

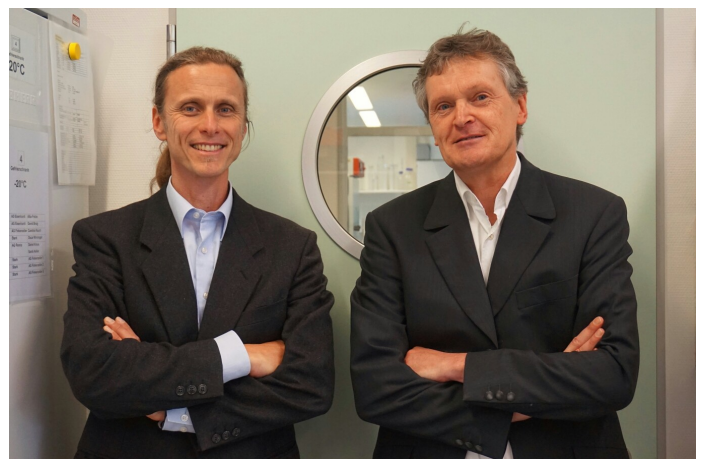
3D-Bioprinting: Passgenau Gewebe kreieren

Bisher können 3D-Drucker nur tote Produkte herstellen: Plastikspielzeug, aber auch Knochen- und Zahnersatz gibt es schon aus dem Drucker. Jetzt wollen Freiburger Wissenschaftler lebendes Gewebe drucken, um in der individualisierten Medizin einen entscheidenden Schritt zu gehen. Prof. Dr. Günter Finkenzeller, Sektionsleiter für Forschung und Tissue Engineering an der Uniklinik für Plastische und Handchirurgie in Freiburg und Dr. Peter Koltay vom Institut für Mikrosystemtechnik der Universität Freiburg (IMTEK) erhalten für drei Jahre eine DFG-Forschungsförderung. Damit planen sie, funktionsfähiges Knochengewebe mit integrierten Blutgefäßen per Druckverfahren zu erzeugen. Interessant ist das Herstellen lebender Gewebe für die Organersatztherapie und die Pharmaforschung, um Tierversuche einzuschränken.

Das Tissue Engineering ist eine zukunftssträchtige Disziplin, bei der biologische Gewebe in vitro konstruiert werden. Seit einiger Zeit drucken Wissenschaftler Knochenersatz, wobei das Material bisher keinerlei zelluläre Komponenten, sondern nur synthetische Substanzen, enthält, die vom umliegenden Gewebe resorbiert werden. Auch Hautersatz, der schon lange für Verbrennungsoffer und Patienten mit chronischen Wunden klinisch angewandt wird, ist recht einfach gebaut. Solche Hautgewebe-Ersatzteile werden mit dem Verfahren des Tissue Engineerings hergestellt. Gewebe werden dabei meist in 2D-Zellkulturen im Labor gezüchtet. Deren Einzelkomponenten besitzen dann aber keine definierte Ortsauflösung. Das bedeutet, dass die Zellen nicht an einen vorher definierten Ort platziert werden können, sondern zufällig verteilt sind. Freiburger Wissenschaftler möchten sich dieser Herausforderung nun annehmen. Das sogenannte 3D-Bioprinting als Spezialdisziplin und Weiterentwicklung des Tissue Engineerings soll das ortsdefinierte dreidimensionale Formen eines passgenauen Konstruktes realisieren, in dem neben einer stützenden Matrix auch lebende Zellen enthalten sind.

Utopie und Realität

Im Internet kursieren abenteuerliche Versprechungen, die ein baldiges Ende von monatelangen Wartezeiten auf Spenderorgane suggerieren, da es möglich sein soll, fertige Organe nach Bedarf zu drucken. Laut Ingenieur Dr. Peter Koltay vom Institut für Mikrosystemtechnik der Universität Freiburg (IMTEK) lassen sich solche Visionen gut verkaufen, sind aber nichts als reine Utopie.



Bisher ist es noch nicht gelungen, komplexe funktionstüchtige Strukturen zu drucken. Erste Versuche richten sich auf Knochen-, Knorpel- oder Hautgewebe. Die Phantasie, die vom Bioprinting beflügelt wird, zeigt keine Grenzen.

Doch sind wir von einem gedruckten schlagenden Herzen weit entfernt. Organe bestehen aus verschiedenen Geweben und hochspezialisierten Zelltypen. Eventuell ließen sich irgendwann einfach gestaltete Gewebeabschnitte oder grobe Zellaggregationen herstellen, die anschließend selbstständig zu organähnlichen Strukturen reifen. Aber selbst hier sind einige Hürden noch nicht genommen.

Mit dem Druckverfahren kann man prinzipiell kompliziertere dreidimensionale Gebilde herstellen. „Die Tendenz in der medizinischen Forschung geht dahin, In-vitro-Modelle zu schaffen, die eine höhere Komplexität haben“, erklärt Prof. Dr. Günter Finkenzeller, „und damit auch die Wirklichkeit besser abbilden können.“ Das klassische Konzept des Tissue Engineerings nimmt eine Gerüstsubstanz als Basis, die mit Zellen besiedelt wird, wobei man keinen Einfluss darauf hat, wie diese sich verteilen. Wenn man jedoch verschiedene Zellen so organisieren möchte, dass sie ein gewebeähnliches morphologisches Äquivalent ergeben, müssen bestimmte ortsspezifische und interagierende Faktoren beachtet werden, die in einem Organ in vivo relevant sind.

Das Gewebe muss versorgt sein

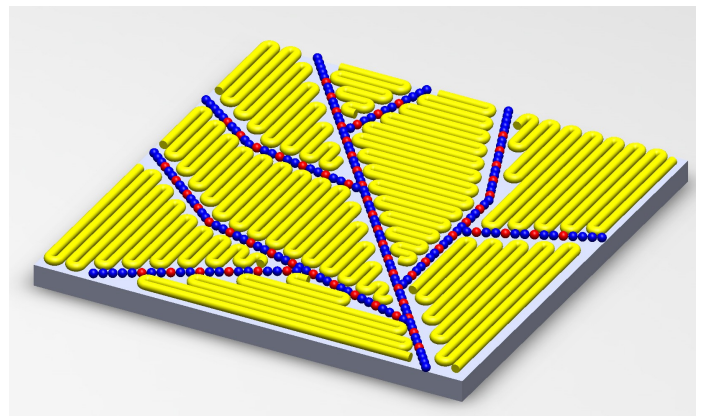
Will man Knochengewebe erzeugen, stößt man auf das Problem der Blutversorgung. Dies ist ein entscheidender Baustein, möchte man an größere dreidimensionale Objekte denken, die später implantiert werden sollen. Bei Implantaten müssen umliegende Blutgefäße erst aus den benachbarten Geweben einwachsen, um das neue Gewebe zu versorgen. Da dieser Vorgang etwa zwei Wochen dauert, sterben viele Zellen vorher wegen Sauerstoffmangel ab. Ein Nährstofftransport muss ab einer gewissen Objektgröße auch während der In-vitro-Herstellung des Gewebes gewährleistet sein.

Das ist ein Kernthema unseres Projektes“, meint Koltay, „wie kann man die Zellen im Gewebe mit Nährstoffen versorgen?“ Daraus ergeben sich die Fragen, wie man Blutgefäße im Gewebe etabliert und wie man diese nach Implantation an das Blutkreislaufsystem des Organismus anschließt.

Die Forscher haben für ihre Experimente zunächst Knochengewebe gewählt, da Knochen ein sehr dankbares Material für das Bioprinting ist. Laut Finkenzeller ist es das einzige Gewebe, das zur narbenlosen Wundheilung fähig ist. Bei einem Bruch regeneriert sich Knochen wieder komplett neu zu richtigem Knochen und füllt nicht, wie andere Gewebe, den Defekt mit Bindegewebe auf.

Koltay und Finkenzeller entwickeln nun ein Druckverfahren, das aus Knochenzellen einen funktionsfähigen Knochen herstellt, in den die Blutgefäße schon integriert werden sollen. Mit dem Trick möchten sie den entscheidenden zeitlichen Vorteil erzielen, dass die neuen Blutgefäße sich

Dr. Peter Koltay (links) und Prof. Dr. Günter Finkenzeller (rechts) möchten das 3D-Bioprinting vorantreiben und Knochengewebe drucken, das bereits Blutgefäße enthält.
© Ruth Mader-Koltay

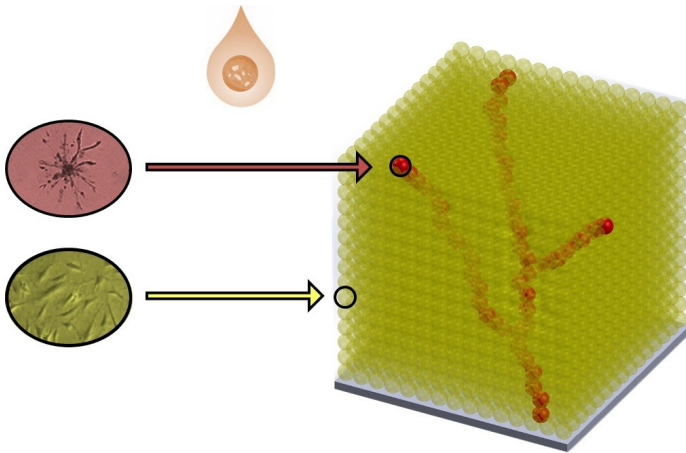


Die Idee: Innerhalb der gedruckten Pasten mit mesenchymalen Stammzellen, der späteren Knochensubstanz (gelb) sollen sich die Sphäroide mit Hydrogel (blau) und Endothelzellen (rot) zu Gefäßen organisieren.

© Dr. Peter Koltay, IMTEK, Universität Freiburg.

rasch mit den umliegenden Gefäßen verbinden und die Durchblutung gewährleisten.

Mix aus Kontrolle und Selbstorganisation



Das fertige 3D-Ergebnis sind ausgebildete Blutgefäße (rot) in der von lebenden Osteoblasten durchsetzten Knochensubstanz (gelbgrün).

© Dr. Peter Koltay, IMTEK, Universität Freiburg.

Die Wissenschaftler möchten einen Drucker entwickeln, der kleine Kügelchen (Sphäroide) aus Hydrogelen mit menschlichen lebenden Zellen auf eine Arbeitsfläche druckt. Dabei gibt es laut Koltay den kontaktfreien und den kontaktbasierten Druck. Beim kontaktfreien Druck wird ein Sphäroid mit den Zellen in die Luft geschossen. Das Sphäroid trifft dann auf der Arbeitsfläche auf und erhärtet. Beim kontaktbasiertem Druck wird durch eine sehr dünne Nadel eine Paste gepresst und so eine Linie gedruckt, die die Zellen enthält. „Wir verfolgen auch eine Kombination beider Verfahren im selben Objekt“, zeigt Koltay. Dabei muss noch herausgearbeitet werden, welches Verfahren sich für welches Gewebe besser eignet. Koltay und Finkenzeller möchten

alle Kombinationsmöglichkeiten ausloten. Für den Druck von Knochengewebe trägt man zunächst ein Material auf, das mesenchymale Stammzellen und Wachstumsfaktoren enthält. Die Stammzellen differenzieren später zu Osteoblasten und liefern dann die Knochensubstanz als festigende Struktur und die Matrix, in der die Zellen sich austauschen. Im nächsten Schritt werden dort, wo später die Blutgefäße verlaufen sollen, Kügelchen oder Pasten gedruckt, die Endothelzellen enthalten. Finkenzeller und Koltay hoffen dabei auf die Selbstorganisation der Zellen. Aus Vorexperimenten wissen sie, wenn immundefizienten Mäusen menschliche Endothelzellen implantiert werden, organisieren sich diese innerhalb einer Woche zu gefäßartigen Strukturen. „Was da passiert, ist in vitro gar nicht nachvollziehbar“, weiß Finkenzeller, „die Endothelzellen tun das tatsächlich nur, wenn sie im Körper sind.“ In der Maus bildet sich ein humanes Blutgefäßsystem am Implantationsort, das an den Grenzen mit den Mausgefäßen fusioniert.

Für den zeitlichen Faktor in dem Projekt kann es nur von Vorteil sein, wenn Zellen ihren Platz zugewiesen bekommen. „Wir eliminieren damit den Zufallscharakter, da wir ja schon ein präformiertes Gefäßnetz vorgeben“, sagt Finkenzeller. Dieses Niveau der Kontrolle ist derzeit nur mit Bioprinting möglich.

Diverse Zufallsfaktoren

Koltay und Finkenzeller arbeiten nun an der Methodenentwicklung des Knochendrucks, wobei einiges noch ungewiss ist: Die Zellen müssen sich im biokompatiblen Druckmaterial vermehren und differenzieren. Stammzellen können unkontrolliert wachsen und differenzierte Zellen können unter bestimmten Bedingungen wieder dedifferenzieren. In beiden Fällen hätte das einen Verlust der Funktionalität zur Folge. „Man hat sehr viele Freiheitsgrade und gleichzeitig wenig Stabilität“, betont Koltay, „ein Problem beim Bioprinting ist, dass man damit rechnen muss, dass die Zellen sich im dynamischen System verändern.“

Fachbeitrag

22.06.2015

Stephanie Heyl

BioRegion Freiburg

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Weitere Informationen

Prof. Dr. Günter Finkenzeller

Klinik für Plastische und Handchirurgie

Universitätsklinikum Freiburg

Hugstetter Str. 55

79106 Freiburg

Tel.: 0761 / 270 - 63670

Fax: 0761/ 270 - 63680

E-Mail: guenter.finkenzeller(at)uniklinik-freiburg.de

Dr. Peter Koltay

Institut für Mikrosystemtechnik der Universität Freiburg (IMTEK)

Georges-Köhler-Allee 103

79110 Freiburg

Tel.: 0761 / 203 - 73240

Fax: 0761/ 203 - 73299

E-Mail: koltay(at)imtek.uni-freiburg.de

Personalisierte Medizin

Stammzelle

Tissue
Engineering

Knochen