

# In-situ-Tissue-Engineering

Therapie von **Knochendefekten** mit geringer Regenerationskapazität

**DRESDEN** Die Behandlung großer Knochendefekte mit autologem Knochenmaterial – dem aktuellen klinischen Goldstandard – ist durch verschiedene Faktoren limitiert, wie der eingeschränkten Verfügbarkeit oder den Risiken des zusätzlichen operativen Eingriffs zur Materialgewinnung<sup>1</sup>. Gerade für Osteoporosepatienten sind zusätzliche Strategien nötig, um Zellen mit regenerativem Potenzial aus dem umliegenden Gewebe zum Knochendefekt zu rekrutieren und lokal die Knochenneubildung zu stimulieren: Ihr Knochengewebe weist eine reduzierte Regenerationskapazität auf, aufgrund der Verschiebung des Gleichgewichts zwischen zellulärem Knochenauf- und abbau bis hin zur osteoklastären Resorption. Eine Strategie, um die Knochendefektheilung zu beschleunigen, ist ein im Rahmen des DFG-geförderten SFB/Transregio 79 entwickeltes In-situ-Tissue-Engineering-Konzept.

Beim klassischen Tissue-Engineering werden Trägermaterialien ex vivo mit Zellen vorbesiedelt – im Gegensatz dazu sollen bei dem In-situ-Tissue-Engineering-

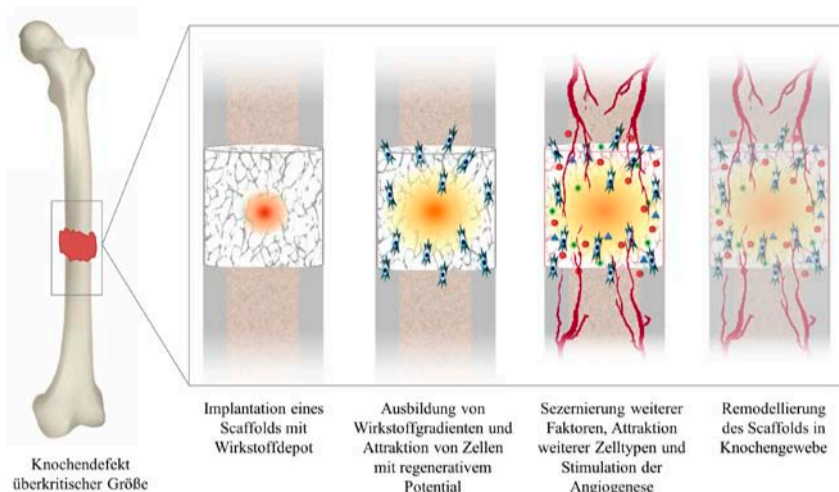


Abb. 1: In situ-Tissue Engineering-Konzept für die beschleunigte Knochendefektheilung.

Konzept zellfreie bioresorbierbare Scaffolds entwickelt werden, mit dem intrinsischen Potenzial, das Zielgewebe zur Selbstheilung anzuregen. Die Arbeiten unserer Gruppe konzentrieren sich dabei auf die Entwicklung eines Knochenersatzmaterials auf Basis von mineralisiertem Kollagen. Dieses biomimetische, hochporöse Nanokompositmaterial auf Basis von

Kollagen Typ I und Hydroxylapatit wird mit einem zentralen, Hydrogelbasierten Wirkstoffdepot funktionalisiert. Nach der Implantation werden im feuchten Milieu des Körpers die Wirkstoffe aus diesem zentralen Depot langsam freigesetzt. Die Freisetzungsgeschwindigkeit kann dabei über die Hydrogelzusammensetzung eingestellt werden, sodass sich ein Wirk-

stoffgradient im Scaffold und im umgebenden Gewebe ausbildet<sup>2</sup>. Angelockt durch die freigesetzten chemoattraktiven Wirkstoffe des Depots sollen osteoblastäre Vorläuferzellen als Zellen mit regenerativem Potenzial aus dem umliegenden Gewebe entlang dieses Wirkstoffgradienten gerichtet in den hochporösen Scaffold migrieren. Im Scaffold und damit im Defektbereich sezernieren diese Zellen ihrerseits Wachstumsfaktoren und Zytokine, was weitere Zellen anlockt, die Vaskularisierung stimuliert und somit die Knochendefektheilung insgesamt induziert (Abb. 1).

## „proof of concept“

Als „proof of concept“ wurde das zentrale Depot der mineralisierten Kollagenscaffolds zunächst mit dem vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor VEGF (engl. vascular endothelial growth factor) beladen, welcher sowohl chemotaktisch auf die Migration von Endothelzellen wirkt, als auch Angiogenese induziert. VEGF wurde hierfür sowohl ohne Biopolymer, mit 0,1 Prozent Heparin, ein Prozent Alginate, ein Prozent Alginate plus 0,1 Prozent Heparin und ein Prozent Hyaluronsäure als Depot appliziert, was zu sehr unterschiedlichen VEGF-Freisetzungprofilen führte. Durch Aussaat von humanen mikrovaskulären Endothelzellen der Haut (HDMEC; engl. human dermal microvascular endothelial cells) auf die Scaffoldoberfläche konnte nach dreitägiger Inkubationszeit die Migrationstiefe der Zellen bestimmt werden, indem die Zellen im Scaffold fixiert, gefärbt und deren Anzahl im Scaffoldinneren fluoreszenzmikroskopisch gezählt wurde. Die Ergebnisse deuten auf eine Korrelation zwischen dem Grad der VEGF-Freisetzung und der Migrationstiefe der Endothelzellen: Je verzögerter die Freisetzung und damit je steiler der eingestellte VEGF-Gradient ist, desto tiefer migrierten die Zellen in den Scaffold.

Um osteoblastäre Vorläuferzellen anzulocken und gleichzeitig die Angiogenese zu stimulieren arbeitet unsere Arbeitsgruppe mit einem Wirkstoffgemisch, welches aus dem Zellkulturüberstand von Hypoxie-konditionierten humanen mesenchymalen Stromazellen (hMSC) gewonnen wird (HCM; engl. hypoxia conditioned medium). Neben seiner starken chemotaktischen Wirkung auf hMSC<sup>3</sup> zeigt HCM auch ein starkes angiogenes Potenzial. Unter hypoxischen Bedingungen (1% O<sub>2</sub> für 5 Tage unter Zellkulturbedingungen) sezernieren hMSC einen angiogenen Wirkstoffcocktail, welcher unter anderem Faktoren wie Angiogenin, VEGF, Pentraxin 3 und uPA (eng. urokinase-type plasminogen activator) enthält<sup>4</sup>, die durch synergistische Wechselwirkungen auch in geringer Konzentration die Bildung von vaskulären Strukturen in vitro stimuliert.

## Erste In-vivo-Studie

In einer ersten In-vivo-Studie konnte im überkritischen Knochendefektmodell der osteoporotischen Ratte

gezeigt werden, dass HCM in Kombination mit den biomimetischen Scaffolds aus mineralisiertem Kollagen die Knochendefektheilung signifikant unterstützt, indem sowohl die Bildung großlumiger Blutgefäße, als auch die Osteoblastenaktivität (und damit die Knochenneubildung) angeregt wurden. Durch Optimierung der Hypoxie-Bedingungen und anschließender Aufkonzentrierung durch Lyophilisation, kann dieser Wirkstoffcocktail um den Faktor 80-100 aufkonzentriert werden und in das zentrale Depot der mineralisierten Kollagenscaffolds integriert werden. In vitro konnte



Mandy Quade

sowohl die aktive Migration von hMSC entlang des HCM-Gradienten gezeigt werden, als auch das Einsprossen von prävasculären Strukturen in den Scaffold.

Im Rahmen der im SFB/TR 79 anstehenden In-vivo-Studien im Großtiermodell des Schafs sollen die Wirksamkeit des entwickelten In-situ-Tissue-Engineering-Konzepts gezeigt werden und der Weg bereitet werden für die klinische Translation. Hierbei könnte sich als günstig herausstellen, dass das HCM mithilfe von Zellen des jeweiligen Patienten und damit autolog hergestellt werden kann. ■

## Literatur:

1. van Staa TP, Dennison EM, Leufkens HGM, Cooper C. Epidemiology of fractures in England and Wales. Bone 2001;29(6):517-22.
2. Quade M, Knaack S, Akkineni AR et al. Central Growth Factor Loaded Depots in Bone Tissue Engineering Scaffolds for Enhanced Cell Attraction. Tissue Eng Part A 2017;23(15-16):762-72.
3. Gabrielyan A, Knaack S, Gelinsky M et al. Hypoxia-conditioned media allows species-specific attraction of bone marrow stromal cells without need for recombinant proteins. BMC Vet Res 2014;10(1):56.
4. Gabrielyan A, Neumann E, Gelinsky M, Rösen-Wolff A. Metabolically conditioned media derived from bone marrow stromal cells or human skin fibroblasts act as effective chemoattractants for mesenchymal stem cells. Stem Cell Res Ther 2017;8:212.

► **Autoren:** M. Sc. Mandy Quade<sup>1</sup>, Dr. rer. nat. Anja Lode<sup>1</sup>, Dipl. Biol. Anastasia Gabrielyan<sup>2</sup>, Prof. Dr. med. Angela Rösen-Wolff<sup>2</sup>, Prof. Dr. rer. nat. Michael Gelinsky<sup>1</sup>  
 1. Zentrum für Translationale Knochen-, Gelenk- und Weichgewebeforschung Universitätsklinikum und Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus, TU Dresden  
 2. Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Labor für Klinische Forschung, Universitätsklinikum und Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus TU Dresden  
 E-Mail: mandy.quade@tu-dresden.de

► **Donnerstag, 26.04** 10:15–11:45 Uhr KS III (2. OG)

wellsystem™

WELLSYSTEM MEDICAL & WELLSYSTEM MEDICAL\_PLUS

BESUCHEN SIE UNS AUF DER VSOU  
STAND U.18 UND IM WELLMOBIL

ORIGINAL HYDROJET TECHNOLOGY

JK-International GmbH // T +49 (0) 2224/818-0 // info@wellsystem.de // www.wellsystem.de