

Tissue Engineering

K.-F. Weibezahn, IBG

Einleitung

Die Herstellung künstlicher Gewebe ist eine Technik, die vor etwa 20 Jahren durch das neudeutsche Wort Tissue Engineering der Allgemeinheit erst richtig bekannt wurde. Das Bild einer Nacktmaus, die ein riesiges Ohr auf dem Rücken trägt, ist zur fleischgewordenen Ikone dieses Begriffs geworden. Wie so häufig bei neuen Techniken wurden extreme Erwartungen geweckt: Zerströte oder gestörte Organfunktionen eines Patienten sollen durch funktionales Gewebe regeneriert werden, das durch Tissue Engineering erzeugt wird. Man sieht darin ein ungeheures Potential für zukünftige Anwendungen, besonders in der Regenerativen Medizin, die anstrebt durch neue Therapieformen eine „Restitutio ad integrum“, eine Wiederherstellung des ursprünglichen Zustands zu erreichen. Solche Aussichten hatten Forscher und Marktstrategen elektrisiert. Die anfängliche Euphorie ist aber inzwischen einer realistischen Einschätzung gewichen. Tissue Engineering ist ein so komplexes Gebiet, das noch viel Grundlagenforschung erfordert.

Der Grund für diese Komplexität wird deutlich, wenn man sich ein Ge-

webe in vivo, also im lebenden Organismus, ansieht: Gewebe besteht aus Zellen, aus der extrazellulären Matrix und aus Signalsystemen, die durch Aktivierung von Genen Signalstoffe ins Spiel bringen, die ihrerseits für den Aufbau des Gewebes oder deren Differenzierung verantwortlich sind. Aufgabe des Tissue Engineering ist es nun, diese Komplexität eines Gewebes möglichst naturnah in vitro (außerhalb des Organismus) nachzubilden.

Die drei Komponenten (kurz: Trias), die für Tissue Engineering notwendig sind, sind solche, die denen des natürlichen Gewebes entsprechen. Hierbei handelt es sich um

- ein Gerüst (scaffold), in oder an das eine extrazelluläre Matrix angelagert ist oder das im Idealfall selbst aus Matrixpolymeren besteht,
- geeignete Zellen, die dieses Gerüst besiedeln und
- Signalmoleküle, die an die Oberfläche des Gerüsts gebunden sein können oder von diesen freigesetzt werden, um eine Gewebe- oder Organbildung zu fördern bzw. die den Differenzierungszustand eines Gewebes aufrecht erhalten.

In vitro veritas?

Mitarbeiter des IBG beschäftigten sich seit langem mit unterschiedlichen Formen von Zellkulturen, um ein Gewebe und sein Verhalten in vitro nachzubilden. So wurden von uns bereits vor Jahren erstmals in Europa dreidimensionale Zellaggregate, sogenannte Sphäroide, von unterschiedlichen Zelllinien kultiviert und charakterisiert. Untersucht man deren Überleben nach ionisierender Bestrahlung so zeigt sich, dass die Zellreaktion davon abhängt, ob diese in einem gewebeähnlichen Verband vorliegen oder in einer eher unnatürlichen Einschichtkultur (Monolayer). Die Reaktion ähnelt in der 3D-Kultur nahezu der in einem Versuchstier (also der in vivo), während sie bei einer Monolayerkultur bis zu einem Faktor 2 von Ergebnissen im Versuchstier abweicht [2]. Solche Untersuchungen lieferten u.a. genauere Vorhersagen für die Effizienz einer Strahlentherapie.

Funktionaler Organersatz

Schwerpunktmäßig wurden später 3D-Kulturen von primären Leberzellen untersucht. Ihre Kultivierung in vitro stellt eine besondere Herausforderung dar, da sie in Monolayerkultur besonders empfindlich sind: Einmal aus dem Körper von Versuchstieren isoliert ist ihre Lebensdauer in Kultur auf wenige Tage begrenzt, wobei ihre Funktionalität noch schneller abnimmt. Bei diesen Zellen zeigt sich, zu welcher komplexen Leistungen die Natur fähig ist und welcher Forschungsaufwand notwendig war, um ihre In-vivo-Funktionalität in vitro nachzubilden.

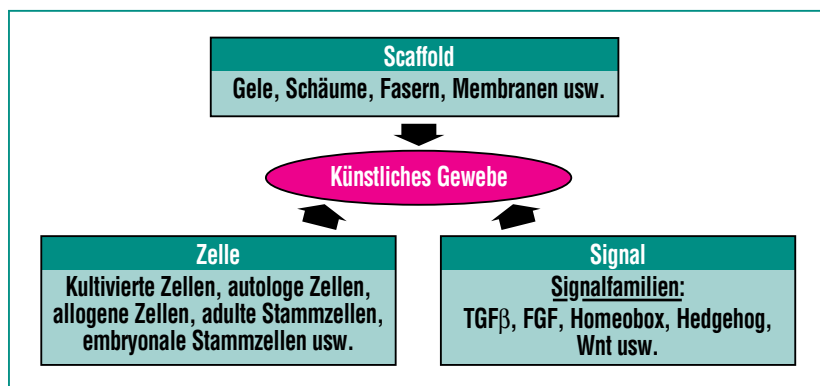


Abb 1: Die drei Komponenten (Trias) des Tissue Engineering (nach [1]).

Bezogen auf die erwähnte Trias wurde ein dreidimensional strukturiertes Scaffold aus Polymeren gewählt, das wir als CellChip bezeichnen [3]. Die Abmessungen seiner Untereinheiten orientieren sich an den Abmessungen der funktionalen Untereinheit der Leber, dem Leberläppchen. Das komplizierte Gefäßsystem der Leber kann in einem In-vitro-Modell jedoch nur rudimentär nachgebildet werden. Lediglich zu- und abführende Leitungen erlauben eine einfache Ver- und Entsorgung der Zellen. Die Natur arbeitet dagegen mit drei Systemen: einem arteriellen und einem venösen Kreislauf, sowie mit Gallenkanälchen, die für den Abtransport der Gallensäuren zuständig sind. Dies ist auch mit komplizierten mikrotechnischen Verfahren nicht nachzubilden, da die Leitungssysteme in der Leber obendrein ineinander verwoben sind.

Die Scaffolds müssen – bei gleichzeitiger Aggregation der Zellen untereinander – für eine gute Zelladhäsion mit einer funktionalen Oberfläche versehen werden. Hier leistet Kollagen gute Dienste. Schließlich werden dem Kulturmedium bestimmte Signalmoleküle zugegeben, die dafür verantwortlich sind, dass die Leberzellen in ihrem Differenzierungszustand, das heißt in ihrer Funktion, stabil bleiben. Diese Signale müssen jedoch so austariert sein, dass die Leber-

zellen in der Kultur auf wechselnde metabolische Anforderungen auch noch mit einer gewissen Dynamik reagieren können. Die richtige Komposition dieser oft mit Rück- und Gegenkopplung arbeitenden Signalwege, die auch in der Leber noch nicht voll verstanden sind, stellt ein mehrdimensionales Optimierungsproblem dar, das bislang erst im Ansatz gelöst ist.

Die Erfolge mit unserem In-vitro-System (Vitalität über Monate, metabolische Funktion über Wochen) zeigen uns, dass wir auf dem richtigen Weg sind [4]. Inzwischen wurde ein Bioreaktor, der viele CellChips enthält, in mehreren Stufen vergrößert, sodass er demnächst im Tierversuch als extrakorporale Leber erprobt werden kann.

Der CellChip-Bioreaktor als Plattform für die Stammzellkultur

Ein immer wichtigerer Zweig des Tissue Engineering befasst sich mit der Kultur von Stammzellen. Auch diese Zellen stellen im Sinne der Trias besondere Anforderungen. Hier kann der im Mikromaßstab präzise Aufbau eines CellChip von besonderem Vorteil sein: Stammzellen benötigen eine spezielle Nische, die aus so genannten Nischenzellen gebildet werden. Diese beeinflussen die Mi-

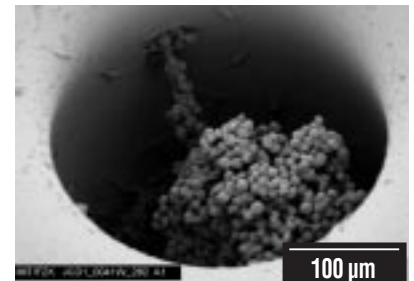


Abb. 2: Zellaggregate in einem Zellcontainer, der durch Mikrothermoformung dünner Polymerfolien hergestellt wurde.

kro-Umgebung der Stammzellen und steuern deren Verhalten.

Unsere Arbeiten konzentrieren sich daher zunehmend auf die Entwicklung von Bioreaktortypen, die diese Nischenfunktion nachbilden und so in der Stammzellen-Grundlagenforschung eingesetzt werden können. Hier spielen Kokulturen unterschiedlicher Zellarten ebenso eine Rolle wie die Interaktion der Zellen mit den biologischen Grenzflächen, die als modifizierbare Polymeroberflächen massgeschneidert werden müssen. Bei diesen Aufgaben wundert es niemand, dass das IBG ein Institut mit einer sehr interdisziplinär ausgerichteten Mannschaft ist. Diese lebt aber auch in einem sehr starken Maße von den Kooperationen mit vielen Nachbarinstituten des Forschungszentrums. Wir danken hier besonders den Mitarbeitern von IMVT, IMT, IMF, INT, ITC und ITG.

Literatur

- [1] E. Bell, *in: Principles of Tissue Engineering*, ed. R. Langer, R. Langer, J. Vacanti, 2000, XXXV
- [2] H. Dertinger, M. Guichard, E.P. Malaise, *Radiat Environ Biophys.* 1983, 22(3), 209-14
- [3] E. Gottwald, *Spektrum der Wissenschaft*, 2002, 44-51
- [4] E. Eschbach, S.S. Chatterjee, M. Nöldner, E. Gottwald, H. Dertinger, K.F. Weibezahn, G. Knedlitschek, *J Cell Biochem.* 2005, 95(2), 243-55