

Stamcellebehandlingen inden for kardiologien er fortsat under afprøvning. Det er endnu uklart, hvilken type stamcelle og hvilken behandlingsmetode der er den optimale. For øjeblikket peger meget på, at injektion af stamceller direkte i myokardiet giver den bedste retention af cellerne, og at denne metode er sikker [20]. Der mangler fortsat resultater fra store kontrollerede kliniske studier, før det kan afgøres, om regenerativ behandling af hjertepatienter er en fremtidig behandlingsmulighed.

**KORRESPONDANCE:** Jens Kastrup, Rigshospitalet, Kardiologisk Laboratorium 2014, 2100 København Ø. E-mail: jens.kastrup@rh.regionh.dk

**ANTAGET:** 25. juni 2010

**INTERESSEKONFLIKTER:** Ingen

#### LITTERATUR

- Mathiasen AB, Haack-Sorensen M, Kastrup J. Mesenchymal stromal cells for cardiovascular repair: current status and future challenges. *Future Cardiol* 2009;5:605-17.
- Haack-Sorensen M, Bindslev L, Mortensen S et al. The influence of freezing and storage on the characteristics and functions of human mesenchymal stromal cells isolated for clinical use. *Cytotherapy* 2007;9:328-37.
- Haack-Sorensen M, Friis T, Bindslev L et al. Comparison of different culture conditions for human mesenchymal stromal cells for clinical stem cell therapy. *Scand J Clin Lab Invest* 2008;68:192-203.
- Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res* 2004;95:9-20.
- Wang JS, Shum-Tim D, Galipeau J et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:999-1005.
- Murohara T, Shintani S, Kondo K. Autologous adipose-derived regenerative cells for therapeutic angiogenesis. *Curr Pharm Design* 2009;15:2784-90.
- Le BK, Samuelsson H, Gustafsson B et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells. *Leukemia* 2007;21:1733-8.
- Iwase T, Nagaya N, Fujii T et al. Comparison of angiogenic potency between mesenchymal stem cells and mononuclear cells in a rat model of hindlimb ischemia. *Cardiovasc Res* 2005;66:543-51.
- de Macedo Braga LM, Lacchini S, Schaap BD et al. In situ delivery of bone marrow cells and mesenchymal stem cells improves cardiovascular function in hypertensive rats submitted to myocardial infarction. *J Biomed Sci* 2008;15:365-74.
- Valina C, Pinkernell K, Song YH et al. Intracoronary administration of autologous adipose tissue-derived stem cells improves left ventricular function, perfusion, and remodeling after acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2667-77.
- Kim Y, Kim H, Cho H et al. Direct comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose tissues and bone marrow in mediating neovascularization in response to vascular ischemia. *Cell Physiol Biochem* 2007;20:867-76.
- Freyman T, Polin G, Osman H et al. A quantitative, randomized study evaluating three methods of mesenchymal stem cell delivery following myocardial infarction. *Eur Heart J* 2006;27:1114-22.
- Assmus B, Rolf A, Erbs S et al. Clinical outcome 2 years after intracoronary administration of bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *Circ Heart Fail* 2010;3:89-96.
- Chen SL, Fang WW, Ye F et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004;94:92-5.
- Katritsis DG, Sotiropoulou PA, Karvouni E et al. Transcatheter transplantation of autologous mesenchymal stem cells and endothelial progenitors into infarcted human myocardium. *Catheter Cardiovasc Interv* 2005;65:321-9.
- Chen S, Liu Z, Tian N et al. Intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells for ischemic cardiomyopathy due to isolated chronic occluded left anterior descending artery. *J Invasive Cardiol* 2006;18:552-6.
- Mohyeddin-Bonab M, Mohamad-Hassani MR, Alimoghaddam K et al. Autologous in vitro expanded mesenchymal stem cell therapy for human old myocardial infarction. *Arch Iran Med* 2007;10:467-73.
- Katritsis DG, Sotiropoulou P, Giazitoglou E et al. Electrophysiological effects of intracoronary transplantation of autologous mesenchymal and endothelial progenitor cells. *Europace* 2007;9:167-71.
- Hare JM, Traverse JH, Henry TD et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (Prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:2277-86.
- Baldazzi F, Ripa RS, Jørgensen E et al. release of bio-markers of myocardial damage after direct intramyocardial injection of gene and stem cells via the percutaneous transluminal route. *Eur Heart J* 2008;29:1819-26.

## Reparation af knogle og brusk med stamceller

Cand.scient. Kenneth H. Larsen, cand.scient. Tom E. Andersen & professor Moustapha Kassem

### STATUSARTIKEL

Odense Universitets-hospital, Klinik for Molekylær Endokrinologi, Endokrinologisk Afdeling M

Brugen af stamceller i behandlingen af aldersrelaterede og degenerative sygdomme er et forskningsområde, der er i rivende udvikling. Stamceller har nemlig potentialet til at kunne regenerere en lang række forskellige væv lige fra knogle- til hjernevæv. Samtidigt skaber den stigende ældre befolkning – med deraf afledte aldersbetingede degenerative sygdomme – et stadigt større behov for behandlingsmuligheder inden for regenerativ medicin. Principielt kan behandling med stamceller ske ved enten at stimulere stamceller, som findes i de enkelte væv eller ved at oprense stamceller fra patienten selv, differentiere dem ex vivo (dvs. i laboratoriet) og transplantere dem tilbage i patienten. Sideløbende med forskningen i stamceller foregår der en udvikling af nye biomaterialer, som skal fungere som tredimensionale *scaffolds* for stamcellerne. Dette forskningsfelt, der

kaldes *tissue engineering*, skal klarlægge, hvorledes biomaterialer og stamceller i kombination kan anvendes til at give det nye væv den korrekte facon og optimere behandlingen. Til behandling af knogle- og bruskrelaterede lidelser er de mest interessante stamceller de såkaldte mesenkymale stamceller (MSC), som kan differentieres til bindevævsceller såsom osteoblaster, kondrocytter og adipocyter [1].

### HVAD ER MESENKYMAL STAMCELLER?

Mesenkymale stamceller (MSC) kaldes også voksne stamceller og er tenformede, fibroblastlignende celler, der er karakteriseret ved et antal ikkеспецифikke *cluster of differentiation* (CD)-markører. Cellerne er negative for de hæmatopoietiske markører CD34, CD45 og CD14 og positive for CD29, CD73, CD90, CD105, CD166, CD146 og CD44. Desuden har cel-



TABEL 1

Kliniske forsøg med mesenkymale stamceller til behandling af brusk- og knogleskader.

Reference	Indikation	MSC	Antal patienter	Resultater
Kim et al, 2009 [3]	Lange rørknoglefrakturer	Knoglemarv	32	Autologe MSC differentieret ex vivo øgede knoglecallusdannelsen
Macchiarini et al, 2008 [4]	Defekt luftrør	Epitelceller samt kondrocytter fra knoglemarvs-MS	1	Et funktionelt luftrør uden alvorlige bivirkninger
Quarto et al, 2001 [10]	Knoglefrakturer	Knoglemarvs-MS i HA/TCP	3	Øget knoglecallusdannelse
Marccacci et al, 2007 [11]	Lange rørknoglefrakturer	Knoglemarvs-MS	4	Frakturheling, men manglende reabsorption af HA/TCP efter syv år
Kawate et al, 2006 [15]	Steroidinduceret osteonekrose af femurhoved	Autologe knoglemarvs-MS dyrket med HA/TCP	3	Osteonekrose hindret og tidlig knogleregeneration observeret. Proceduren kan ikke bruges i tilfælde med alvorligt præoperativt kollaps
Kuroda et al, 2007 [16]	Brusk defekt i femoral condyle	Autologe knoglemarvs-MS	1	Transplantation af autologe MSC kan inducere regeneration af store focal articular cartilage-defekter i unge aktive patienter
Wakitani et al, 2004 [17]	Hele artikulære bruskdefekter i patellae	Autologe knoglemarvs-MS	2	Transplantation med autologe knoglemarvsstromaceller er en effektiv måde at inducere reparationen af artikulære bruskdefekter
Kitoh et al, 2004 [18]	Akondroplasi, kongenital pseudartrose	Autologe knoglemarvs-MS	3	Transplantation af osteoblastlignende celler og platelet-rig plasma synes at være en sikker og ikkeinvasiv terapi, som kan forkorte behandlingsperioden ved at accelerere knogleregenerationen
Yoshikawa et al, 2010 [19]	Intervertebral disk-regeneration	Knoglemarvs-MS	2	Tegn på diskregeneration og smertelindring

HA/TCP = hydroxyapatit/tricalciumfosfat; MSC = mesenkymale stamceller

lerne in vivo og ex vivo et multipotent differentieringspotentialer. MSC findes i mange organer, men blev først identificeret i knoglemarvsstromaet som celler, der understøtter hæmatopoiese (dannelse af den hæmatopoietiske stamcelleniche). Efterfølgende er de blevet identificeret i stromaet i en række forskellige organer såsom fedtvæv, lever, bugspytkirtel og mælketænder.

### HVORFOR ER MESENKYMALE STAMCELLER EN GOD BEHANDLINGSMULIGHED I KLINIKKEN?

Brugen af MSC i regenerativ medicin er attraktiv, da cellerne har en række fordele. For det første er der ikke de samme etiske problemstillinger ved MSC som ved brugen af embryonale stamceller fra menneskefostre. Dernæst er MSC lette at isolere fra forskellige væv, eksempelvis knoglemarv eller fedtvæv. Cellerne kan ekspanderes ex vivo under almindelige vækstbetingelser i mere end 25 populationsfordoblinger [2], hvilket i de fleste tilfælde vil være tilstrækkeligt til stamcellebehandling. Endvidere viser foreløbige resultater, at cellerne er genetisk stabile uden at forårsage dannelse af tumorer [3]. MSC udviser endelig en immunmodulatorisk og antiinflammatorisk effekt in vivo, hvilket åbner muligheder for at bruge dem i allogene transplantationsprotokoller uden brug af immunsuppressiv medicin.

### UDFORDRINGER VED ANVENDELSE AF MESENKYMALE STAMCELLER I KLINIKKEN

En række biologiske og bioteknologiske udfordringer skal endnu løses, før man i MSC har en optimal be-

handling af knogle- og bruskrelaterede lidelser. En vigtig opgave er at udvikle en ex vivo-protokol til dyrkning af MSC, uden at cellerne transformeres, og således at de samtidig bevarer deres differentieringspotentialer. Dyrkningsforholdene bør endvidere være kemisk definerede for at undgå kontakt med produkter fra dyr (eksempelvis føtalt kalveserum), som kan overføre vira og anden smitte. Alternativt kan der anvendes serum fra patienten selv til dyrkning af cellerne.

Ud over optimale dyrkningsforhold skal de nuværende metoder til at differentiere cellerne til enten osteoblaster eller bruskceller optimeres for at opnå



### MESENKYMALE STAMCELLER

Mesenkymale stamceller (MSC) kaldes også *skeletal stem cells*, *bone marrow stromal cells* og *multipotent mesenchymal stromal cells*.

MSC findes i det perivaskulære væv og kan lettest oprensnes fra knoglemarv og fedtvæv.

MSC-oprensning sker primært ved at udnytte cellernes evne til at binde sig til plastikoverfladen i dyrkningsflasker. Dette resulterer imidlertid i meget heterogene celler.

MSC kan differentieres til mesoderme celler såsom adipocytter, kondrocytter eller osteoblaster, men ikke hæmatopoietiske celler.

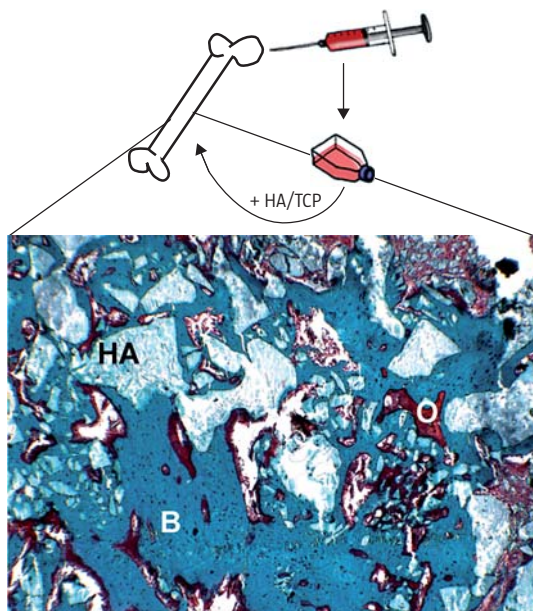
MSC fra knoglemarv har været anvendt i 35-40 år til behandling af leukæmi- og lymfeknudekræftpatienter.

MSC's sande natur er fortsat ukendt. Det vides ikke præcist, hvilke markører som karakteriserer og er unikke for MSC.

Brugen af autologe (fra patienten) MSC vanskeliggøres af, at MSC fra forskellige mennesker ikke reagerer ens, når man inducerer dem til at differentiere. Derfor vil en velkarakteriseret allogen MSC (MSC fra en anden person) være både billigere og bedre at anvende i klinikken.

FIGUR 1

Eksempel på anvendelse af autologe mesenkymale stamceller til behandling af skader og frakturer i lange rørknogler. Mesenkymale stamceller udtages med en sprøjte fra knoglemarven og dyrkes og differentieres ex vivo i op til fire uger. Herefter blandes cellerne med et *scaffold*, der består af hydroxyapatit/tricalciumfosfat. Celler og *scaffold* implanteres i det skadede område, og efter to måneder ses dannelse af mineraliseret knogle i implantatet (den mineraliserede knogle er vist med trichromfarvning). Kilde: Tilpasset efter [20].



B = knogle; HA = hydroxyapatit;  
HA/TCP = hydroxyapatit/tricalciumfosfat; O = osteoid.

mere homogene cellepopulationer. Herunder hører også undersøgelse af, hvilke biomaterialer der mest fordelagtigt kan anvendes i kombination med stamcellerne til at understøtte differentieringsprocessen og sygdomsbehandlingen. Endelig forudsætter en generel anvendelse af disse behandlingsmuligheder i klinikken, at alle arbejdsprocesser tilpasses reglerne for *Good Manufacture Practice* for at opnå en høj ensartet kvalitet og sikkerhed.

#### KLINISKE FORSØG MED BEHANDLING AF KNOGLE- OG BRUSKSKADER

De mest nærliggende behandlingsmuligheder med hensyn til knogle- og bruskvæv er ikkesystemiske skader som for eksempel lokale brusk- og knogledidelser og ikkehelende knoglebrud. Behandlingen af disse lokale skader er primært fokuseret på stamceller i kombination med forskellige biomaterialer. Mange af disse forsøg (Tabel 1) har fået en del opmærksomhed i pressen og skal kort beskrives her.

Det nok mest omtalte kliniske forsøg er transplantationen af et luftrør på en 30-årig kvinde, som havde fået sit eget luftrør ødelagt af tuberkulose. Den del af luftrøret, som kvinden manglede, kom fra en donor, hvor celler og antigener var blevet fjernet enzymatisk. Herefter blev luftrøret anbragt i en bioreaktor (dvs. et dyrkningsskab) og tilsat autologe epitelceller samt bruskceller, der var differentieret fra autologe MSC. Transplantationen resulterede i, at pa-

tienten omgående fik et funktionelt luftrør. Efter fire måneder uden immunsuppressiv behandling fungerede luftrøret fortsat normalt og uden bivirkninger [4]. Et andet tilsvarende eksempel på samme teknik blev udført for nylig med transplantationen af et helt luftrør til en tiårig dreng. Igen blev der anvendt et donorluftrør som *scaffold*. Patientens egne stamceller, der var isoleret fra knoglemarven, blev anbragt på det »rene« luftrør og stimuleret med vækstfaktorer for at differentiere cellerne. Herefter blev organet implanteret, hvilket resulterede i et fuldt funktionelt luftrør og derfor ubesværet vejrtrækning, hvilket bevirkede, at patienten genvandt evnen til at tale [5].

Reparation af bruskskader i led har været forsøgt behandlet med MSC, der var ekspanderet ex vivo med en kollagengel som *scaffold*. Disse behandlinger gjorde det muligt for patienterne at genoptage deres daglige aktiviteter med fuld førlighed. Et opfølgende studie fem år senere viste ydermere, at der hverken var tilbagefald eller bivirkninger ved behandlingerne [6, 7].

MSC er også blevet anvendt i forbindelse med total ledalloplastik. I et forsøg med tre patienter med svær ankelosteoartrose blev patienterne behandlet med en keramisk ankelprotese, der var dækket med autologe MSC og MSC-dannet knoglematrix. Indledende data fra dette forsøg viste et godt klinisk forløb uden tegn på inflammation i implantatet [8]. I et andet nyligt studie af patienter med knæosteoartrose blev behandlingen udført ved at indsprøjte autologe MSC perkutant i knæledet. En opfølgende magnetisk resonans-skanning af knæledet viste vækst af både brusk og menisk, som resulterede i reducerede smerter fra knæledet og i en forøget bevægelighed [9].

Inden for behandling af knogleskader ses også meget lovende resultater. For nylig blev der gennemført et randomiseret multicenterforsøg, i hvilket formålet var at undersøge, hvorvidt autologe osteoblaster kunne bruges til at reparere lange rørbknoglefrakturer [3]. Forsøget inkluderede 64 patienter med disse knoglefrakturer, og patienterne blev delt i to grupper. Den ene gruppe fik autologe osteoblaster sprøjtet ind i frakturområdet, mens den anden fungerede som kontrolgruppe. Cellerne, som blev anvendt i behandlingen, var i forvejen blevet isoleret fra knoglemarven og differentieret til osteoblaster ex vivo i 28 dage. Herefter blev cellerne fordelt i et biologisk *scaffold* og sprøjtet ind i frakturområdet. Forsøgets resultater viste, at frakturhelingen var hurtigere i den behandlede gruppe, og at behandlingerne ikke var forbundet med væsentlige komplikationer. Disse resultater viser, at metoden bør anses for en potentiel behandlingsmulighed ved langsomthelende frakturer i de lange rørbknogler (Figur 1).

I et andet klinisk forsøg, der inkluderede tre patienter med store knoglefrakturer og en defekt frakturheling, fik patienterne autologe MSC i en hydroxyapatite/tricalciumfosfat (HA/TCP) *scaffold*. Patienterne blev efterfølgende monitoreret i en periode på op til 27 måneder. I denne periode fik patienterne færdigheden tilbage uden større bivirkninger. Callusdannelsen og integrationen af implantatet var synlige allerede to måneder efter implantationen; en proces, der normalt ville have taget 12-18 måneder med traditionelle knogletransplantationsteknikker [10]. I et tilsvarende sammenligneligt studie af implantation af autologe osteoblaster viste undersøgelser over en syvårig periode, at knogledefekterne var helt regenererede. Implantatet var fuldstændigt fusioneret og integreret inden for en gennemsnitlig periode på syv måneder. Desværre fandt man dog også, at HA/TCP-scaffolds ikke var blevet reabsorberet selv syv år efter implantationen [11]. Dette kan muligvis kompromittere en nydannet knogles mekaniske egenskaber, og *scaffold*-reabsorption bør derfor være en egenskab, man tilstræber i fremtidige biomaterialer, hvis de skal bruges inden for denne type behandling.

I behandlinger inden for rygradsfusion har stamceller ligeledes med fordel været anvendt. Det er demonstreret i et forsøg med MSC, der blev implanteret sammen med hydroxyapatite som *scaffold*. I alt 41 patienter indgik i forsøget, og 34 måneder efter implantationen observerede man en god rygradsfusion med kun få bivirkninger [12]. Kæbedefekter har også været forsøgt behandlet med stamceller. I et forsøg blev MSC ekspanderet og differentieret *ex vivo* og dernæst anbragt i en uopløselig plasmarig gel på et titanium-implantat. En toårig opfølgning på studiet viste, at implantatet var velintegreret i alle patienter [13]. I samme henseende har man for nylig været i stand til at fremstille en del af kæbeknoglen (*temporomandibular joint*) i anatomisk korrekte forhold. Dette blev gjort ved at udtage en knogle fra en fire måneder gammel kalv, fjerne cellerne og via avanceret modellering skabe en eksakt 3D-model af den ønskede knogle. Derefter kom man knoglen ind i en bioreaktor, hvor »kæbemodellen« blev dækket med autologe MSC før implantation. Denne teknik gør det muligt at lave meget specielle knoglestrukturer, og metoden må anses for at have et stort potentiale inden for regenerativ medicin [14].

## KONKLUSION

De nævnte eksempler og fremskridt i brugen af stamceller til behandling af knogle- og brusklidelser skaber stor optimisme med hensyn til mulighederne inden for regenerativ medicin. Stamcellers fulde

potentiale kan imidlertid først opnås, når vi har en bedre forståelse af, præcist hvilke vækstfaktorer og biomaterialer, der er mest optimale for behandlingen. Endvidere kræves der også en bedre forståelse af, hvorledes forskellige dyrkningsforhold af stamceller *ex vivo* påvirker risici i forhold til immunologisk afstødning og genetisk stabilitet af cellerne. Endelig er der behov for flere kliniske forsøg, i hvilke man inkluderer et større antal forsøgspersoner for at kunne demonstrere, hvor effektive disse behandlinger er.

**KORRESPONDANCE:** Moustapha Kassem, Klinik for Molekylær Endokrinologi, Endokrinologisk Afdeling M, Odense Universitetshospital, Winsløwparken 25, 1. sal, 5000 Odense C. E-mail: mkassem@health.sdu.dk

**ANTAGET:** 15. juli 2010

**INTERESSEKONFLIKTER:** Ingen

## LITTERATUR

1. Abdallah BM, Kassem M. The use of mesenchymal (skeletal) stem cells for treatment of degenerative diseases: current status and future perspectives. *J Cell Physiol* 2009;218:9-12.
2. Bernardo ME, Zaffaroni N, Novara F et al. Human bone marrow derived mesenchymal stem cells do not undergo transformation after long-term in vitro culture and do not exhibit telomere maintenance mechanisms. *Cancer Res* 2007;67:9142-9.
3. Kim SJ, Shin YW, Yang KH et al. A multi-center, randomized, clinical study to compare the effect and safety of autologous cultured osteoblast (Ossron) injection to treat fractures. *BMC Musculoskelet Disord* 2009;10:20.
4. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet* 2008;372:2023-30.
5. Laurance J. British boy receives trachea transplant built with his own stem cells. *BMJ* 2010;340:c1633.
6. Kuroda R, Ishida K, Matsumoto T et al. Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15:226-31.
7. Wakitani S, Nawata M, Tensho K et al. Repair of articular cartilage defects in the patello-femoral joint with autologous bone marrow mesenchymal cell transplantation: three case reports involving nine defects in five knees. *J Tissue Eng Regen Med* 2007;1:74-9.
8. Ohgushi H, Kotobuki N, Funaoka H et al. Tissue engineered ceramic artificial joint *ex vivo* osteogenic differentiation of patient mesenchymal cells on total ankle joints for treatment of osteoarthritis. *Biomaterials* 2005;26:4654-61.
9. Centeno CJ, Busse D, Kisiday J et al. Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease using percutaneously implanted, autologous mesenchymal stem cells. *Pain Physician* 2008;11:343-53.
10. Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R et al. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. *N Engl J Med* 2001;344:385-6.
11. Marcacci M, Kon E, Moukhachev V et al. Stem cells associated with macro-porous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Eng* 2007;13:947-55.
12. Gan Y, Dai K, Zhang P et al. The clinical use of enriched bone marrow stem cells combined with porous beta-tricalcium phosphate in posterior spinal fusion. *Biomaterials* 2008;29:3973-82.
13. Ueda M, Yamada Y, Kagami H et al. Injectable bone applied for ridge augmentation and dental implant placement: human progress study. *Implant Dent* 2008;17:82-90.
14. Grayson WL, Frohlich M, Yeager K et al. Engineering anatomically shaped human bone grafts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:3299-304.
15. Kawate K, Yajima H, Ohgushi H et al. Tissue-engineered approach for the treatment of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head: transplantation of autologous mesenchymal stem cells cultured with beta-tricalcium phosphate ceramics and free vascularized fibula. *Artif Organs* 2006;30:960-2.
16. Kuroda R, Ishida K, Matsumoto T et al. Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells. *Osteoarthritis and Cartilage* 2007;15:226-31.
17. Wakitani S, Mitsuoka T, Nakamura N et al. 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.
18. Kitoh H, Kitakoji T, Tsuchiya H et al. Transplantation of marrow-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma during distraction osteogenesis – a preliminary result of three cases. *Bone* 2004;35:892-8.
19. Yoshikawa T, Ueda Y, Miyazaki K et al. Disc regeneration therapy using marrow mesenchymal cell transplantation: A report of two case studies. *Spine* 2010;35:E475-E480.
20. Larsen KH, Frederiksen CM, Burns JS et al. Identifying a molecular phenotype for bone marrow stromal cells with in vivo bone forming capacity. *J Bone Miner Res* 2010;25:796-808.