair: monitoring its success by magnetic resonance imaging and histology. *Arthritis Res Ther* 2003;5:60-73.
- Selmi TA, Verdonk P, Chambat P, Dubrana F, Potel JF, Barnouin L et al. Autologous chondrocyte implantation in a novel alginate-agarose hydrogel: Outcome at two years. *J Bone Joint Surg Br* 2008;90:597-604.
- Shirasawa S, Sekiya I, Sakaguchi Y, Yagishita K, Ichinose S, Muneta T. In vitro chondrogenesis of human synovium-derived mesenchymal stem cells: optimal condition and comparison with bone marrow-derived cells. *J Cell Biochem* 2006;97:84-97.
- Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, Young RG, Mansour JM, Caplan AI et al. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76:579-92.
- Wakitani S, Mitsuoka T, Nakamura N, Toritsuka Y, Nakamura Y, Horibe S. Autologous bone marrow stromal cell transplantation for repair of full-thickness articular cartilage defects in human patellae: two case reports. *Cell Transplant*. 2004;13:595-600.
- Whittaker JP, Smith G, Makwana N, Roberts S, Harrison PE, Laing P et al. Early results of autologous chondrocyte implantation in the talus. *J Bone Joint Surg Br* 2005;87:179-83.