

Gerrit Bode¹, Bernd Rolauffs¹, Lisa Hohloch¹, Helge Eberbach¹, Norbert P. Südkamp¹, Michael T. Hirschmann²

Stammzellen als Perspektive

Hoffnungsträger und neue Ideen – regulatorische Aspekte in Deutschland

Mesenchymal stroma cells as a new perspective

Hope and new ideas – regulatory aspects in Germany

Zusammenfassung: Isolierte Knorpelschäden des Kniegelenks sind eine häufige posttraumatische Problematik bei Patienten mittleren Alters, die mit manifesten Schmerzen und Funktionseinschränkungen einhergehen. Diese initial fokalen Defekte zeigen unbehandelt oft ein Fortschreiten in die Arthrose. Sie stellen somit ein wesentliches Risiko für das Entstehen einer Arthrose dar, die im Endstadium typischerweise mit einer enormen Einschränkung der Lebensqualität und einer Notwendigkeit für einen Gelenkersatz einhergeht [23, 33].

In 6,2 % aller arthroskopierten Kniegelenke lassen sich behandlungsbedürftige vollschichtige Knorpeldefekte erkennen. Zudem liegt die Prävalenz der Gonarthrose bei 19–28 % der US-Bevölkerung. Bei unter 45-jährigen findet sich eine Prävalenz von immerhin 6,7 %. Während kleine fokale Knorpeldefekte mit zahlreichen Therapieformen adressiert werden können, stellen große Defekte weiterhin eine therapeutische Herausforderung dar.

Schlüsselwörter: Knorpelschaden, Knie, zellbasierte Therapie, Stammzellen

Zitierweise

Bode G, Rolauffs B, Hohloch L, Erberbach H, Südkamp MP, Hirschmann MT: Stammzellen als Perspektive. Hoffnungsträger und neue Ideen – regulatorische Aspekte in Deutschland. OUP 2018; 7: 611–614 DOI 10.3238/oup.2018.0611–0614

Summary: Isolated cartilage defects of the knee joint are common orthopaedic problems in middle-aged patients. Typically, these come along with pain and loss of function of the affected joint [23, 38]. In addition, isolated cartilage defects tend to progress into osteoarthritis (OA), as spontaneous healing is rare and can therefore be considered a potential risk factor or precondition for OA [6], which may lead to the necessity for joint replacement (DALY 14.230) [16]. Chondral defects have been described in 34–62 % of knee arthroscopies while full thickness defects, potentially requiring surgery, were observed in 6.2 % [38]. Knee OA is prevalent in 19–28 % of adults in the U.S population and even in 6.7 % under the age of 45 [27]. Therefore, treatment of isolated cartilage defects yields on both, reduction of pain in affected patients, restoration of the function of the affected joint and also on avoidance of further joint degeneration.

Keywords: cartilage defect, knee, cell based therapy, mesenchymal stroma cells

Citation

Bode G, Rolauffs B, Hohloch L, Erberbach H, Südkamp MP, Hirschmann MT: Mesenchymal stroma cells as a new perspective. Hope and new ideas – regulatory aspects in Germany. OUP 2018; 7: 611–614 DOI 10.3238/oup.2018.0611–0614

Zellbasierte Techniken wie die autologe Chondrozytentransplantation (ACT) werden von mehreren Fachgesellschaften für solche großen Defekte empfohlen, aber diese Therapieform geht neben nicht unerheblich hohen Kosten auch mit einem großen bürokratischen Aufwand einher, da die ACT den „Advanced therapy medical products“ zugeordnet ist. Zusätzlich ist die ACT ein zweizeitiges Verfahren, was für den Patienten einen entscheidenden Nachteil bedeuten

kann, da im Vorfeld der eigentlichen Transplantation eine vorgeschaltete Knorpelzellbiopsie mit anschließender Differenzierung erfolgen muss.

In den vergangenen Jahren ist vermehrt von der einzeitigen knorpelregenerativen Therapie mit mesenchymalen Knochenmarkstromazellen (MSCs) die Rede. Nicht zuletzt durch die rasche wissenschaftliche Weiterentwicklung der Transplantationsmethodik, Differenzierung und Spezifikation sowie den Fort-

schritten auf dem Gebiet der Zentrifugation und Trägermembranen gewinnt dieses potenziell einzeitige, autologe, zellbasierte knorpelregenerative Verfahren zunehmend an Aufmerksamkeit [17].

Der vorliegende Artikel soll einen groben Überblick über den aktuellen Stand der Wissenschaft, die Möglichkeiten in der Auswahl der potenziellen multipotenten Zellen inklusive Entnahmelokalisation sowie die erforderlichen regulatorischen Aspekte geben.

¹ Albert-Ludwig-Universität Freiburg, Universitätsklinikum Freiburg, Department Chirurgie, Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie

² Klinik für Orthopädie und Traumatologie des Bewegungsapparats, Kantonsspital Baselland

Zellauswahl und Wahl des Entnahmeorts

Für die ACT wurden in den vergangenen 25 Jahren viele offenen Fragen wissenschaftlich untersucht, etwa die der geeigneten Trägermembran, die Güte des Phänotyps, die Applikationsform sowie viele klinische Aspekte, z.B. mögliche unerwünschte Nebenwirkungen, Erfolgs-, Komplikations- und Versagensraten und nicht zuletzt die zu erfüllenden Anforderungen im Rahmen der Zulassungsstudien nach § 20 AMG [3, 22]. Die klinischen Ergebnisse liegen in Form zahlreicher prospektiv randomisierter Studien vor, die den klinischen Erfolg der ACT gegenüber anderen knorpelregenerativen Verfahren wie der Mikrofrakturierung, OATS-Plastik oder Knorpelglättung nachweisen [2, 16, 22]. Zudem liegen zahlreiche systematische Reviews inklusive Cochrane-Reviews vor [27, 31, 30, 32].

Im Vergleich hat dieser Weg von der Laborbank bis hin zur standardisierten klinischen Versorgung für MSCs gerade begonnen und zeigt erste recht vielversprechende Ergebnisse [1, 7].

MSCs bieten gegenüber Chondrozyten diverse potenzielle Vorteile. Sie sezernieren eine große Anzahl von Wachstumsfaktoren, Zytokinen und Chemokinen zur Vermittlung anti-inflammatorischer, anti-apoptotischer, anti-fibrotischer, angiogener, mitogener und wundheilender Prozesse [5]. Desweiteren besitzen sie bei entsprechendem Stimulus ein potentes chondrogenes Differenzierungspotenzial und somit die Fähigkeit zur Regeneration des geschädigten Knorpelgewebes. Diese Eigenschaften machen sie möglicherweise zu einem optimalen Zellmaterial für die Knorpelregeneration [6]. Die Anzahl der mesenchymalen Stammzellen im betroffenen Gelenk ist jedoch limitiert; insofern könnte eine additive Transplantation die Knorpelregeneration unterstützen. Dies darf auch als einer der Gründe dafür angesehen werden, warum die Mikrofrakturierung als knochenmarkstimulierendes Verfahren in den letzten Jahren flächendeckend bei großen Defekten weniger eingesetzt worden ist. Hier scheint die geringe Anzahl an tatsächlich in den Defekt austretenden Stammzellen eine wesentliche Rolle zu spielen, was wiederum den verstärkten Ansatz

der AMIC in den letzten Jahren begründen dürfte.

Stammzellen hierfür werden in der Regel aus dem Knochenmark (Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells, BM-MSCs) oder dem Fettgewebe gewonnen (Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells, AD-MSCs); aber auch Entnahmen aus dem Periost, Nabelschnurblut, der Synovialmembran oder dem Muskel sind möglich.

Allerdings sind aktuell weder die Frage nach dem optimalen Spendergewebe in Bezug auf die Anzahl der zu verwendenden Zelle noch der optimale Entnahmeort hinreichend geklärt.

Die AD-MSCs scheinen gegenüber den aktuell noch besser untersuchten BM-MSCs zunehmend an Bedeutung zu gewinnen [7]. Die Gründe hierfür liegen in der relativen Häufigkeit der AD-MSCs (etwa 5 % der kernhaltigen Zellen; BM-MSCs: 0,0001–0,01 % der kernhaltigen Zellen), der weniger invasiven Entnahmetechnik, ihrer schnellen Expansion und dem relativ hohen Proliferationspotenzial.

Sowohl die Anwendungen von MSCs aus dem Fettgewebe als auch aus dem Knochenmarkspirat ist bereits in klinischen Studien untersucht worden. So konnten Ko et. al in einer randomisierten Studie mit einem Follow-up von 2 Jahren die Sicherheit und bildmorphologische sowie klinische Wirksamkeit einer intraartikulären Injektion von AD-MSCs bei Patienten mit Knorpelschäden und beginnender Arthrose nachweisen. Allerdings zeigte sich in deren Arbeit ein dosisbezogener Effekt. Patienten mit einer höheren Dosierung an Stammzellen zeigten bessere klinische Ergebnisse im WOMAC, KOOS und VAS-Score. Auch im MRT war dosisabhängig bildmorphologisch eine bessere Knorpelregeneration zu sehen [25].

AD-MSCs können auf unterschiedliche Weise konzentriert bzw. isoliert werden. Das mittels Stanzen oder Kanülen entnommene Material enthält einen kleinen Anteil von Stammzellen, welche anschließend entweder im Labor isoliert oder durch kulturelle Expansion angereichert werden. Die Zentrifugation bietet den entscheidenden Vorteil eines einzeitigen und im Operationssaal bereits anwendbaren Verfahrens. Eine einfache Injektion ins Gelenk ist jedoch nicht ausreichend, um eine adäquate Zelladhärenz und Zellkonzentration zu

erhalten, wobei die Frage nach der optimalen Kollagenmembran noch Gegenstand aktueller Forschungsprojekte ist.

Seitens der BM-MSCs wurden erste klinische Ergebnisse in der Behandlung von Knorpeldefekten vorgestellt [18, 19]. Randomisierte, kontrollierte Studien sind dringend notwendig, obgleich ihre Durchführung zumindest in Deutschland durch die Zuordnung der autologen Stammzelltransplantation in den Bereich der homologen Anwendung bisher kaum möglich ist, unabhängig von der Entnahmelokalisation. Es bedarf hierzu einer Herstellungserlaubnis des jeweiligen Regierungspräsidiums, die für die einzeitige operative Verwendung mesenchymaler Stammzellen aus dem Beckenkamm zur Therapie von Knorpelschäden am Kniegelenk nach unserem Kenntnisstand zwar von der Autorengruppe beantragt, in Deutschland aber bisher nicht erteilt wurde. Anders im Bereich der AD-MSCs, für welche die Infiltration in den Hoffaschen Fettkörper zuletzt als homologe Anwendung interpretiert und genehmigt worden ist.

Vergleich von BM-MSCs und AD-MSCs

In-vitro-Studien sowie klinische Studien zum Vergleich von BM-MSCs vs. AD-MSCs wurden und werden durch das Problem motiviert, dass der Chondrozyten-basierte Knorpelersatz für große Defekte eine gewisse Menge an Chondrozyten benötigt, welche durch eine Monolayer-Expansion generiert werden. Hierbei wird die maximale Anzahl der zur Verfügung stehenden Chondrozyten durch die maximal mögliche Dauer der Monolayer-Expansion bestimmt, da eine zu lange Expansionszeit bekanntermaßen zu einer De-Differenzierung führt, welche mit einer Fibroblast-artigen Morphologie und einem Verlust des chondrogenen Expressionsprofils einhergeht [37]. Aus diesem Grund wurden und werden BM-MSCs – und seit einiger Zeit auch AD-MSCs – als „Ersatzzellen“ untersucht, um die umrissene Chondrozytenproblematik potenziell zu umgehen. Die isolierte Verwendung von BM-MSCs z.B. im Rahmen der Mikrofrakturierung wird jedoch kontrovers diskutiert, da das resultierende Reparaturgewebe instabil ist und in vivo zur Mine-

realisation und Ossifikation neigt [10–12, 28, 34] und BM-MSCs generell in einer geringen Anzahl vorliegen [26, 32, 39]. Vor diesem Hintergrund sind AD-MSCs möglicherweise eine Alternative zu BM-MSCs. Bereits 2005 wurde die Frage gestellt, ob AD-MSCs das gleiche osteogene und chondrogene Potenzial besitzen wie BM-MSCs [24]. Damals wurde die Frage so beantwortet, dass das osteogene und chondrogene AD-MSC-Potenzial wahrscheinlich geringer ist [24].

2010 wurde der Vergleich beider MSC-Typen unter der Gabe von Transforming growth factor beta 3 (TGF β 3) und/oder Bone morphogenetic protein (BMP-2) sowie unter hypoxischen Bedingungen durchgeführt. Hier zeigte sich nach MSC-Expansion mit FGF-2, dass die BMP-2/TGF- β 3-Kombination am geeignetsten war, um einen chondrogenen Phänotyp in Pellet-Kulturen von AD- und BM-MSCs zu induzieren [32]. Allerdings waren hypoxische Bedingungen mit einer geringeren Induzierbarkeit des chondrogenen Phänotyps in AD-MSCs assoziiert [32], was möglicherweise die Resultate früher Studien erklären kann und die wichtige Rolle der Sauerstoffspannung bei der chondrogenen Differenzierung von AD-MSCs unterstreicht.

2012 wurde festgehalten dass sich AD- und BM-MSCs viele gemeinsame biologische Charakteristika teilen, aber dass Unterschiede im Immunphänotyp, Differenzierungspotenzial, Transkriptom, Proteom sowie in der immunmodulativen Aktivität bestehen [35]. Interessanterweise wurden AD-MSCs jedoch in der klinischen Applikation als ebenso effektiv bewertet, in einigen Fällen sogar als besser geeignet als BM-MSCs [35].

2018 wurden humane AD- und BM-MSCs mit bovinen Chondrozyten in Alginatkultur verglichen sowie subkutan in die Maus implantiert verglichen [30]. Trotz einiger in vitro Unterschiede (z.B. eine Spezies-spezifische Genexpression)

zeigte diese Studie, dass der Ersatz von 80 % aller Chondrozyten entweder mit BM-MSCs oder mit AD-MSCs keinen signifikanten Effekt auf die ECM-Synthese und -Stabilität hatte, und dass in vivo keine Unterschiede in der Knorpelmatrix-Synthese bestanden zwischen implantierten hAD-MSCs mit bovinen Chondrozyten vs. implantierten humanen BM-MSCs mit bovinen Chondrozyten, und dass in beiden Gruppen keine Ossifikation beobachtet wurde [30].

AD-MSCs

AD-MSCs können z.B. aus abdominalem und infrapatellarem Fettgewebe gewonnen werden. Die Isolierung setzt sich aus den Schritten Gewebegewinnung, mechanische Aufbereitung, chemische Verarbeitung, Reinigung und Plastikadhärenz der gewonnenen Zellen zusammen, was aufgrund der Plastikadhärenz Zeiten über 25 Stunden verursacht [14]. Weiterentwicklungen im Sinne einer Verkürzung dieser Zeit führten zwar insgesamt zu Protokollen von 25–30 Minuten [1, 13], auf welche jedoch die langwierige Plastikadhärenz folgt, sodass kein wirklicher Gewinn vorliegt. Aus diesem Grund ist die intraoperativ anwendbare, kürzere Zellgewinnung eine vielversprechende Strategie mit dem Ziel, eine intraoperativ anzuwendende therapeutisch wirkende Stammzellpopulation zu generieren. Generell wird hierbei eine heterogene Population gewonnen, welche aus AD-MSCs, Endothelzellen, Adventitiazellen, Lymphozyten und Perizyten besteht und als stromal vascular fraction (SVF) bezeichnet wird. Ein systematisches Review aus 13 von 3038 Studien verglich 18 unterschiedliche Verfahren zur intraoperativen Isolation der SVF [36]. Interessanterweise war die Zellanzahl, -Viabilität und SVF-Komposition ähnlich zu nicht einzeitig anwendbaren Isolationsverfahren. Ein signifikanter Unterschied lag allerdings in der kürze-

ren intraoperativen Isolationsdauer. Die Frage nach der besten Methode bleibt bis heute unbeantwortet.

AD-MSCs können in mesodermale Gewebe wie Knochen, Knorpel, Muskel und Fettgewebe ausdifferenzieren [2, 5, 15, 29, 39]; ein Überblick hierzu findet sich in [7]. AD-MSCs wurden in verschiedene Hydrogel-Systeme integriert und haben daher eine etablierte Rolle im Tissue-Engineering des Knorpelgewebes [31]. Diese Zellen haben wie andere MSCs (z.B. BM-MSCs) eine spindelförmige Morphologie und die Fähigkeit, auf Plastik zu adhären sowie Fibroblast-ähnliche Kolonien zu formen, und sie zeigen eine hohe Proliferationsrate. Weiterhin besitzen AD-MSCs eine gewisse Plastizität, da sie in vitro in epitheliale Zellen, Hepatozyten und neuronale Zellen transdifferenziert wurden [9, 22]. Darüber hinaus zeigen AD-MSCs relevante immunmodulatorische [21] und angiogene Charakteristika [20]. Viele Studien bewiesen, dass AD-MSCs chondrogen differenziert werden können; ein Überblick findet sich in [7]. Interessanterweise können AD-MSCs auf Elastin-artigem Polypeptid wachsen und einen chondrogenen Phänotyp annehmen, ohne dass ein chondrogenes Differenzierungsmedium verwendet wird [4]. Dies ist relevant: AD-MSCs können offenbar ohne typische biochemische Differenzierungsmedien durch andere, z.B. biophysikalische Reize, chondrogen stimuliert werden, was einen wichtigen Hinweis auf die Verwendbarkeit von AD-MSCs im Rahmen eines implantierbaren Biomaterial liefert. OUP

Interessenkonflikt: Keine angegeben.

Korrespondenzadresse

Dr. med. Gerrit Bode
Department Chirurgie
Klinik für Orthopädie
und Unfallchirurgie
Hugstetter Straße 55, 79106 Freiburg
gerrit.bode@uniklinik-freiburg.de

Literatur

1. Amirkhani MA, Mohseni R, Soleimani M, Shoaie-Hassani A, Nilforoushzadeh MA: A rapid sonication based method for preparation of stromal vascular fraction and mesenchymal stem cells from fat tissue. *Bioimpacts* 2016; 6: 99–104
2. Becker AJ, Mc CE, Till JE: Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature* 1963; 197: 452–4
3. Behrens P, Bosch U, Bruns J et al.: [Indications and implementation of recommendations of the working group „Tis-

- sue Regeneration and Tissue Substitutes“ for autologous chondrocyte transplantation (ACT)]. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 2004; 142: 529–39
4. Betre H, Ong SR, Guilak F, Chilkoti A, Fermor B, Setton LA: Chondrocytic differentiation of human adipose-derived adult stem cells in elastin-like polypeptide. *Biomaterials* 2006; 27: 91–9
 5. Bunnell BA, Flaata M, Gagliardi C, Patel B, Ripoll C: Adipose-derived stem cells: isolation, expansion and differentiation. *Methods* 2008; 45: 115–20
 6. Cicuttini F, Ding C, Wluka A, Davis S, Ebeling PR, Jones G: Association of cartilage defects with loss of knee cartilage in healthy, middle-age adults: a prospective study. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2033–9
 7. Ciuffi S, Zonefrati R, Brandi ML: Adipose stem cells for bone tissue repair. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2017; 14: 217–26
 8. Cole BJ, Pascual-Garrido C, Grumet RC: Surgical management of articular cartilage defects in the knee. *J Bone Joint Surg Am* 2009; 91: 1778–90
 9. Dawn B, Bolli R: Adult bone marrow-derived cells: regenerative potential, plasticity, and tissue commitment. *Basic Res Cardiol* 2005; 100: 494–503
 10. Farrell E, Both SK, Odorfer Klet al.: In-vivo generation of bone via endochondral ossification by in-vitro chondrogenic priming of adult human and rat mesenchymal stem cells. *BMC Musculoskelet Disord* 2011; 12: 31
 11. Farrell E, van der Jagt OP, Koevoet W et al.: Chondrogenic priming of human bone marrow stromal cells: a better route to bone repair? *Tissue Eng Part C Methods* 2009; 15: 285–95
 12. Farrell MJ, Fisher MB, Huang AH, Shin JI, Farrell KM, Mauck RL: Functional properties of bone marrow-derived MSC-based engineered cartilage are unstable with very long-term in vitro culture. *Journal of Biomechanics* 2014; 47: 2173–82
 13. Francis MP, Sachs PC, Elmore LW, Holt SE: Isolating adipose-derived mesenchymal stem cells from lipoaspirate blood and saline fraction. *Organogenesis* 2010; 6: 11–4
 14. Francis SL, Duchi S, Onofrillo C, Di Bella C, Choong PFM: Adipose-derived mesenchymal stem cells in the use of cartilage tissue engineering: The need for a rapid isolation procedure. *Stem Cells International* 2018; 2018: 9
 15. Friedenstein AJ, Deriglasova UE, Kulagina NN et al.: Precursors of fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp Hematol* 1974; 2: 83–92
 16. Gelber AC, Hochberg MC, Mead LA, Wang NY, Wigley FM, Klag MJ: Joint injury in young adults and risk for subsequent knee and hip osteoarthritis. *Ann Intern Med* 2000; 133: 321–8
 17. Giannini S, Buda R, Cavallo M et al.: Cartilage repair evolution in post-traumatic osteochondral lesions of the talus: from open field autologous chondrocyte to bone-marrow-derived cells transplantation. *Injury* 2010; 41: 1196–203
 18. Gobbi A, Chaurasia S, Karnatzikos G, Nakamura N: Matrix-induced autologous chondrocyte implantation versus multipotent stem cells for the treatment of large patellofemoral chondral lesions: A nonrandomized prospective trial. *Cartilage* 2015; 6: 82–97
 19. Gobbi A, Karnatzikos G, Scotti C, Mahajan V, Mazzucco L, Grigolo B: One-step cartilage repair with bone marrow aspirate concentrated cells and collagen matrix in full-thickness knee cartilage lesions: Results at 2-year follow-up. *Cartilage* 2011; 2: 286–99
 20. Gonzalez-Rey E, Anderson P, Gonzalez MA, Rico L, Buscher D, Delgado M: Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut* 2009; 58: 929–39
 21. Gonzalez-Rey E, Gonzalez MA, Varela N et al.: Human adipose-derived mesenchymal stem cells reduce inflammatory and T cell responses and induce regulatory T cells in vitro in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 241–8
 22. Guilak F, Lott KE, Awad HA et al.: Clonal analysis of the differentiation potential of human adipose-derived adult stem cells. *J Cell Physiol* 2006; 206: 229–37
 23. Heir S, Nerhus TK, Rotterud JH et al.: Focal cartilage defects in the knee impair quality of life as much as severe osteoarthritis: a comparison of knee injury and osteoarthritis outcome score in 4 patient categories scheduled for knee surgery. *Am J Sports Med* 2010; 38: 231–7
 24. Im G II, Shin YW, Lee KB: Do adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have the same osteogenic and chondrogenic potential as bone marrow-derived cells? *Osteoarthritis and Cartilage* 2005; 13: 845–53
 25. Jo CH, Chai JW, Jeong EC et al.: Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: A 2-year follow-up Study. *Am J Sports Med* 2017; 45: 2774–83
 26. Kastrinaki MC, Andreakou I, Charbord P, Papadaki HA: Isolation of human bone marrow mesenchymal stem cells using different membrane markers: Comparison of colony/cloning efficiency, differentiation potential, and molecular profile. *Tissue Engineering Part C: Methods* 2008; 14: 333–9
 27. Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG et al.: Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 26–35
 28. Pelttari K, Winter A, Steck E et al.: Premature induction of hypertrophy during in vitro chondrogenesis of human mesenchymal stem cells correlates with calcification and vascular invasion after ectopic transplantation in SCID mice. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 3254–66
 29. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC et al.: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143–7
 30. Pleumeekers MM, Nimeskern L, Koevoet JLM, Karperien M, Stok KS, van Osch G: Trophic effects of adipose-tissue-derived and bone-marrow-derived mesenchymal stem cells enhance cartilage generation by chondrocytes in co-culture. *PLoS One* 2018; 13: e0190744
 31. Rada T, Reis RL, Gomes ME: Adipose tissue-derived stem cells and their application in bone and cartilage tissue engineering. *Tissue Engineering Part B: Reviews* 2009; 15: 113–25
 32. Ronziere MC, Perrier E, Mallein-Gerin F, Freyria AM: Chondrogenic potential of bone marrow- and adipose tissue-derived adult human mesenchymal stem cells. *Biomed Mater Eng* 2010; 20: 145–58
 33. Schinhan M, Gruber M, Vavken P et al.: Critical-size defect induces unicompartmental osteoarthritis in a stable ovine knee. *J Orthop Res* 2012; 30: 214–20
 34. Scotti C, Piccinini E, Takizawa H et al.: Engineering of a functional bone organ through endochondral ossification. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2013; 110: 3997–4002
 35. Strioga M, Viswanathan S, Darinskas A, Slaby O, Michalek J: Same or not the same? Comparison of adipose tissue-derived versus bone marrow-derived mesenchymal stem and stromal cells. *Stem Cells and Development* 2012; 21: 2724–52
 36. van Dongen JA, Tuin AJ, Spiekman M, Jansma J, van der Lei B, Harmsen MC: Comparison of intraoperative procedures for isolation of clinical grade stromal vascular fraction for regenerative purposes: a systematic review. *J Tissue Eng Regen Med* 2018; 12: e261–e274
 37. von der Mark K, Gauss V, von der Mark H, Muller P: Relationship between cell shape and type of collagen synthesised as chondrocytes lose their cartilage phenotype in culture. *Nature* 1977; 267: 531–2
 38. Widuchowski W, Widuchowski J, Trzaska T: Articular cartilage defects: study of 25,124 knee arthroscopies. *Knee* 2007; 14: 177–82
 39. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H et al.: Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001; 7: 211–28