

## 関節軟骨再生の現状と将来

脇谷 滋之

## Present Status and Perspective of Articular Cartilage Regeneration

Shigeyuki WAKITANI

*Department of Orthopaedic Surgery, Osaka City University Graduate School of Medicine,  
1-4-3 Asahi, Abeno-ku, Osaka 545-8585, Japan*

(Received January 16, 2007)

Because the capacity of articular cartilage for repair is limited, defects are a major clinical problem, and there is at present no satisfactory clinical technique to regenerate cartilage defects. Current clinical practice involves the bone stimulation technique, which breaks subchondral bone to facilitate cartilage repair from bone marrow derived cells and cytokines. This consists of multiple perforations, abrasions, and micro-fractures. However, with this procedure, cartilage defects are repaired with fibrocartilage, which is known to be biochemically and biomechanically different from normal hyaline cartilage and degeneration occurs in the reparative tissue. Autologous chondrocyte implantation (ACI) for repair of human articular cartilage was reported in 1994, and approved by the USA Food and Drug Association in 1997. This procedure has been performed for more than 20000 people all over the world, but its effectiveness is still controversial. Mosaic plasty was explored in the 1990s. Using this procedure, we can repair defects with hyaline cartilage, but the donor site morbidity is unsolved. To explore a new method for cartilage repair, we transplanted autologous culture-expanded bone marrow mesenchymal cells into articular cartilage defects. Clinical symptoms were improved but the repair cartilage was not hyaline cartilage. Further improvement is required. Many investigations have been made in the search for better means of repair, including gene transduction and the addition of growth factors during cell culture. In addition to bone marrow mesenchymal cells, synovial cells, adipocytes, muscle cells, etc. have been evaluated.

**Key words**—chondrocyte; progenitor cell; transplantation

## 1. はじめに

関節軟骨の再生は、皮膚あるいは歯科領域の再生とともに最も早くから開発されてきた方法の1つである。1997年、米国食品医薬品局により認められた自己軟骨細胞移植による関節軟骨再生は、整形外科の分野で世界で最初に認可された「組織再生工学を利用した商品」である。それから10年弱が経過し、世界中で約2万例に施行されたが、いまだにその有効性については論争中であり、結論を得ていない。その原因として、関節軟骨欠損による臨床症状あるいは自然経過が明らかにされていないため手術適応があいまいであること、及び修復の評価方法が確立されていないことが挙げられる。

本稿では、関節軟骨再生の現状と、将来、広く行われるために必要なことについて解説する。

## 2. 関節軟骨

関節軟骨は可動関節の相対する骨表面を覆い、軟骨下骨に掛かる外圧を分散・吸収するショックアブソーバー、及び関節表面の摩擦係数を低下させ滑動性をよくする役割を持っている。関節軟骨は疎な軟骨細胞と無構造の豊富な軟骨基質からなり、無構造な軟骨基質が硝子のようなことから、組織学的に硝子軟骨と呼ばれる。

関節軟骨は血管・神経・リンパを欠く。軟骨器質は含水性に富み約70%が水分である。血管を持たない関節軟骨は関節液からの拡散により栄養されており、荷重による関節軟骨圧縮時の関節液の移動により関節軟骨細胞の栄養が促進される。

関節軟骨の修復能力は非常に弱い。その原因として血流が乏しいこと、細胞周囲に密度の高い基質が存在していること、あるいは軟骨細胞自体が高度に

大阪市立大学大学院医学研究科整形外科 (〒545-8585  
大阪市阿倍野区旭 1-4-3)

e-mail: wakitani@med.osaka-cu.ac.jp

本総説は、日本薬学会第126年会シンポジウムS4で発表したものを中心に記述したものである。

分化しておりほとんど分裂増殖しないことなどが考えられている。

### 3. これまでの関節軟骨修復法

関節軟骨欠損の治療法として、約1世紀前に同種骨軟骨移植、数十年前に骨髄刺激法、自己骨軟骨移植が開発された。しかしながら、骨髄刺激法以外は様々な問題があり広く行われてはいなかった。1990年代になり、自己骨軟骨移植の改良方法である mosaic plasty 法が開発され、いくつかの問題はあるが、これまでに比べはるかに有効であることが明らかになった。また、同じ頃、組織再生工学の進歩により、自己軟骨細胞移植が開発され、これも世界中でこれまでに2万例以上に行われ、これで関節軟骨欠損修復の問題が解決されたかと思われた。しかしながら、ドナーサイトあるいは有効性の評価が一定しないなどの問題があり、さらに良好な方法の開発が望まれている。

**3-1. 骨髄刺激法 (Marrow Stimulation Technique)** 関節軟骨欠損を修復する方法として、約半世紀前から骨髄刺激法が行われてきた。この方法は軟骨損傷部の軟骨下骨の連続性を断ち、骨髄からの出血を生じさせ軟骨前駆細胞及び成長因子を損傷部に供給し軟骨修復を促進させる方法である。出血させる方法の違いにより、multiple perforation 法,<sup>1)</sup> abrasion 法,<sup>2)</sup> microfracture 法<sup>3)</sup>の3つがある。この中で microfracture 法は熱を発生しないこと、関節内で角度のつけ難い場所でも容易に施行できることから、現在、最も広く行われている。

簡便であり侵襲も少ないことから現在も広く行われている方法であるが、再生されるのは本来の硝子軟骨ではなく主として線維軟骨であると考えられている。線維軟骨による修復の是非については論争中である。動物実験モデルにて線維軟骨による修復は長期経過において関節症性変化を引き起こすとの報告<sup>4)</sup>もみられるが、ヒトでは、少なくとも短期成績には問題がないとの報告が多く、その簡便性から組織再生工学などの手法を行う前にまず行ってみる価値のある方法である。

**3-2. 骨軟骨移植法** 同種骨軟骨移植法は約1世紀前から欧米で行われてきた。欧米では tissue banking system が確立されていたために、商業ベースで同種骨軟骨が入手可能であり広く行われている。しかし、冷凍保存された軟骨は細胞が死滅して

いるために関節軟骨修復法としては効果がないこと、あるいは2004年報告されたように感染症の問題がある。<sup>5)</sup> いずれにせよ、わが国には tissue banking system が完備されておらず、同種骨軟骨移植法の施行は不可能である。

自己骨軟骨移植法の場合には自己骨軟骨片の採取による欠損部ができるという問題があった。大きな欠損の場合、場所が変わるとはいえそれに匹敵する大きな欠損ができることになり、ほとんど普及しなかった。十数年前から、自己骨軟骨移植法の改良法である mosaic plasty 法が行われるようになり良好な成績が報告されている。<sup>6)</sup> この方法では小さな自己骨軟骨組織を関節の荷重にあまり関与しない周辺部から複数個採取し、それを骨軟骨欠損部にモザイク状に移植する。関節軟骨採取部を分散させるため大きな骨軟骨欠損を作らないこと、荷重しない部位からの骨軟骨片の採取が可能であることなどの利点があるが、本来の曲率の関節軟骨表面形状を再現するのが技術的に困難であること、採取できる骨軟骨片には限りがあること、周辺部とはいえ正常軟骨部に欠損が生じること、移植軟骨の層状剥離などが問題として指摘されている。<sup>7)</sup>

### 4. 軟骨細胞移植法による関節軟骨再生

**4-1. 同種軟骨細胞移植法** 1968年、家兎の実験系で同種軟骨細胞移植法が報告された。<sup>8)</sup> これは、同種の関節軟骨細胞あるいは成長軟骨細胞を血清に浮遊させて骨軟骨欠損部に移植する方法であるが、細胞の欠損部への固定が不十分であり良好な修復が得られなかった。その後、われわれは細胞の固定性をよくするためにコラーゲン・ゲルを利用すると成績が向上することを報告した。<sup>9,10)</sup> この方法は動物実験では、現在でも最も良好な修復が得られる方法の1つであるが、臨床応用に当たっては組織採取、感染症、あるいは拒絶反応の問題があり実用化が困難であった。米国では tissue banking system が確立されておりヒトの関節軟骨の採取が可能である。Advanced Tissue Science 社がヒトでの同種軟骨細胞移植法の商品開発を行っていたが、2002年の同社の倒産によりその開発は Smith & Nephew 社に移行されたが、同社もその開発を断念したようであり、いまだに同種軟骨細胞移植法の製品は開発されていない。

**4-2. 自己軟骨細胞移植法** 自己軟骨細胞移植

法は1989年にGrandeらが家兎の実験系で報告し、<sup>11)</sup>1994年Brittbergらがヒトに臨床応用した。<sup>12)</sup>自家軟骨片を非荷重部から採取し、軟骨細胞を単離後、単層培養した軟骨細胞を、骨膜で縫着した軟骨欠損部に浮遊液の状態に注入、移植する方法である。1997年、米国食品医薬品局の認可を受け、Genzyme Biosurgery社により商業ベースで提供され、欧米では既に2万例以上に行われた。

これらの方法の利点は自己細胞移植であるため免疫反応及び感染症が問題とならず、臨床応用が容易なことである。欠点としては軟骨採取のために正常組織に欠損を作ること、自己組織採取のために別に1回手術が必要であること、細胞を液体に浮遊させ骨膜で覆った欠損部に移植するため細胞の固定性が不十分であること、培養で細胞を増殖させる過程で脱分化を生じることなどが挙げられる。

1994年の最初の臨床応用の報告以来、自己軟骨細胞移植法による臨床症状の改善が良好であるとの報告がいくつもされてきた。<sup>13)</sup>しかしながら臨床の手術症例であるので、sham手術を施行するコントロール群との比較検討ができなかった。そのため、手術しなくても術後の安静、リハビリテーションである程度臨床症状が改善する可能性が示唆された。そこで2000年を過ぎてから、他の方法との比較検討が報告されるようになった。最初の比較は最も良好な修復が得られる自己軟骨移植法の改良法であるmosaic plasty法との比較が行われた。2003年、2つのrandomized controlled trialの報告がなされ、片方はmosaic plasty法が、<sup>14)</sup>他方は自己軟骨細胞移植法が良好であると報告した。<sup>15)</sup>またそれぞれの論文に対し、letter to the editorで質問が行われた。<sup>16,17)</sup>このようにこの2つの方法のどちらがよいかという論争が繰り広げられたが結論は得られていない。2004年、mosaic plasty法より簡単であるが成績が少し劣ると考えられていたmicrofracture法と自己軟骨細胞移植法のrandomized controlled trialの2年間の比較が行われ、差がないとの報告であった。<sup>18)</sup>高額な費用が掛かる自己軟骨細胞移植法が、ほとんど費用の掛からないmicrofracture法と比較してよい成績が得られなければ行いう価値がないことになり、軟骨再生の現場に大きな論争を引き起こした。2005年、今度はmicrofracture法よりさらに簡単でほとんど修復を望めないと考えられてい

るdebridement法と自己軟骨細胞移植法のrandomized controlled trialでの比較検討が報告された。これでは自己軟骨細胞移植法が良好な成績であったと報告されたが、その後同じ部位に手術を受けた患者数は自己軟骨細胞移植法のほうが多く、その有用性については疑問が残る。<sup>19)</sup>

さらに、これらを含む様々な軟骨修復法の論文を評価した報告が出された。これによると、各々の論文の質に大きな差があり、各方法の成績に有意差はないことである。<sup>20)</sup>

このように、開発されて約15年、FDAが認可して9年経過しているにも係わらず、自己軟骨細胞移植はその有効性を示すことができていない。

## 5. 前駆細胞

既に分化した細胞を採取すると組織欠損が生じる。また、分化した細胞を増殖させると脱分化して、本来の機能を失う。そこで、小さな組織欠損で採取可能であり、増殖させたのちでも分化を誘導することのできる前駆細胞が注目されている。

整形外科分野で最も早くから注目されていた骨軟骨前駆細胞として、骨髄間葉系細胞がある。

**5-1. 骨髄間葉系細胞** 骨髄を採取し、その中の接着細胞をdiffusion chamberに入れて動物の皮下に移植すると骨軟骨ができることは既に20年以上前から報告されていた。<sup>21)</sup>骨髄血中の有核細胞を培養するとごく一部の細胞が接着、増殖する。この細胞を継代培養すると紡錘型の細胞がほとんどを占めるようになり、この細胞から骨、軟骨、筋肉、脂肪などの間葉系細胞が分化誘導されるため、間葉系幹細胞と呼ばれる。<sup>22,23)</sup>また1999年、骨髄間葉系細胞から内胚葉由来である肝細胞、<sup>24)</sup>外胚葉由来である神経細胞<sup>25)</sup>が分化誘導されることが報告され、間葉系のみならずあらゆる組織再生の細胞源として注目されている。われわれは、これらの細胞が均一な細胞ではなく様々な細胞の集まりであること、間葉系の細胞に分化するのみならず他の胚葉の組織にも分化すること、及び生体から採取した骨髄血中の接着細胞は株化した細胞と異なり分裂能力に限界があることから間葉系幹細胞の定義に当てはまらなると考え、骨髄間葉系細胞と呼ぶ。骨髄血の採取は局所麻酔で可能であり、さらに培養で増殖させることが可能であるために、臨床応用に適した細胞である。骨再生、末梢循環障害改善を始め様々な分野で

の再生医療に応用が試みられている。

われわれはこの自己骨髄間葉系細胞を骨軟骨欠損部に移植すると修復が促進されることを家兎の実験系で報告した。<sup>26)</sup> この結果を踏まえ、われわれは2例のヒト膝蓋骨軟骨欠損症例に骨髄間葉系細胞移植を施行した。<sup>27)</sup> 2例とも7—8週後に施行した関節鏡で軟骨組織の修復を認め、術後臨床症状の改善は顕著であった。しかし、臨床では細胞を移植しないコントロール群の設定が困難であるために本当に細胞移植が有効であったかを判断できない場合が多い。

臨床症状の改善が組織の再生のためか、あるいは手術に続く安静、リハビリテーションのために改善されたのかは分からない。そこでわれわれは内側型変形性膝関節症に対し高位脛骨骨切り術（以下HTO）を受ける患者24症例を対象に細胞移植群と非移植群の2群を作成し比較することにより骨髄間葉系細胞移植の有効性を検討した。<sup>28)</sup> 手術時平均年齢は64歳（49—70歳）であった。HTO時に膝関節を展開し、12例に対して大腿骨内内顆荷重部の関節軟骨欠損部の軟骨下骨をabrasionし、コラーゲン・ゲルに包埋した骨髄間葉系細胞を充填し脛骨内側より採取した骨膜にて被覆した（細胞移植群）。他の12例に対しては同様にHTO施行時に細胞の入っていないコラーゲン・ゲルを充填し骨膜で被覆した（コントロール群）。臨床成績は細胞移植群、コントロール群ともに術前に比べて有意に改善したが両群間で改善度に有意差はなかった。抜釘時、同意が得られた症例で関節鏡を施行し、鏡視下及び組織学的に修復組織を点数化し評価した。移植後7週、42週、いずれにおいても細胞移植群が有意に良好な修復であった。この方法は変形性関節症のような比較的広範囲の欠損に対しても応用が可能な方法であるが、今後も長期に渡り良好な機能を維持できるかは不明であり注意深い経過観察が必要である。

**5-2. 骨髄間葉系細胞移植の改良点** 骨髄間葉系細胞移植で欠損修復は促進されたが完全な硝子軟骨による修復は得られなかった。われわれの症例では培養骨髄間葉系細胞には何も処置を加えずそのまま移植し、移植部位での自然な分化にゆだねたため、分化が不十分であったと考えられる。骨髄間葉系細胞を軟骨細胞に積極的に分化誘導する方法が成績改善に有効である可能性がある。現在、*in vitro*で小さな細胞塊しか軟骨に分化させることはでき

ず、またその場合でも中心部が石灰化するという問題が残る。<sup>22)</sup> 骨髄からの間葉系細胞を動因する効果のあるfibroblast growth factor-2を持続投与することによる欠損修復の試み、<sup>29)</sup> 骨髄間葉系細胞の培養中に軟骨形成促進作用のある成長因子（bone morphogenetic protein (BMP), insulin-like growth factor, transforming growth factor- $\beta$ , cartilage derived matrix protein-1など）を投与、<sup>30)</sup> あるいはそれらの遺伝子導入により骨髄間葉系細胞の分化、増殖をコントロールする研究も行われており、これにより軟骨修復が促進されることが報告された。<sup>31)</sup> また、軟骨の初期分化に関与する因子（Sry-related HMG box (SOX)-5,6,9, Parathyroid hormone (PTH)/PTH related Protein, Hedgehog family)<sup>32)</sup>や、成長因子の構成的活性型受容体、細胞内情報伝達物質（BMPにおけるSmadsなど）、などの様々な遺伝子導入が試みられている。また細胞の分裂能力を維持する目的でテロメラーゼ遺伝子を導入する報告もある。

様々な細胞を体外に取り出し、遺伝子を導入して関節内に戻すという、いわゆる*ex vivo*の遺伝子導入においては、移植する細胞自体が組織欠損を修復することも期待できるが、移植細胞が導入された遺伝子の産物を関節内に供給することも考えられる。この方法を使って軟骨修復を促進する成長因子を関節内に供給し軟骨再生を促進するのみならず、変性を促進する因子を阻害する物質を供給し変性の進行を防ぐことも可能であるため、最も注目されている分野の1つである。

**5-3. その他の細胞による関節軟骨修復** 骨髄間葉系細胞の他にも様々な自己細胞使用による関節軟骨修復法が研究されている。生体組織内には種々前駆細胞が存在することが明らかになりそれらを使った軟骨再生の研究が行われている。自己細胞としては、成人の骨髄中に存在し肺性幹細胞に匹敵する増殖能、分化能があると報告されたmultipotent adult progenitor cell (MAPC)<sup>33)</sup>や、滑膜細胞、脂肪細胞、筋肉サテライト細胞<sup>30)</sup>などが挙げられる。*In vitro*の軟骨形成能の確認、動物実験での軟骨再生の有効性が示され、臨床応用が近いものもある。その中で滑膜細胞は軟骨形成能が最も高いことが示されたが、<sup>34)</sup> 滑膜採取のために関節鏡手術が必要であることなどの問題があり、現段階では骨髄間葉系細胞に大きく勝るものはない。

同種細胞は免疫反応あるいは感染症の問題があり、臨床応用には多くの問題が残る。しかしながら、理論的には無限に増殖し、ほぼすべての細胞に分化する能力を持つ胚性幹細胞は再生医療においては理想的な細胞として研究されている。この細胞は他の組織再生と同様、軟骨再生においても期待されている。胚性幹細胞を軟骨細胞にのみ分化させる方法の開発が重要である。われわれは胚性幹細胞を関節腔内に注入すると奇形腫を作り関節を破壊するが、<sup>35)</sup> 骨軟骨欠損部に移植すると奇形腫を作らず骨軟骨に分化することを明らかにしたが、<sup>36)</sup> そのメカニズムは不明であり、今後の解明が待たれる。また、羊膜の細胞は免疫原性が低く、しかも様々な細胞に分化することが報告され、注目されている。

軟骨修復に限らずすべての再生に共通する問題であるが、分化度の低い細胞を移植に使った場合の癌化の問題、<sup>37)</sup> あるいは異種蛋白（牛胎児血清、担体に使うコラーゲンなど）の使用による免疫原性の問題<sup>38)</sup>がある。

## 6. 関節軟骨欠損の臨床的問題点

関節軟骨修復のための細胞移植法は、皮膚とともに最も早くから開発された組織工学医療用具の1つである。しかしながら、その後の進歩が少ない。その原因としては自然経過が明らかでないこと、及び治療効果の評価方法が確立されていないことなどが挙げられる。

**6-1. 関節軟骨欠損の自然修復能** 一般的には、関節軟骨層に留まる浅い損傷の場合は修復されず、関節軟骨下骨まで及ぶ深い損傷の場合は本来の関節軟骨組織である硝子軟骨ではなく線維軟骨で修復されると古くから考えられている。実際には関節軟骨の自然修復は動物種、年齢、損傷の性状、その部分に掛かる荷重の大きさなどにより異なることもあり詳細は不明である。

ヒトにおける関節軟骨修復能力は一般的に動物より乏しいと考えられていたが、近年、関節鏡、Magnetic resonance imaging などの診断技術の進歩により関節軟骨欠損の自然経過を追うことが可能になり、弱いながらも自己修復能力があることが明らかになってきた。今後、さらに軟骨欠損の自然経過が明らかになり、どのような年齢の、どの部位の欠損は放置しても治り、どのような欠損は変形性関節症へ進行するため積極的に修復すべきか、という手

術適応が明らかにされることが望まれる。

**6-2. 関節軟骨欠損に対する手術の適応** 外傷、関節リウマチ等の関節炎、変形性関節症等の退行性変性により関節軟骨が欠損すると関節機能の障害（疼痛、関節水腫、関節可動域制限など）が生じると考えられている。しかし、関節軟骨は神経を欠くために、関節軟骨自体が疼痛を感じることはない。外傷性軟骨欠損、関節リウマチ、あるいは変形性関節症により関節軟骨の消失したヒトで痛みを感じずに歩いているヒトはたくさんいる。関節軟骨欠損の疼痛発生のメカニズムは解明されておらず、痛みのみを手術適応とするには問題がある。逆に、痛みがなくても、力学的破綻が存在することによる将来の関節の破壊が予想される場合には、予防のために手術する可能性もある。

われわれは関節軟骨欠損修復のために移植手術はなるべく適応を絞り、あらゆる保存療法に抵抗した症例、あるいは将来関節機能が破綻する可能性が高いと考えられるような軟骨欠損を対象にすべきであると考えている。

**6-3. 関節軟骨修復の評価方法** 前述の骨髄刺激法では、軟骨欠損部は本来の関節軟骨である硝子軟骨では修復されず、線維軟骨であると考えられている。修復組織が硝子軟骨であっても線維軟骨であっても短期臨床症状には関係しないとの報告もあるが、10年から20年の長期の経過を追うと、<sup>39,40)</sup> 差が出るようである。

ヒトの場合、修復組織の生検が困難であり組織学的修復を評価し難いことという問題がある。そのため臨床症状の改善が主な評価とならざるを得ない。しかし臨床症状だけであると、症状の改善が組織の再生のためか、あるいは手術及びそれに続く安静（一般的に関節症状は関節を使わなければ軽快することが多い）のために改善されたか分からない。すなわち、sham手術のコントロール群を作って比較できないという問題があり、臨床症状で治療成績を正確に判断できないことも大きな問題である。

現在、筆者が考える評価方法としては、痛みなどの臨床症状の軽減、Magnetic resonance imaging などによる欠損部の物理的充填の確認（硝子軟骨であることが望ましい）、及び将来の進行するであろう変形性関節症の予防（現在、確立された評価法はない）、の3つである。これを確実に示すことによ

り、関節軟骨再生組織工学医療用具として認められると考える。

### 7. おわりに

近年、細胞工学の進歩により軟骨再生分野は目覚ましい発展をとげている。しかしながら、多くは実験における進歩であり、臨床に応用できるものはいまだにごく少数である。臨床に使える方法の開発が望まれる。

今後の課題としては、関節軟骨損傷に対し特殊な技術を必要とせず、患者に対する侵襲が少なく、確実に硝子軟骨で修復できる方法の開発であろう。

### REFERENCES

- 1) Pridie K. H., *J. Bone Joint Surg. Br.*, **41**, 618–619 (1959).
- 2) Johnson L. L., *Arthroscopy*, **2**, 54–69 (1986).
- 3) Steadman J. R., Briggs K. K., Rodrigo J. J., Kocher M. S., Gill T. J., Rodkey W. G., *Arthroscopy*, **19**, 477–484 (2003).
- 4) Messner K., Gillquist J., *Acta Orthop. Scand.*, **67**, 523–529 (1996).
- 5) Kainer M. A., Linden J. V., Whaley D. N., Holmes H. T., Jarvis W. R., Jernigan D. B., Archibald L. K., *N. Engl. J. Med.*, **350**, 2564–2571 (2004).
- 6) Matsusue Y., Yamamuro T., Hama H., *Arthroscopy*, **9**, 318–321 (1993).
- 7) Hangody L., Rathonyi G. K., Duska Z., Vasarhelyi G., Fules P., Modis L., *J. Bone Joint Surg. Am.*, **86** (Suppl 1), 65–72 (2004).
- 8) Chesterman P. J., Smith A. U., *J. Bone Joint Surg. Br.*, **50**, 184–197 (1968).
- 9) Wakitani S., Kimura T., Hirooka A., Ochi T., Yoneda M., Owaki H., Ono K., Yasui N., *J. Bone Joint Surg. Br.*, **71**, 74–80 (1989).
- 10) Kawamura S., Wakitani S., Kimura T., Maeda A., Caplan A. I., Shino K., Ochi T., *Acta Orthop. Scand.*, **69**, 56–62 (1998).
- 11) Grande D. A., Pitman M. I., Peterson L., Menche D., Klein M., *J. Orthop. Res.*, **7**, 208–218 (1989).
- 12) Brittberg M., Lindahl A., Nilsson A., Ohlsson C., Isaksson O., Peterson L., *N. Engl. J. Med.*, **331**, 889–895 (1994).
- 13) Peterson L., Minas T., Brittberg M., Nilsson A., Sjogren-Jansson E., Lindahl A., *Clin. Orthop.*, **374**, 212–234 (2000).
- 14) Horas U., Pelinkovic D., Herr G., Aigner T., Schnettler R., *J. Bone Joint Surg. Am.*, **85**, 185–192 (2003).
- 15) Bentley G., Biant L. C., Carrington R. W. J., Akmal M., Goldberg M., Williams A. M., Skinner J. A., Pringle J., *J. Bone Joint Surg. Br.*, **85**, 223–230 (2003).
- 16) Smith G. D., Richardson J. B., Brittberg M., Erggelet C., Verdonk R., Knutsen G., Ashton B. A., Ashton I. K., Harrison P. E., *J. Bone Joint Surg. Am.*, **85**, 2487–2488 (2003); author reply 2488.
- 17) Kish G., Hangody L., *J. Bone Joint Surg. Br.*, **86**, 619 (2004); author reply 619–620.
- 18) Knutsen G., Engebretsen L., Ludvigsen T. C., Drogset J. O., Grontvedt T., Solheim E., Strand T., Roberts S., Isaksen V., Johansen O., *J. Bone Joint Surg. Am.*, **86**, 455–464 (2004).
- 19) Fu F. H., Zurakowski D., Browne J. E., Mandelbaum B., Erggelet C., Moseley J. B. Jr., Anderson A. F., Micheli L. J., *Am. J. Sports Med.*, **33**, 1–9 (2005).
- 20) Jakobsen R. B., Engebretsen L., Slaughterbeck J. R., *J. Bone Joint Surg. Am.*, **87**, 2232–2239 (2005).
- 21) Friedenstein A. J., Piatetzky II. S., Petrakova K. V., *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **16**, 381–390 (1966).
- 22) Johnstone B., Hering T. M., Caplan A. I., Goldberg V. M., Yoo J. U., *Exp. Cell Res.*, **238**, 265–272 (1998).
- 23) Pittenger M. F., Mackay A. M., Beck S. C., Jaiswal R. K., Douglas R., Mosca J. D., Moorman M. A., Simonetti D. W., Craig S., Marshak D. R., *Science*, **284**, 143–147 (1999).
- 24) Peterson B. E., Bowen W. C., Patrene K. D., Mars W. M., Sullivan A. K., Murase N., Boggs S. S., Greenberger J. S., Goff J. P., *Science*, **284**, 1168–1170 (1999).
- 25) Kopen G. C., Prockop D. J., Phinney D. G., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 10711–10716 (1999).
- 26) Wakitani S., Goto T., Pineda S. J., Young R. G., Mansour J. M., Goldberg V. M., Caplan A. I., *J. Bone Joint Surg. Am.*, **76**, 579–592 (1994).
- 27) Wakitani S., Mitsuoka T., Nakamura N., Toritsuka Y., Nakamura Y., Horibe S., *Cell*

- Transplant.*, **13**, 595–600 (2004).
- 28) Wakitani S., Imoto K., Yamamoto T., Saito M., Murata N., Yoneda M., *Osteoarthritis Cartilage*, **10**, 199–206 (2003).
- 29) Mizuta H., Kudo S., Nakamura E., Otsuka Y., Takagi K., Hiraki Y., *Osteoarthritis Cartilage*, **12**, 586–596 (2004).
- 30) Nawata M., Wakitani S., Nakaya H., Tanigami A., Seki T., Nakamura Y., Saito N., Sano K., Hidaka E., Takaoka K., *Arthritis Rheum.*, **52**, 155–163 (2005).
- 31) Katayama R., Wakitani S., Tsumaki N., Morita Y., Matsushita I., Gejo R., Kimura T., *Rheumatology*, **43**, 390–395 (2004).
- 32) Ikeda T., Kamekura S., Mabuchi A., Kou I., Seki S., Takato T., Nakamura K., Kawaguchi H., Ikegawa S., Chung U., *Arthritis Rheum.*, **50**, 3561–3573 (2004).
- 33) Jiang Y. B. N., Jahagirdar B. N., Reinhardt R. L., Schwartz R. E., Keene C. D., Ortiz-Gonzalez X. R., Reyes M., Lenvik T., Lund T., Blackstad M., Du J., Aldrich S., Lisberg A., Low W. C., Largaespada D. A., Verfaillie C. M., *Nature*, **418**, 41–49 (2002).
- 34) Sakaguchi Y., Isekiya I., Yagishita K., Muneta T., *Arthritis Rheum.*, **52**, 2521–2529 (2005).
- 35) Wakitani S., Takaoka K., Hattori T., Miyazawa N., Iwanaga T., Takeda S., Watanabe T. K., Tanigami A., *Rheumatology*, **42**, 162–165 (2003).
- 36) Wakitani S., Aoki H., Harada Y., Sonobe M., Morita Y., Mu Y., Tomita N., Nakamura Y., Takeda S., Watanabe T., Tanigami A., *Cell Transplant.*, **13**, 331–336 (2004).
- 37) Rubio D., Garcia-Castro J., Martin M.C., de la Fuente R., Cigudosa J. C., Lloyd A. C., Bernard A., *Cancer Res.*, **65**, 3035–3039 (2005).
- 38) Martin M. J., Muotri A., Gage F., Varki A., *Nat. Med.*, **11**, 228–232 (2005).
- 39) Messner K., Gillquist J., *Acta Orthop. Scand.*, **67**, 523–529 (1996).
- 40) Shelbourne K. D., Jari S., Gray T., *J. Bone Joint Surg. Am.*, **85**, (Suppl 2), 8–16 (2003).