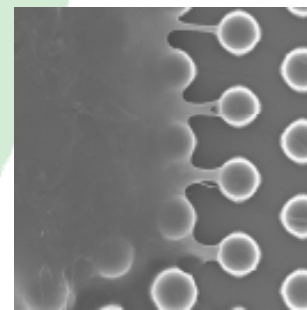


Plenum Deutscher Ethikrat 28.10.2010

Tissue Engineering



Tissue Engineering



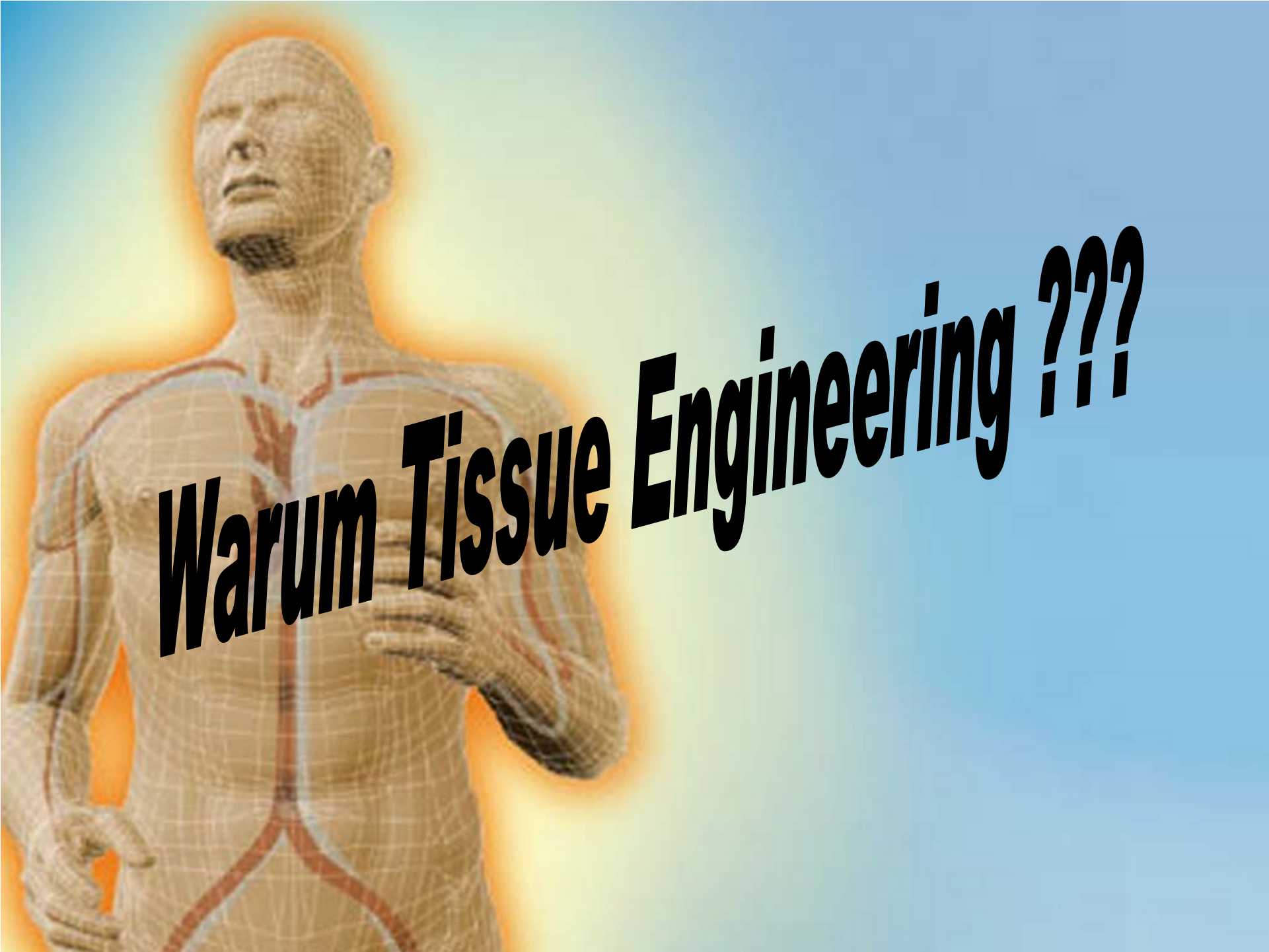
- Aufklärung der grundsätzlichen Mechanismen und **Funktionen** in gesunden und erkranktem Gewebe
- Entwicklung biologischer Ersatzgeweben zur:
 - **Unterstützung** oder
 - zum **Ersatz**
- von geschädigten oder ausgefallenen Gewebe oder Organfunktionen

Tissue Engineering und Regenerative Medizin



- endogene Regenerationspotential
(Selbtheilungskräfte) des Körpers
- angestrebt wird die Entwicklung von Behandlungsverfahren die die **Ursache** einer Erkrankung therapiert (kausalen), um
- die bis dato praktizierte **symptomatische** und damit **permanente** Behandlung zu ersetzen.

Fuchs JR. Ann Thorac Surg 2001, 72:577-91



Warum Tissue Engineering ???

Mangel an Spenderorganen – alternative Quellen

Autotransplantation
aus dem eigenen

Allotransplantation
anderen Menschen



Tissue Engineering
künstliche Organe

transplantation
Tiere als Organspender

Universitätsklinikum Würzburg

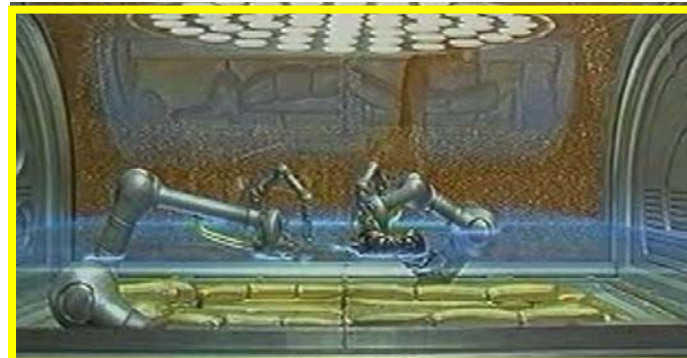


Fiktion Tissue Engineering

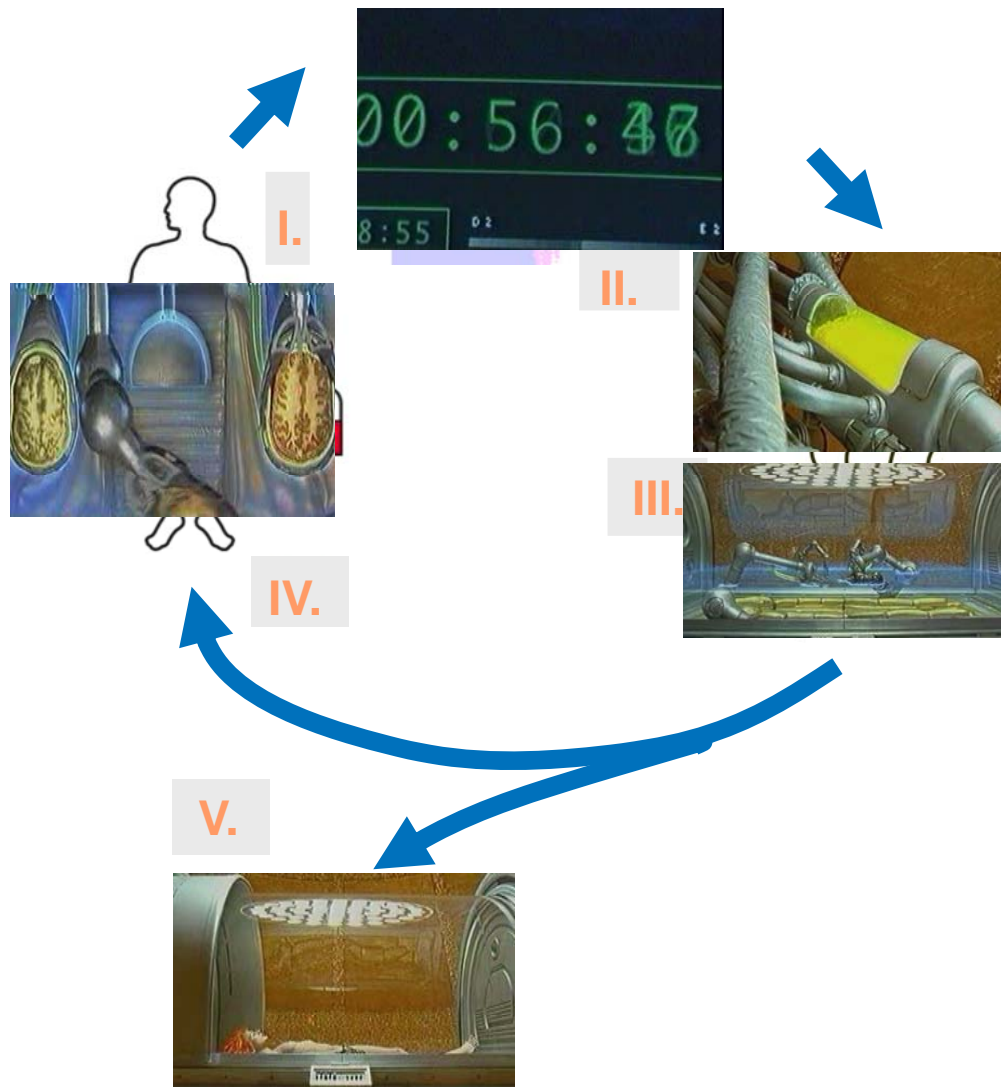


Luc Besson, „The 5th Element“⁶

Fiktion Tissue Engineering



Tissue Engineering – Realität

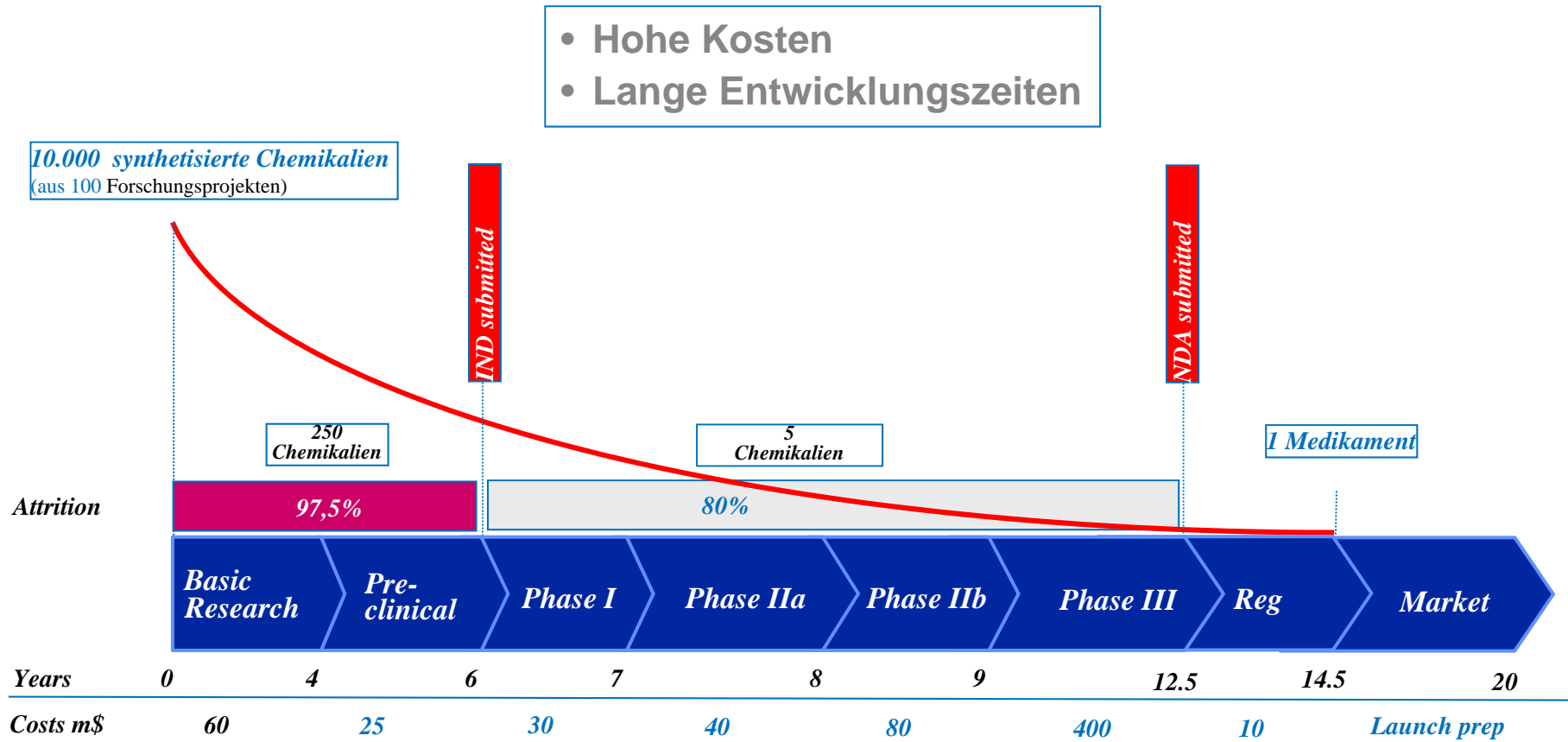


Konzept

- I. Isolation von primären Zellen
- II. Kultur und Vermehrung *in vitro*
- III. Wachstum auf einer 3D Trägerstruktur
- IV. Transplantat
- V. humane *in vitro* Testsysteme (Alternativen zum Tierversuch)

Warum Alternativen zum Tierversuch?

vom Molekül zum Medikament



Source: PhRMA, Pharmaceutical Industry Profile 2007; <http://link.brightcove.com/services/link/bcpid1541043091/bctid1541121027>

Warum Alternativen zum Tierversuch?

Spezies Unterschiede

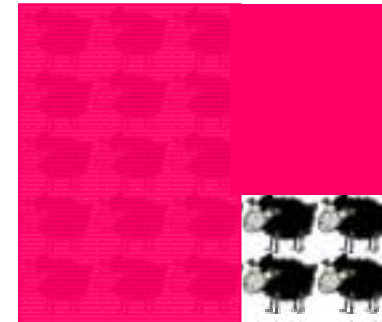
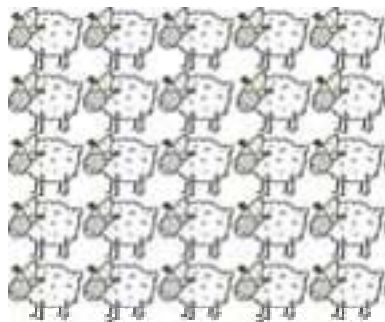


Beispiel Studien in zwei unterschiedlichen Arten, um das “schwarze Schaf” unter den Chemikalien zu identifizieren

Test Substanzen

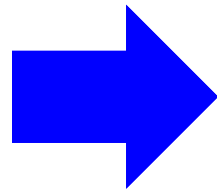
60% 1. Spezies

60% 2. Spezies





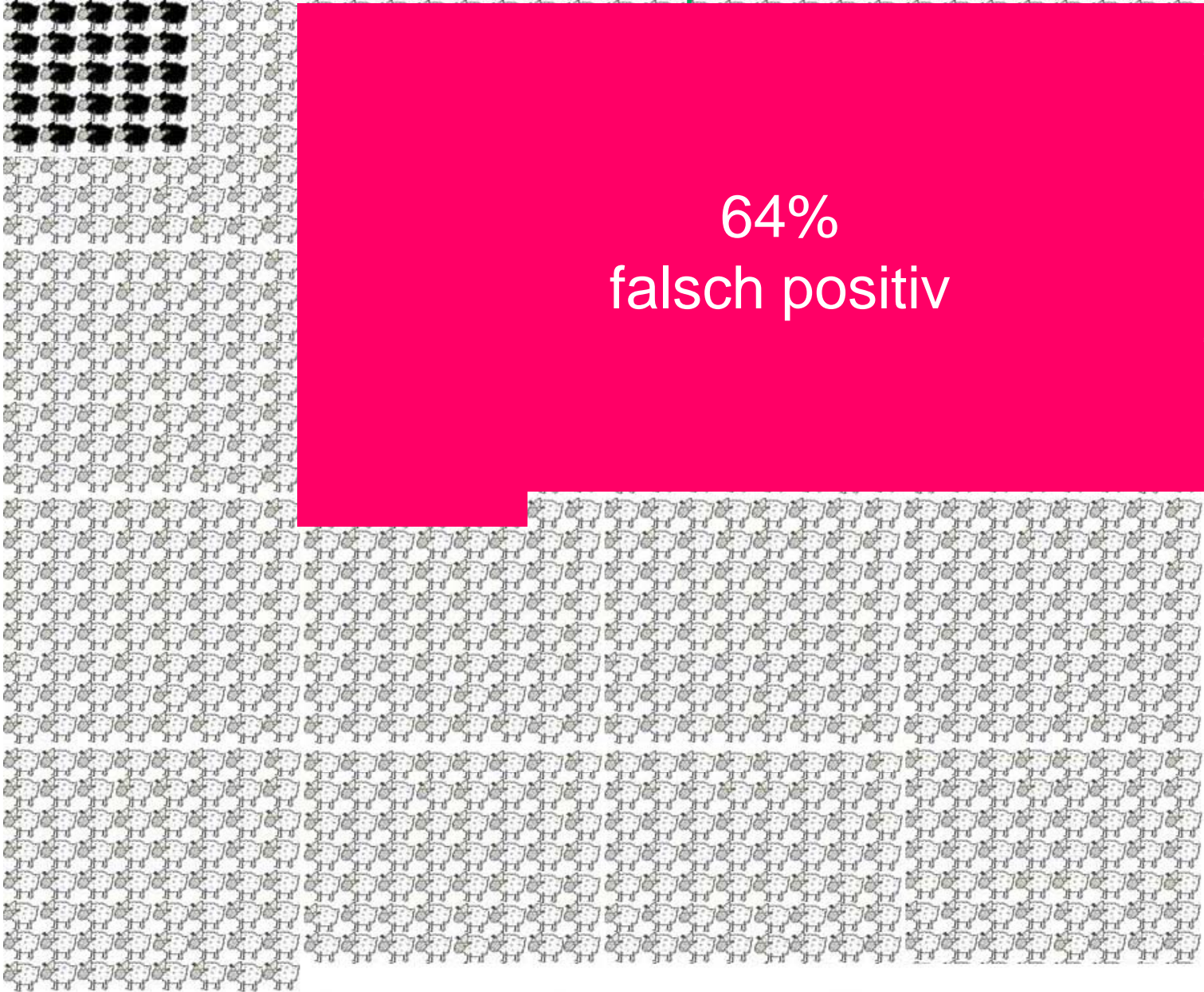
**Realität:
schwarze Schafe
sind selten**



Warum Alternativen zum Tierversuch? Spezies Unterschiede

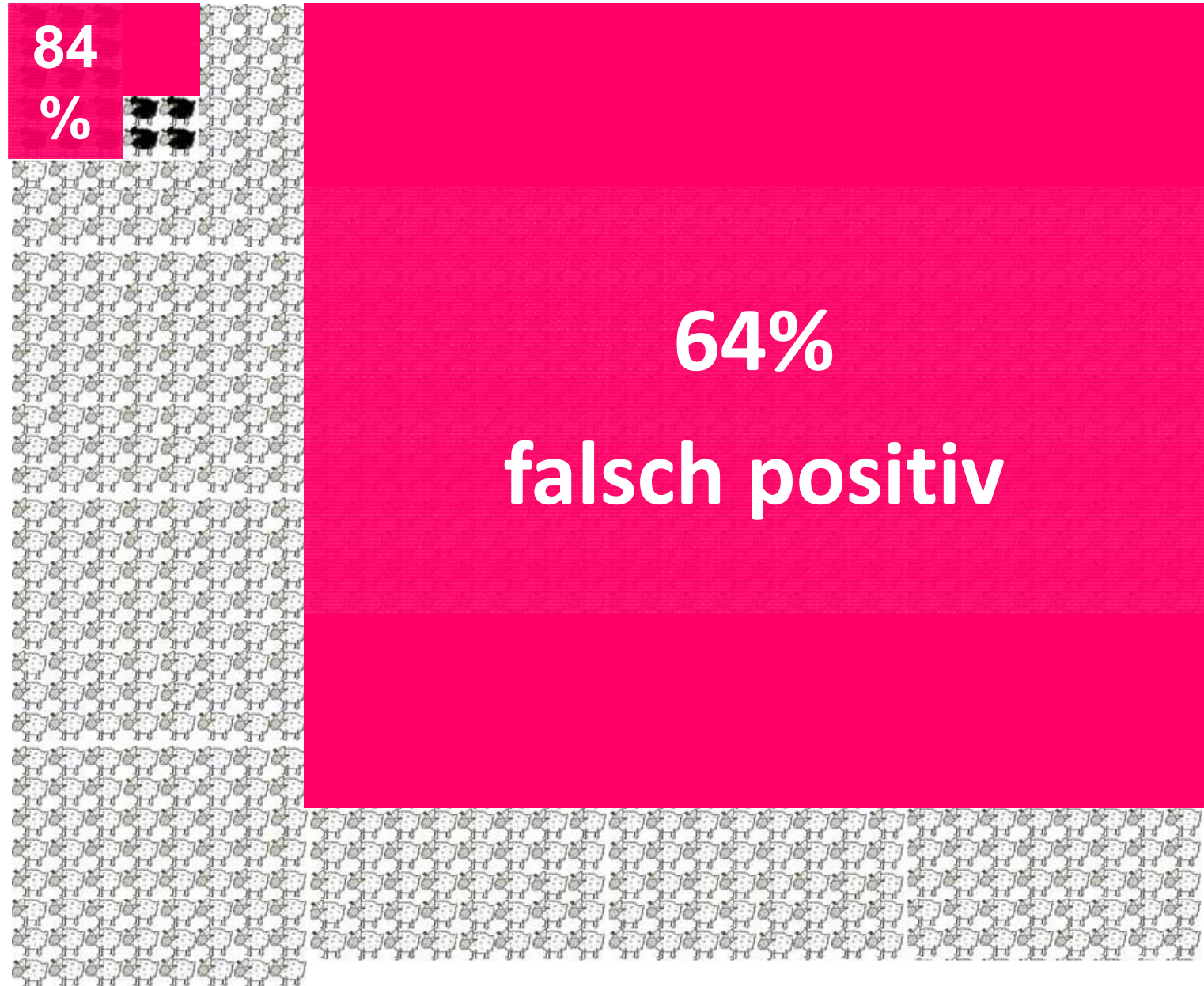
2-3%
toxische
Substanzen
unter den
getesteten
Chemikalien

1.
Tierart

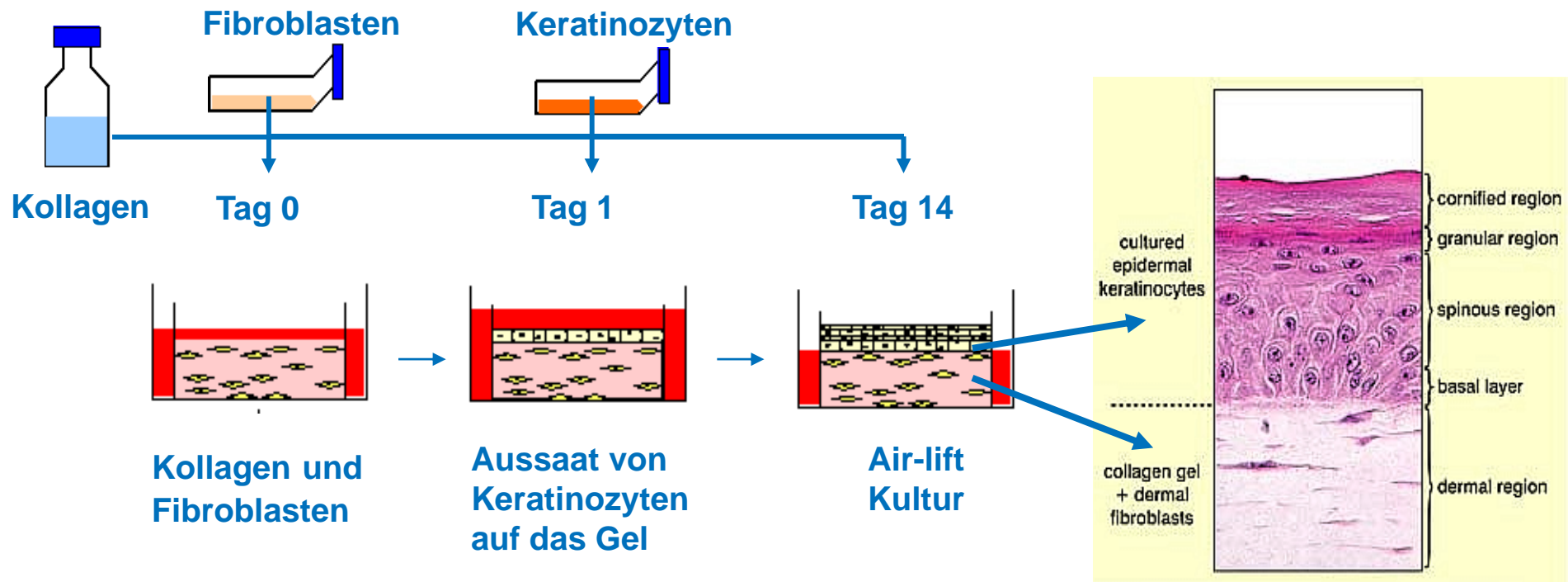


Warum Alternativen zum Tierversuch? Spezies Unterschiede

2.
Tierart

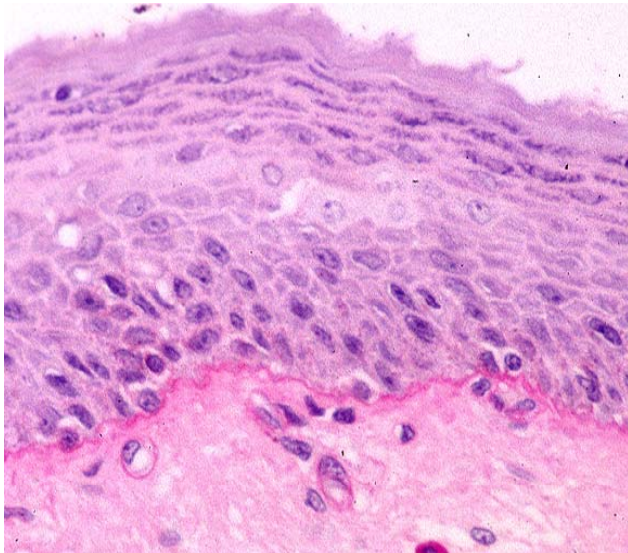


Aufbau eines dreidimensionalen humanen Hautäquivalents

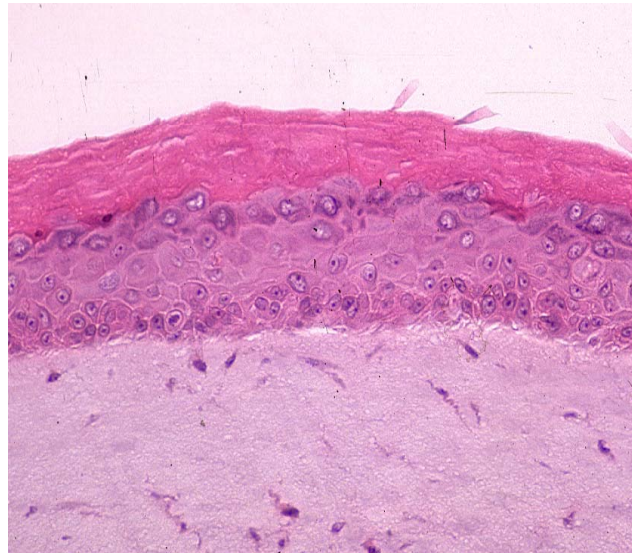


Tissue Engineering & Regenerative Medizin - Testsysteme

Alternativen zum Tierversuch



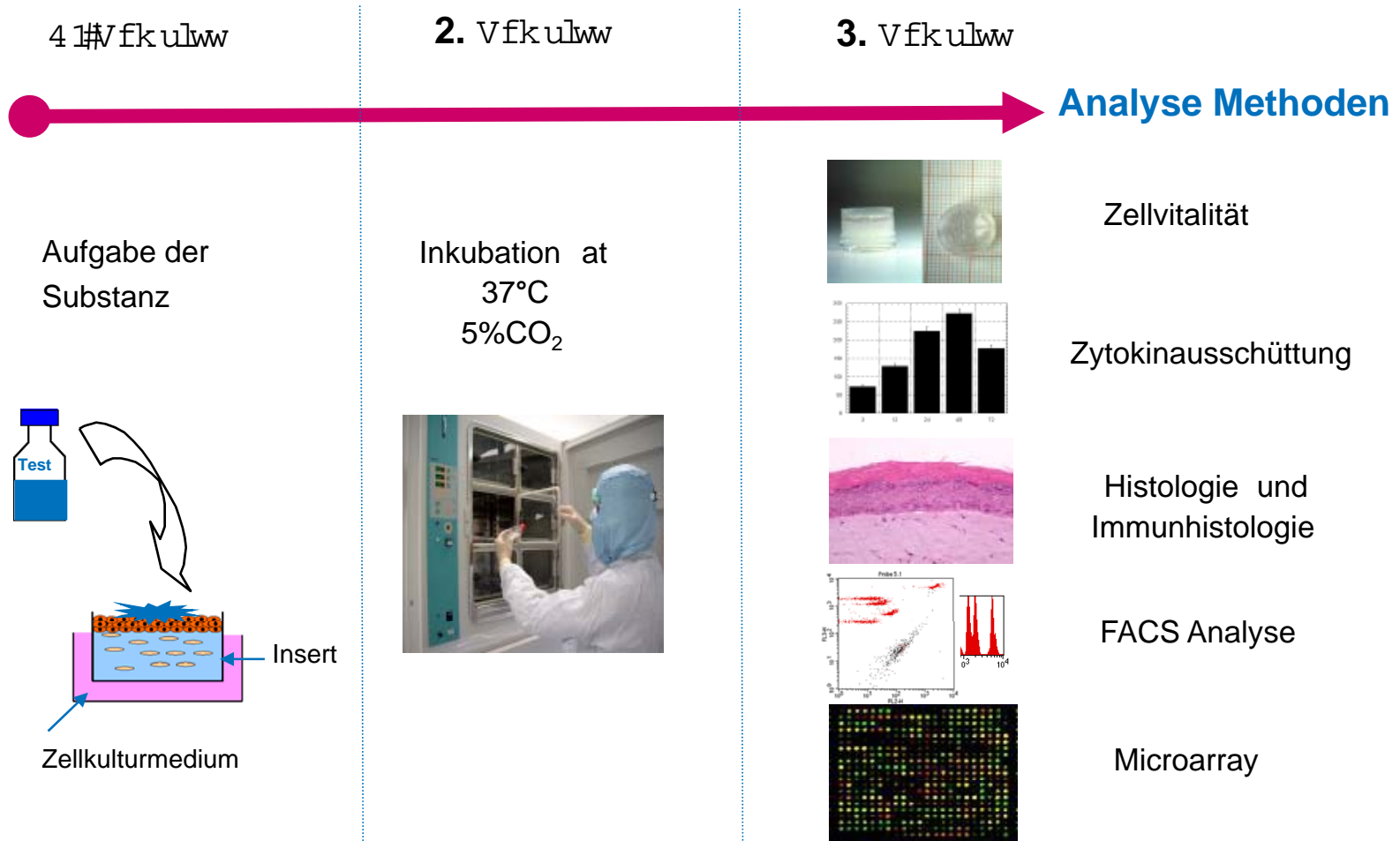
humane Haut (*in vivo*)



Hautäquivalent IGB



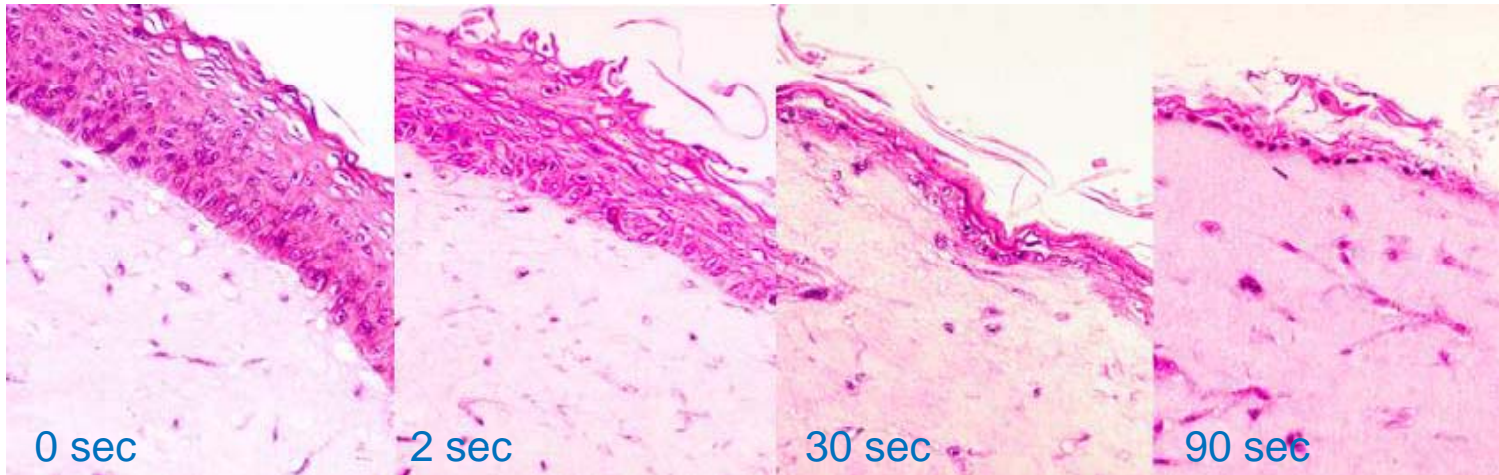
Testdurchführung



Risikobewertung - Biokompatibilitätstests nach DIN ISO 10993-5

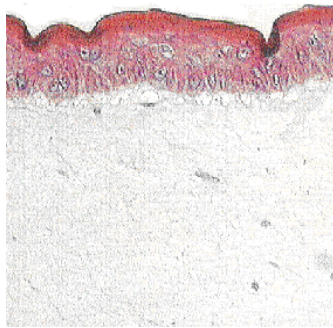


- Akreditiertes 3 D humanes Hautäquivalent
- Irritationspotential
- Resorption und Penetration
- Proliferation
- Induktion von Nekrose/Apoptose
- Induktion von Inflammation



Anwendung des dreidimensionalen Hautäquivalents

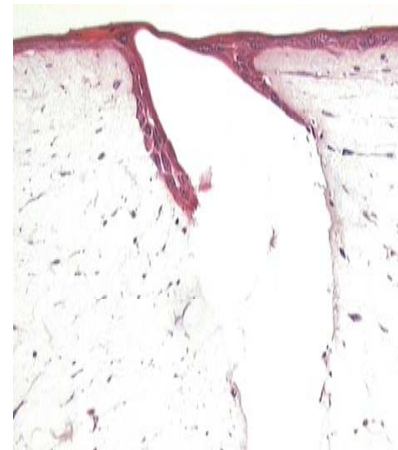
Wundheilungsstudien



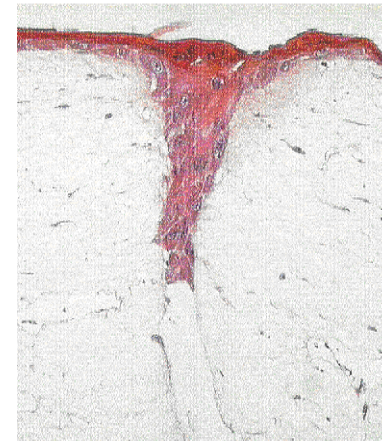
Kontrolle



3h nach Verletzung



24h nach Verletzung



72h nach Verletzung

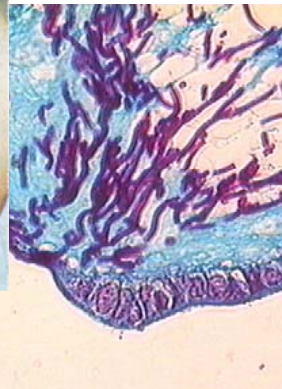
Anwendung des dreidimensionalen Hautäquivalents

Untersuchungen von Infektionsvorgängen

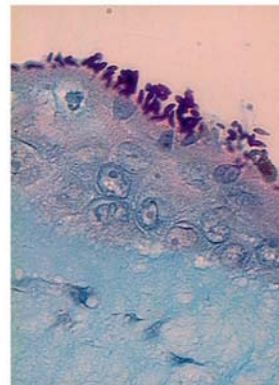
C. albicans



invasiver Stamm



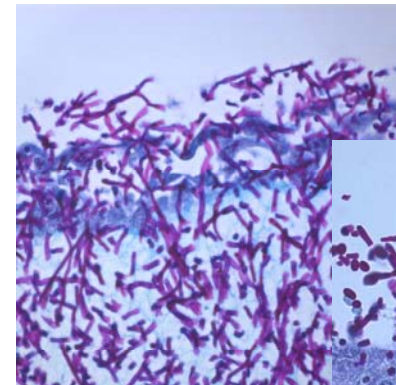
nicht pathogen



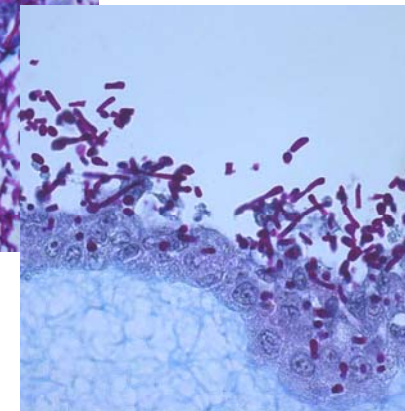
5 relevante Gene

Urban FEBS Lett. 2003

Drug Screening

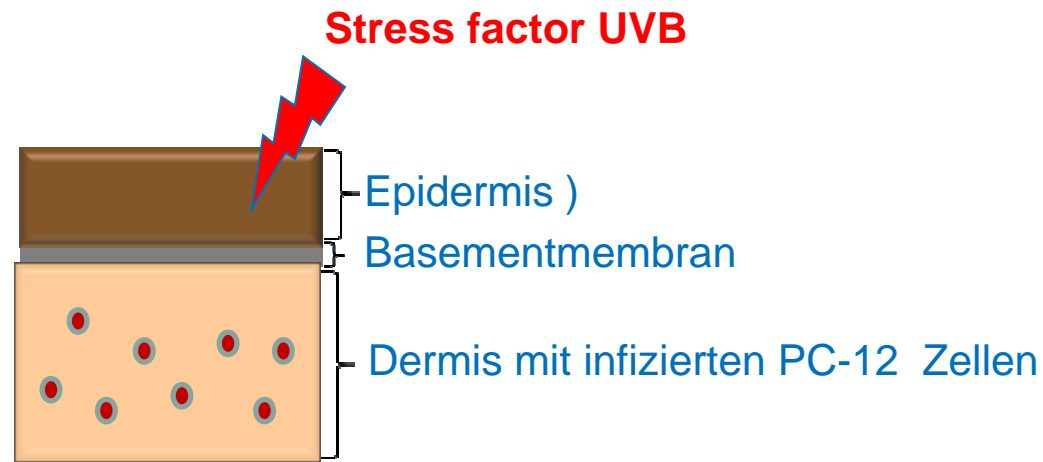


Kontrolle 20 h

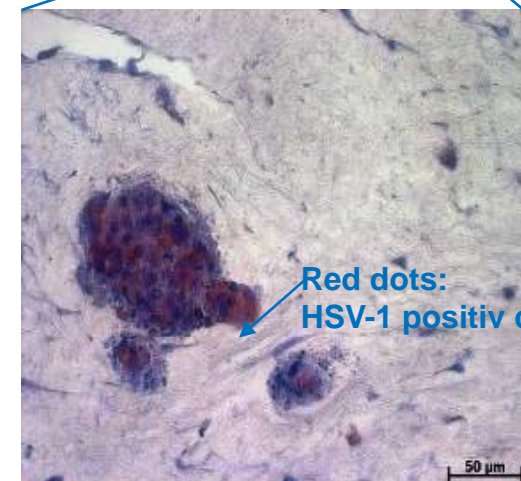
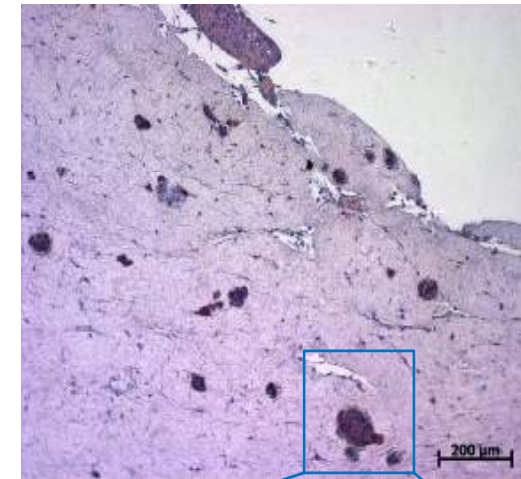


120B12 IC72 20 h

Krankheitsmodell: Herpes-1 *in vitro* Modell



Reaktivierung von HSV-1 nach UVB Behandlung mit infizierten PC-12 Zellen

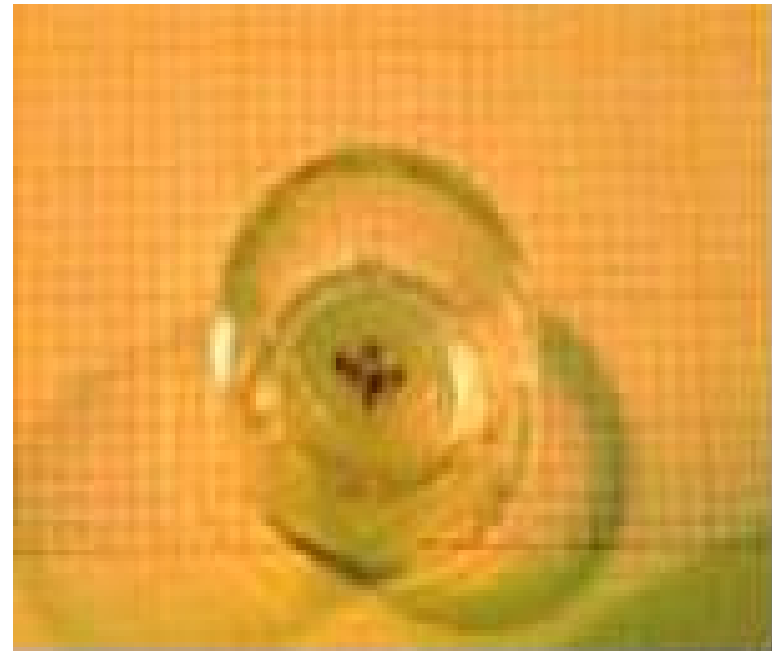


Red dots:
HSV-1 positiv cells

3 D organoide Gewebeäquivalente - Hauttumor

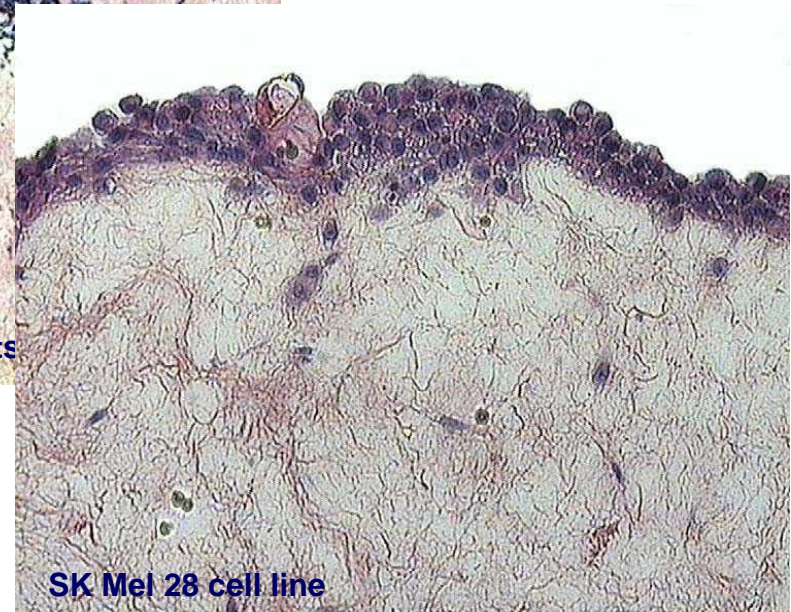
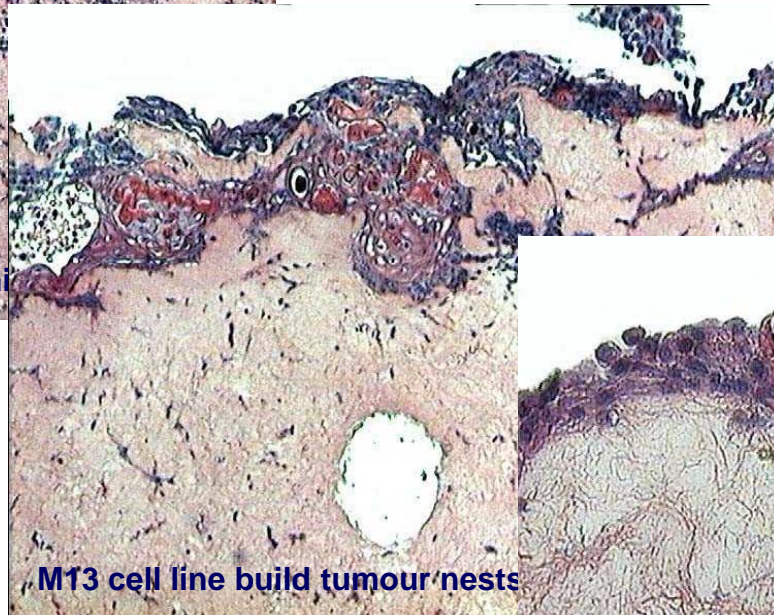


Mel Juso Zellen

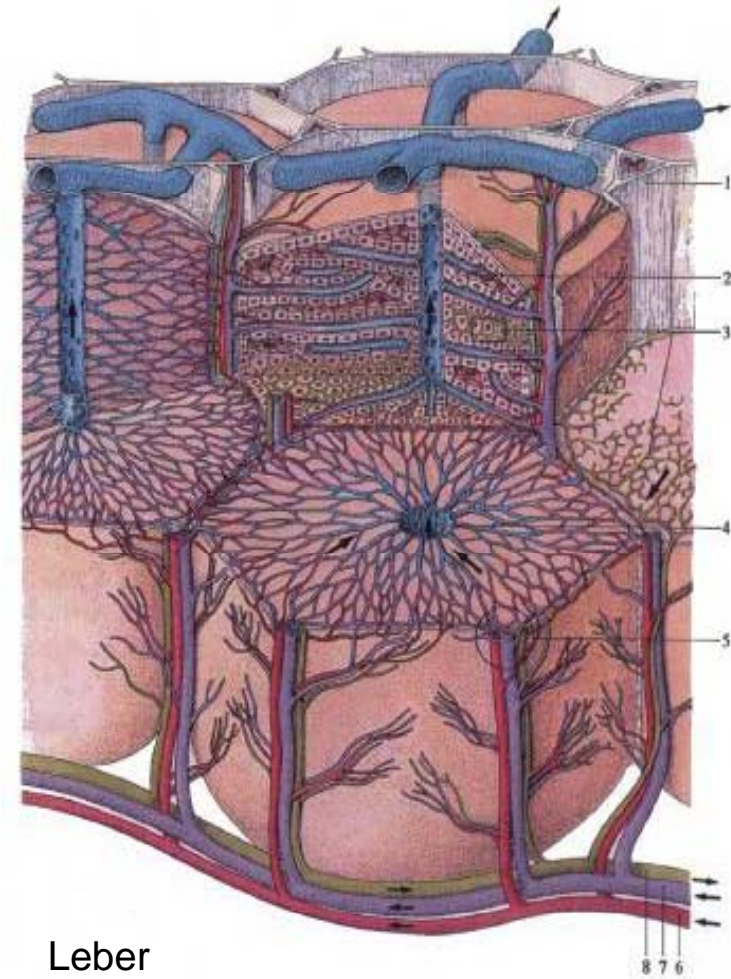


Mel Juso Zellen – 14 Tagen

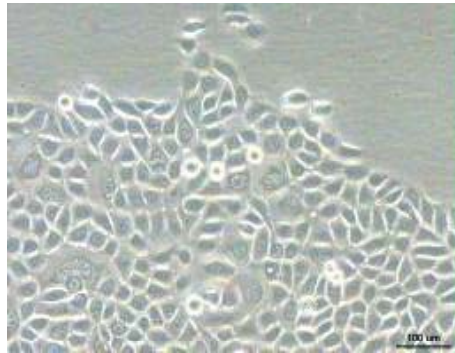
3 D organoide Gewebeäquivalente - Hauttumor



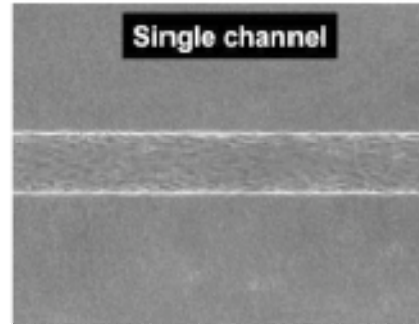
Tissue Engineering: Problem Vaskularisation



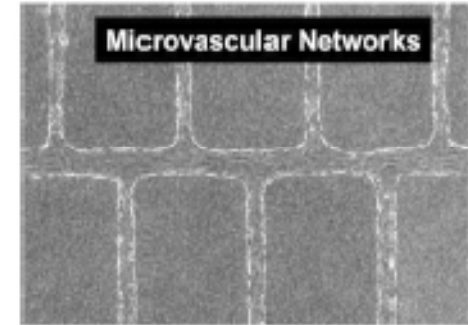
artifizielle mikrovaskuläre Netzwerke



Isolierte Zellen



Scaffold

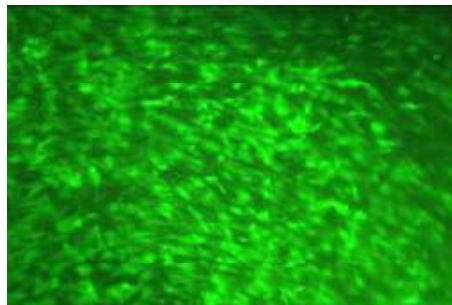


Microvascular Networks



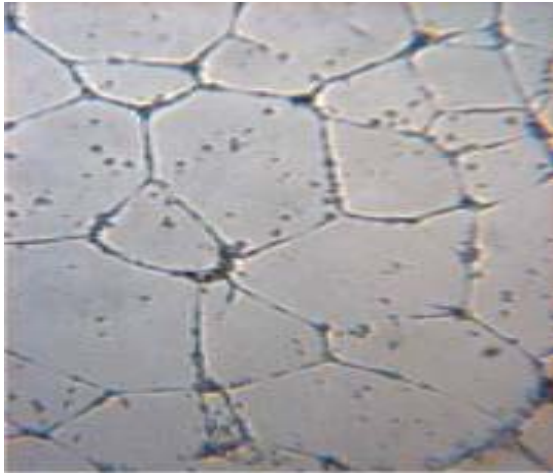
rapid prototyping

Bioartifizielle
Gewebe ohne
Gefäße

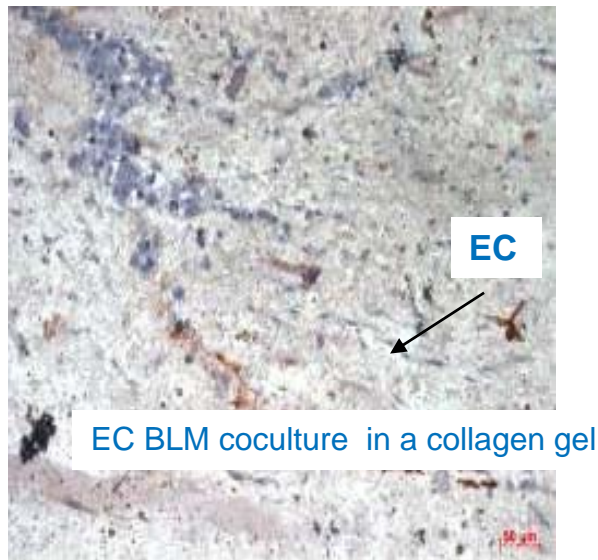


**Lumen der Gefäße >
3 mm im Durchmesser**

Induktion der Angiogenese - Wachstumsfaktoren



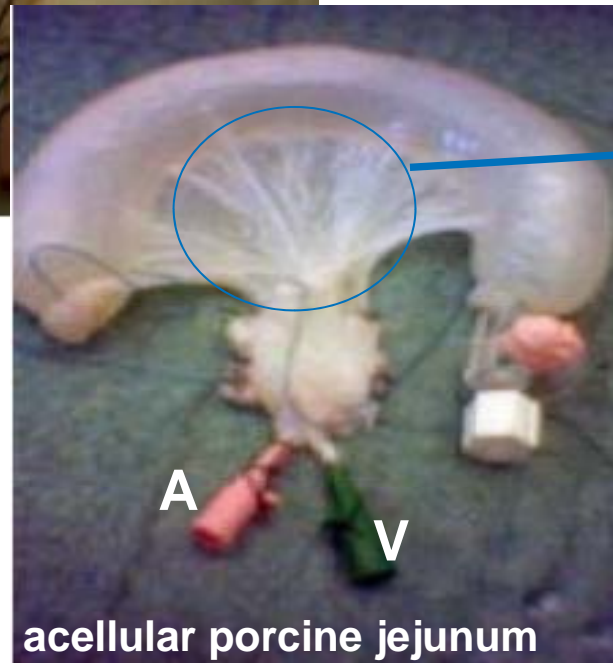
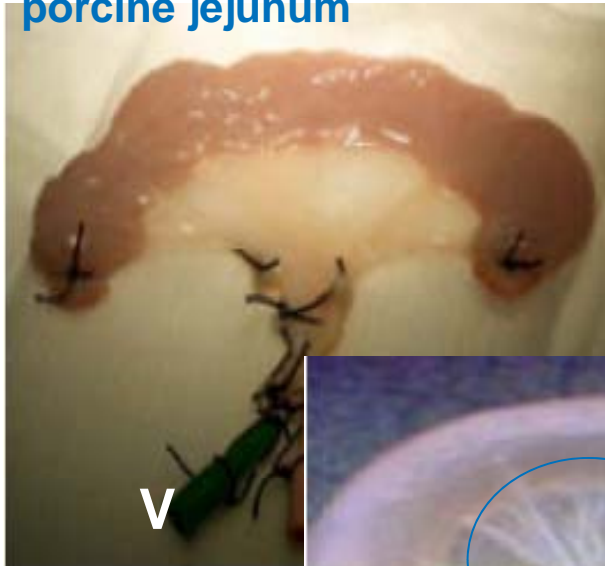
- tube formation
- capillary like structures



vaskularisierte Trägerstruktur für komplexe Gewebe

BioVaSc

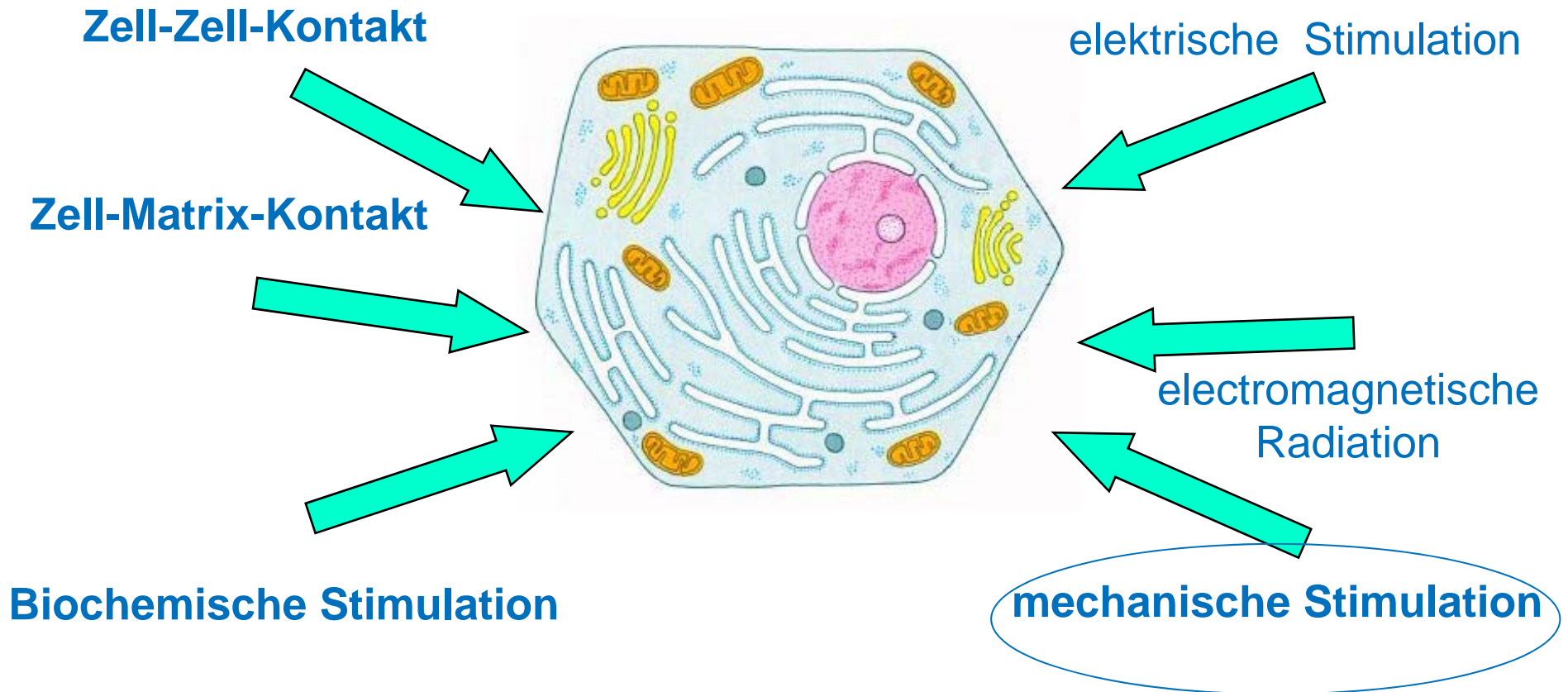
porcine jejunum



Kollagen I/III Scaffold mit tubulären Strukturen

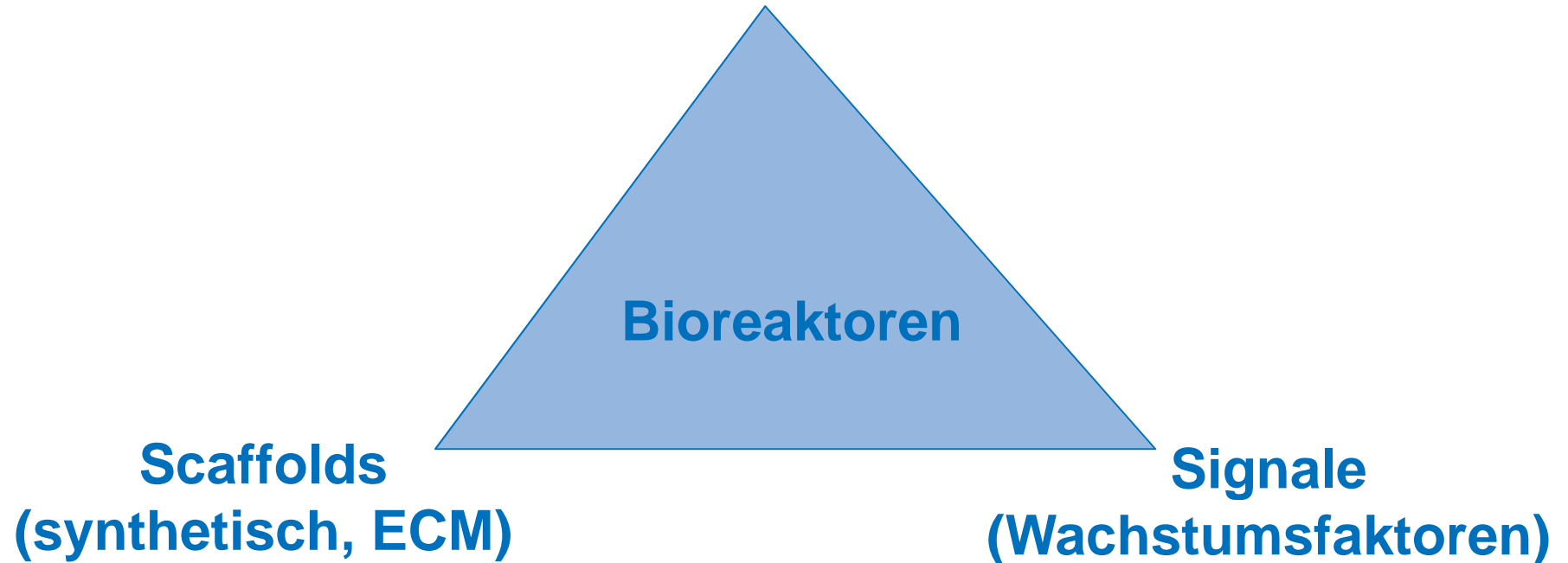
Mertsching, [Biomaterials](#) 2005;26(33):6610-6617.

Gewebespezifische Funktion

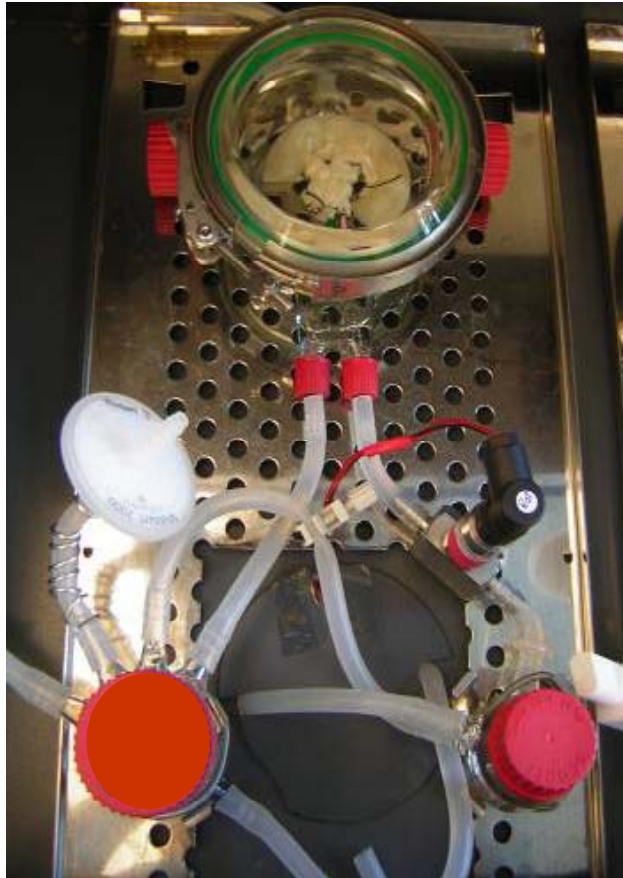


Wichtigste biologische Komponente

Zellen
(Stamm- , Progenitor- ,
differenzierte (primäre) Zellen



PC kontrolliertes Bioreaktorsystem

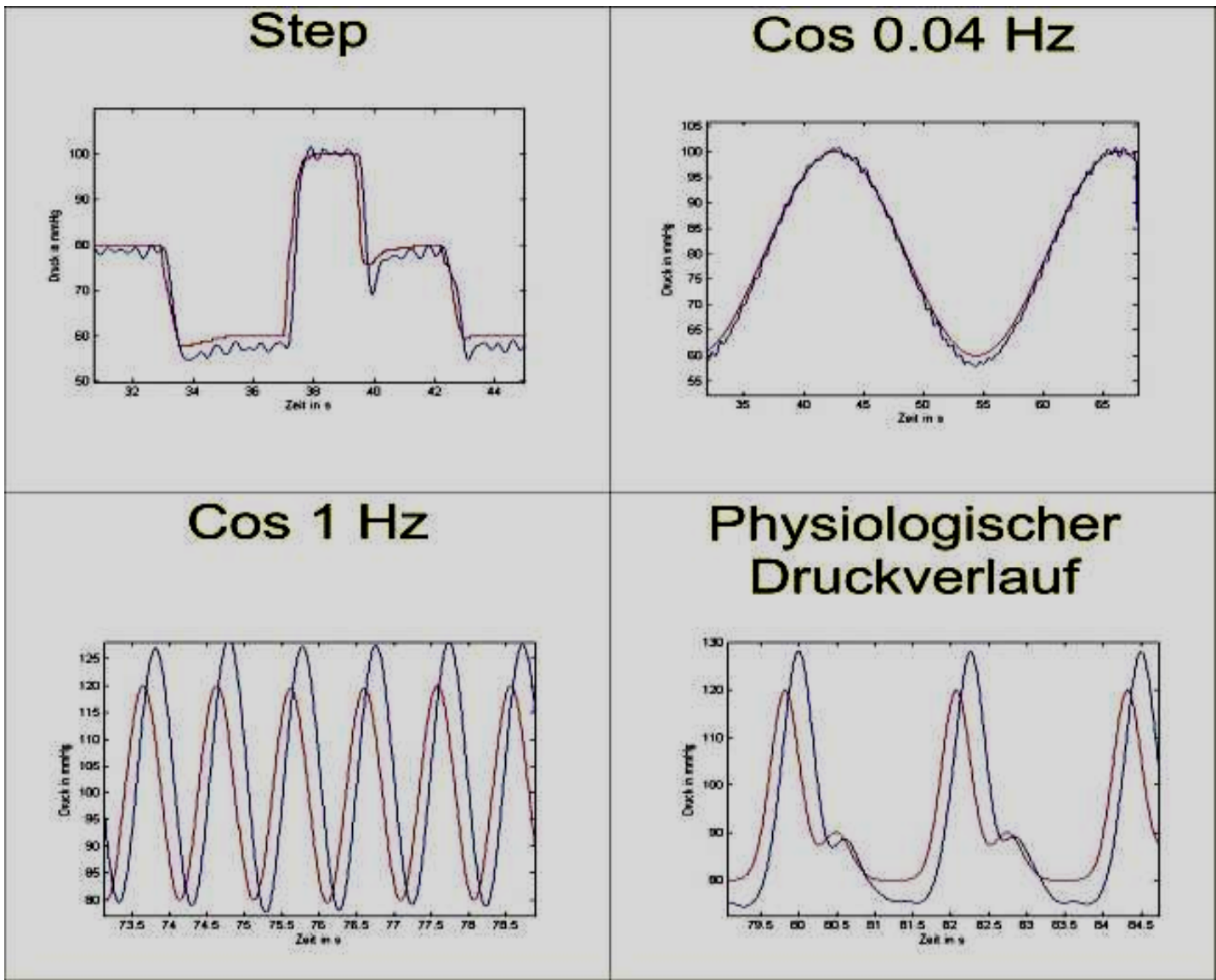


PC kontrolliertes Bioreaktorsystem



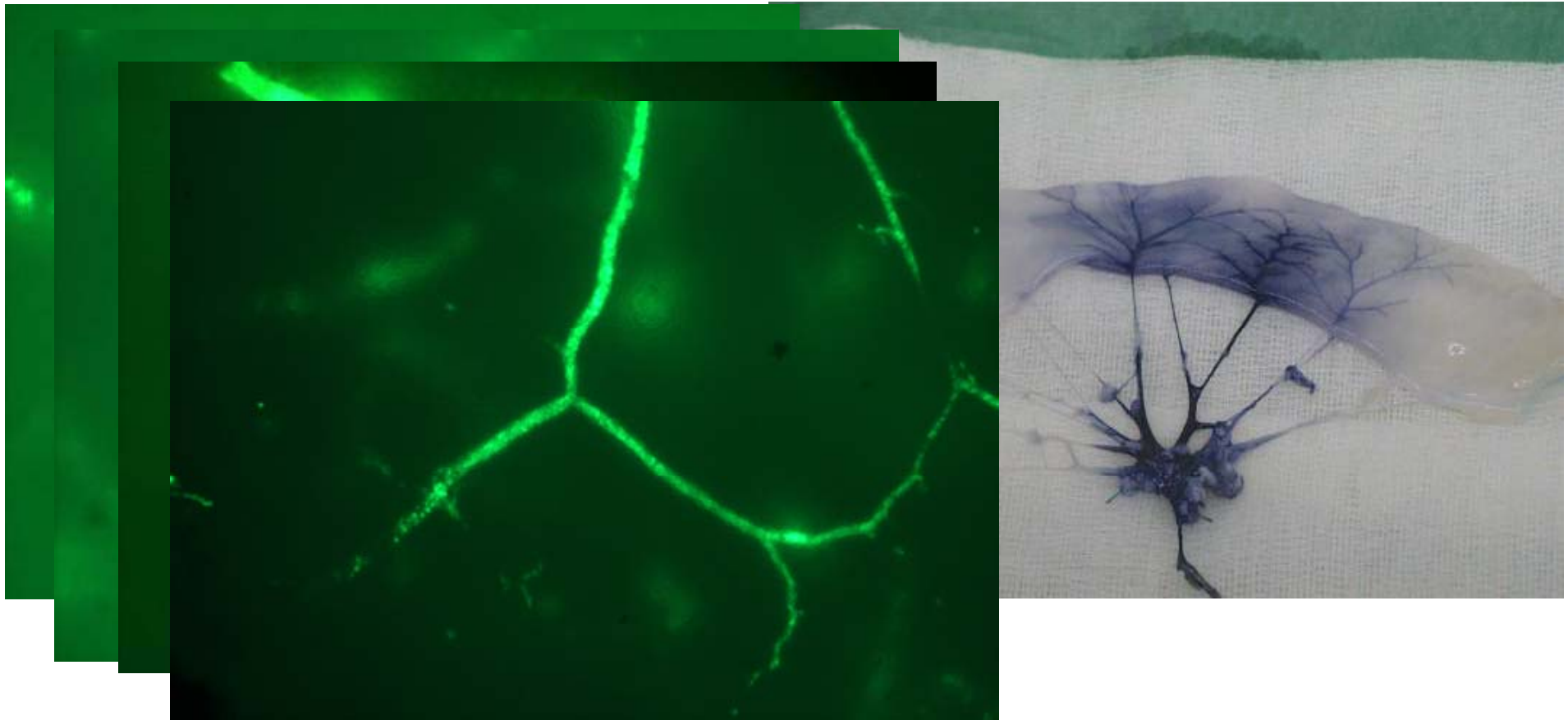
Mertsching, [Adv Biochem Eng Biotechnol.](#) 2009;112:29-37.

Kulturmöglichkeiten



Kultur humaner Endothelzellen auf den azellularisierten Röhrenstrukturen

Tapezieren – zur **Herstellung eines Blutgefäßäquivalents**

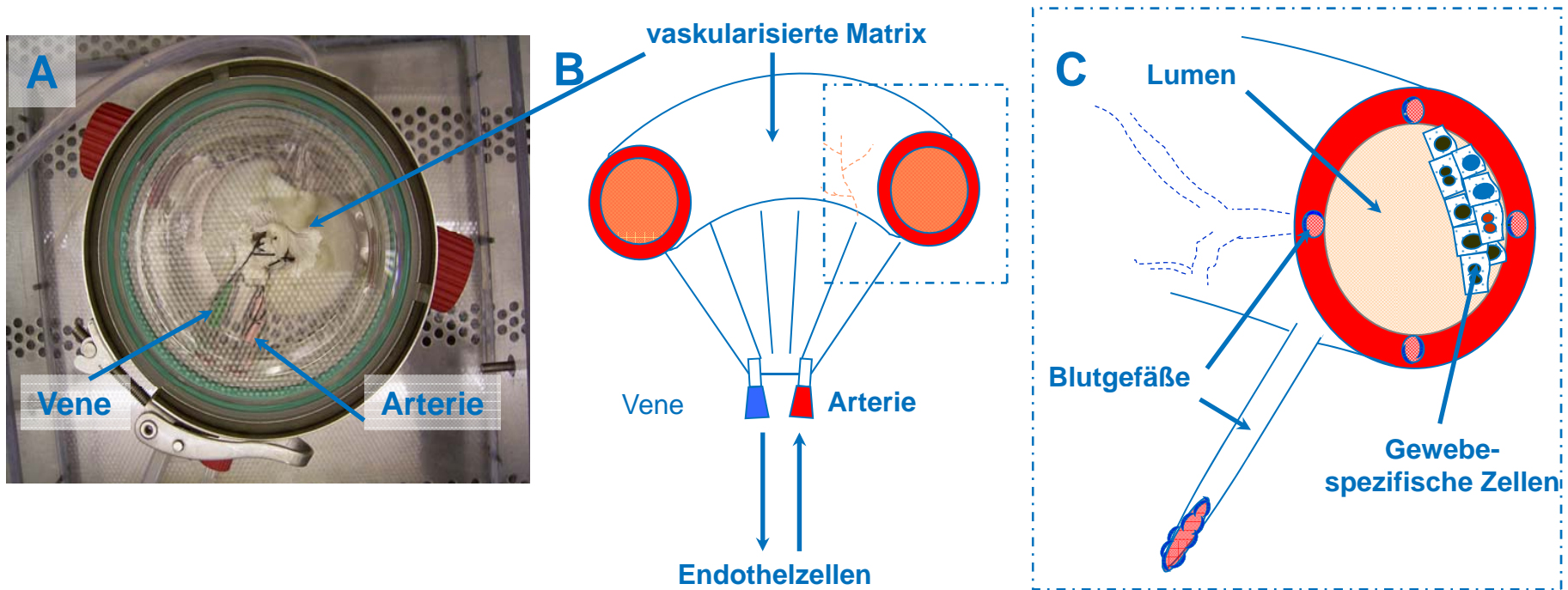


Mertsching, [Biomaterials](#) 2005;26(33):6610-6617.
Schultheiss, [J Urol.](#) 2005 ;173(1):276-280.

Tissue Engineering & Regenerative Medizin - Testsysteme

Alternativen zum Tierversuch

Prinzip der vaskularisierten 3D Gewebemodellen

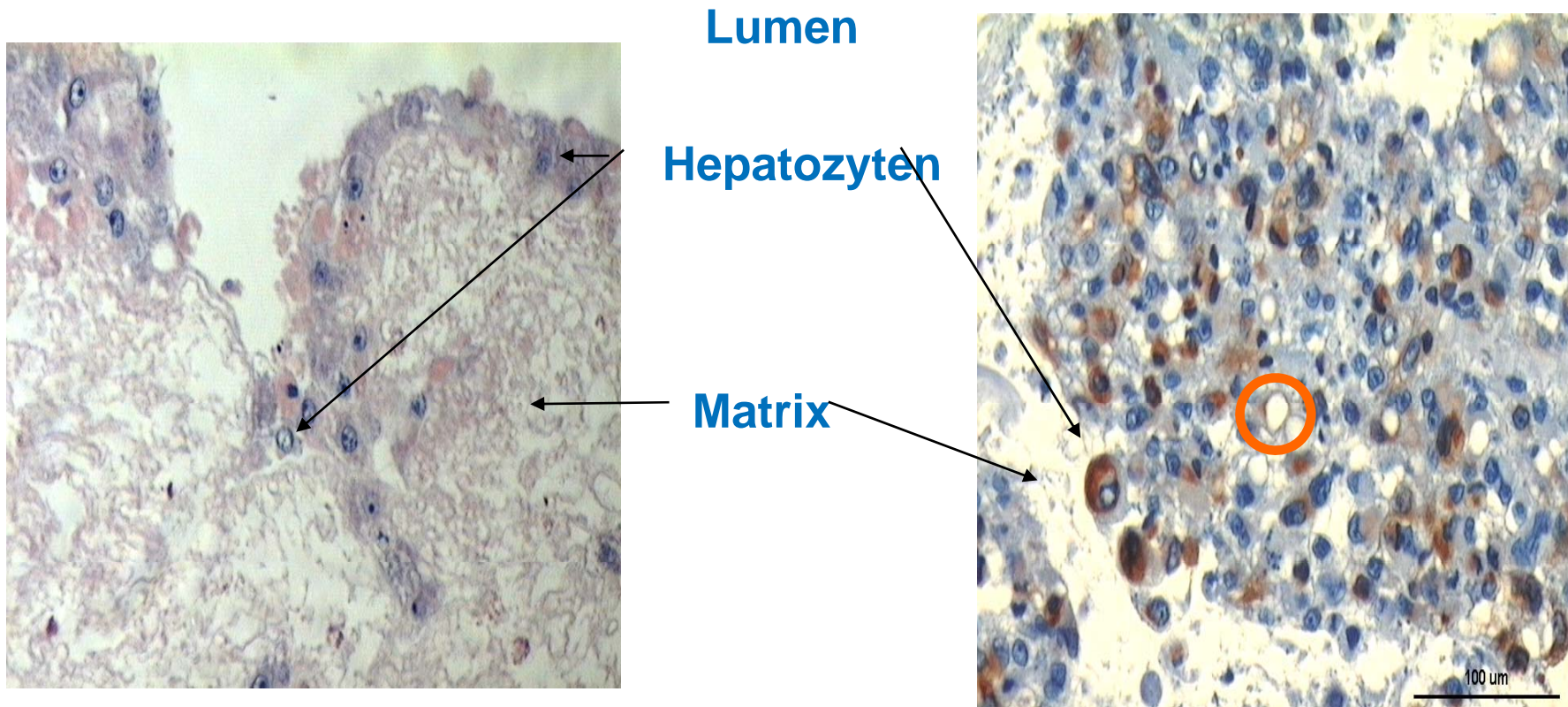


Leber Testsystem



Schanz, [J Biotechnology](#) (2010) accepted

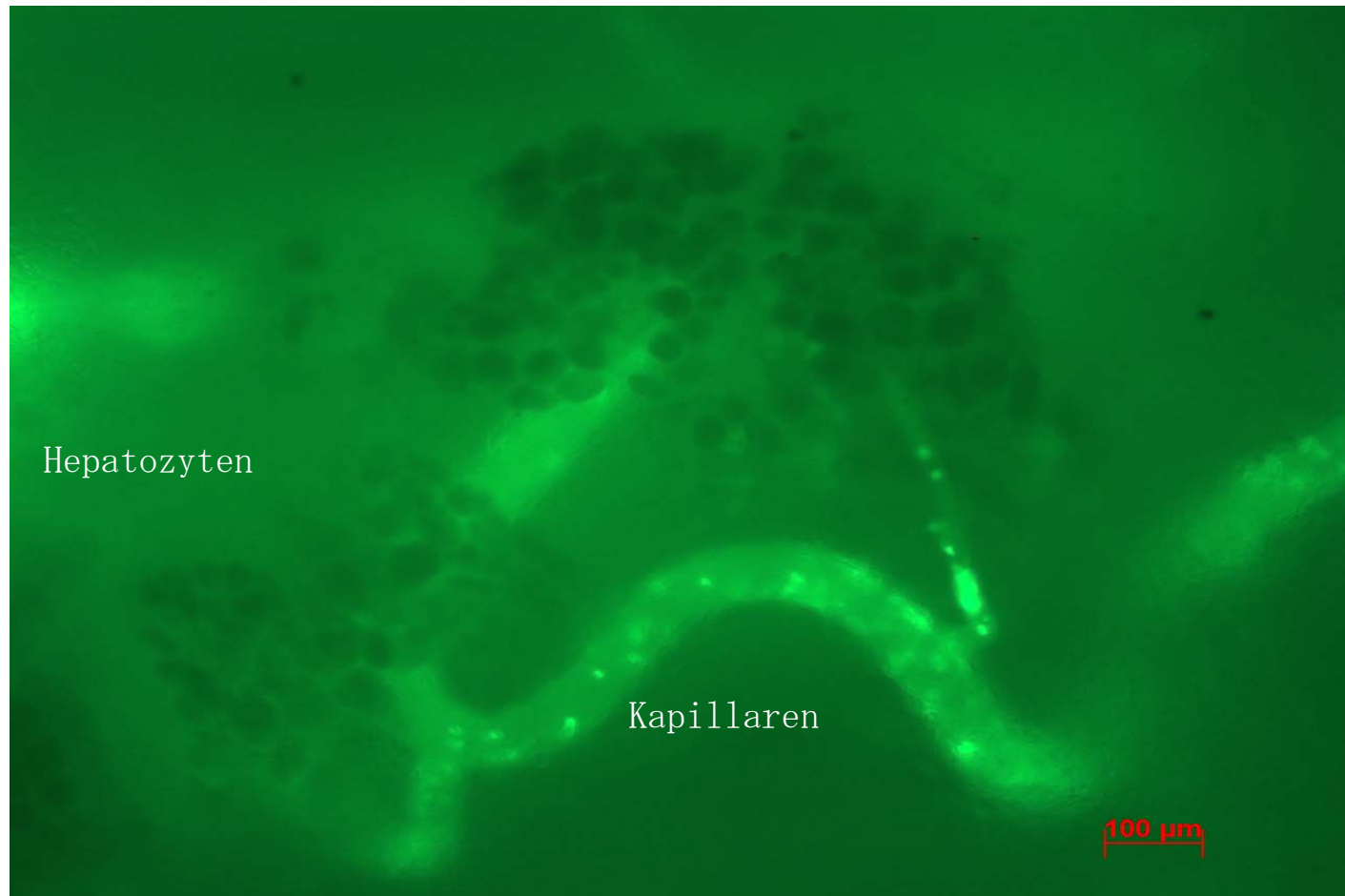
neue tubuläre Strukturen



- Kapillaren
- Gallengänge

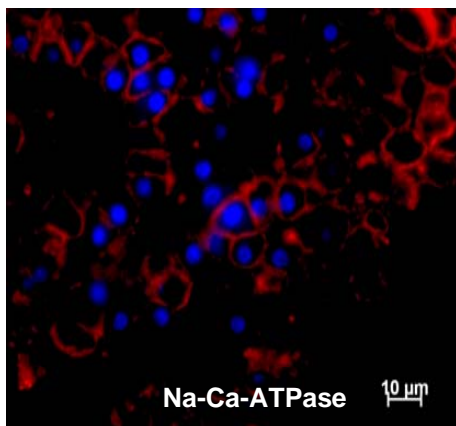
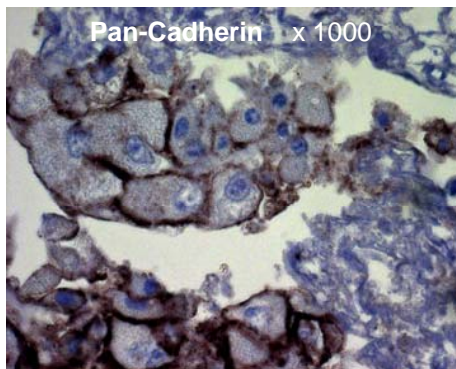
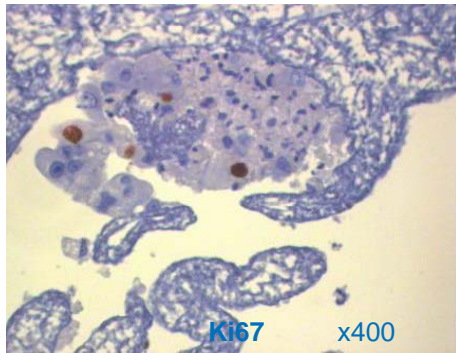
Schanz, *J Biotechnology* (2010) accepted

in vitro Angiogenese – funktionelle Kapillaren



Schanz, *J Biotechnology* (2010) accepted

Leber Testsystem – sicherere Medikamentenentwicklung



Leber Gewebe

- vital und funktionell länger als 4 Wochen
- Injektion der Substanzen über Arterie – Analyse der Metabolite in der Vene
- multiple Applikation eines Wirkstoffes möglich

Linke K. [Tissue Engineering](#) 2007; 13,

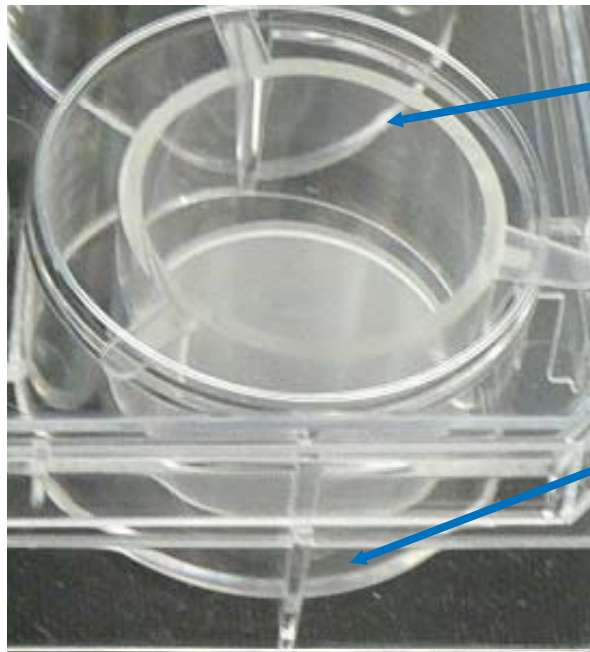
Schanz, [J Biotechnology](#) (2010) accepted

Universitätsklinikum Würzburg

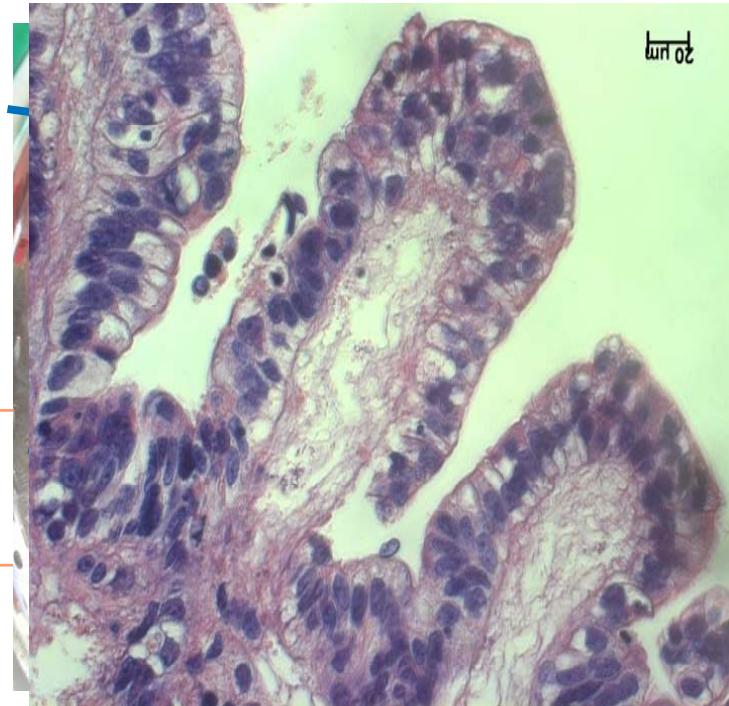
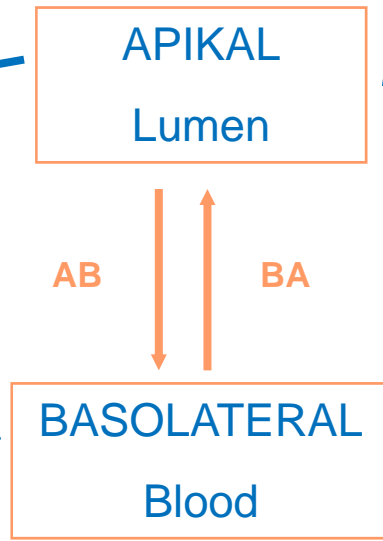


Darm Testsystem

Resorption von Wirkstoffen oder „Functional Food“



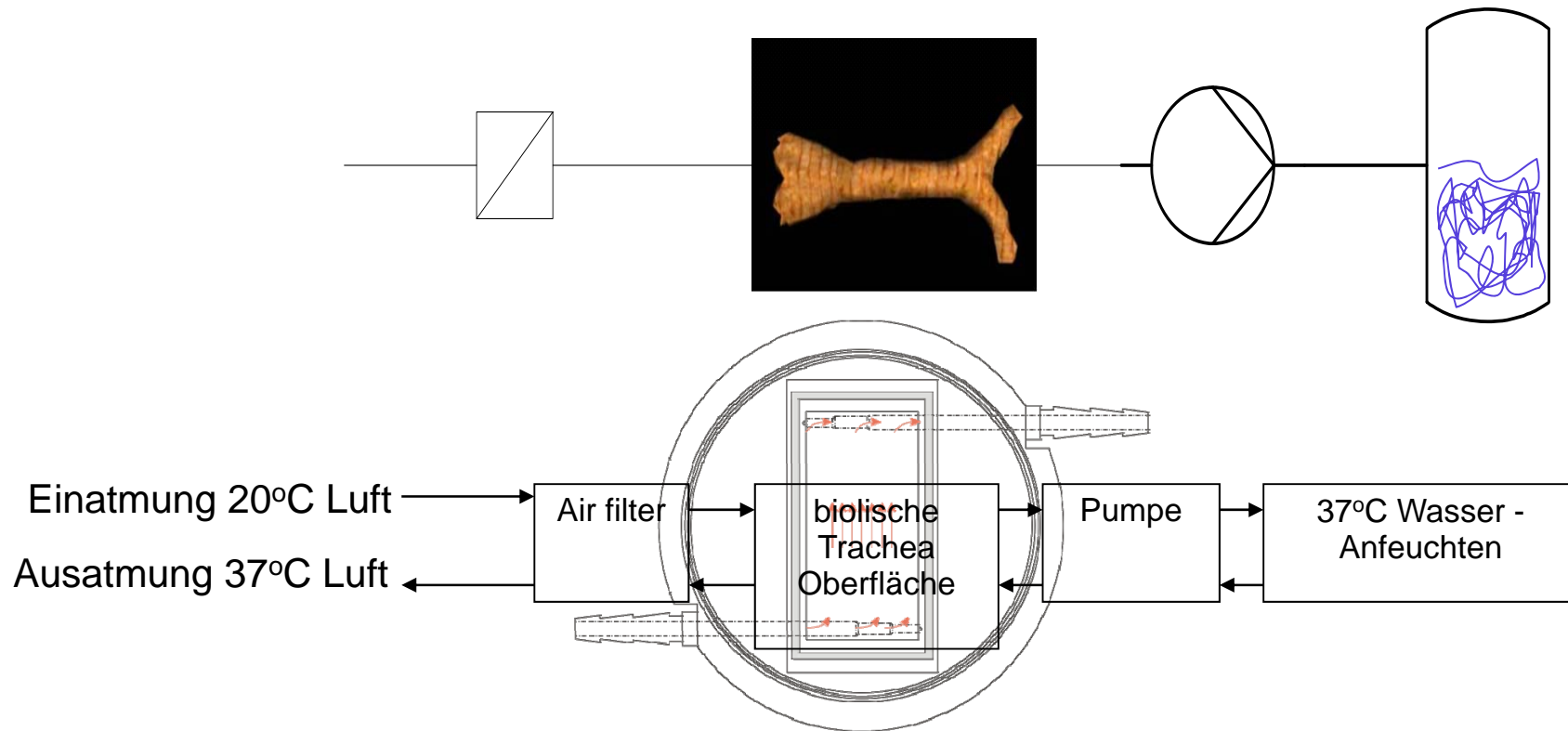
2D – Caco 2 Assay



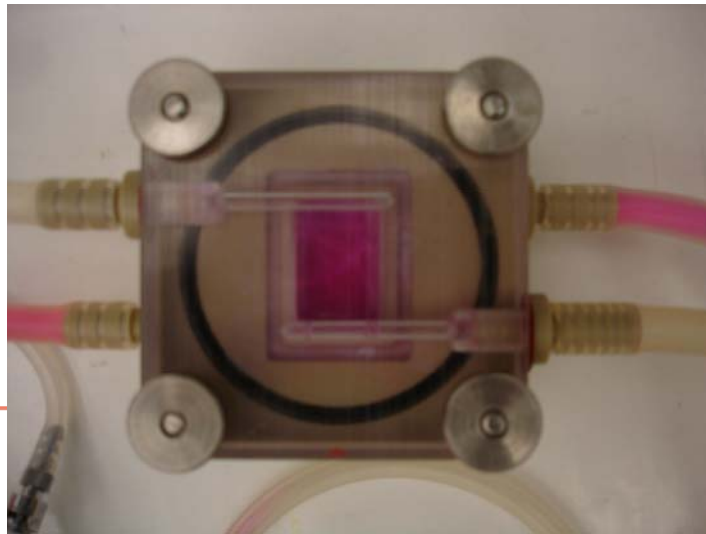
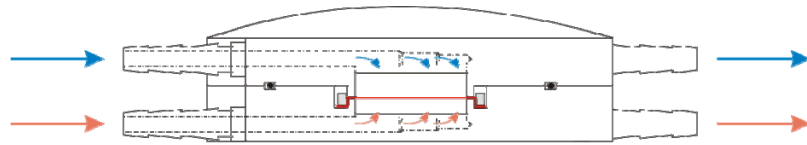
3 D Testsystem

Trachea Modell

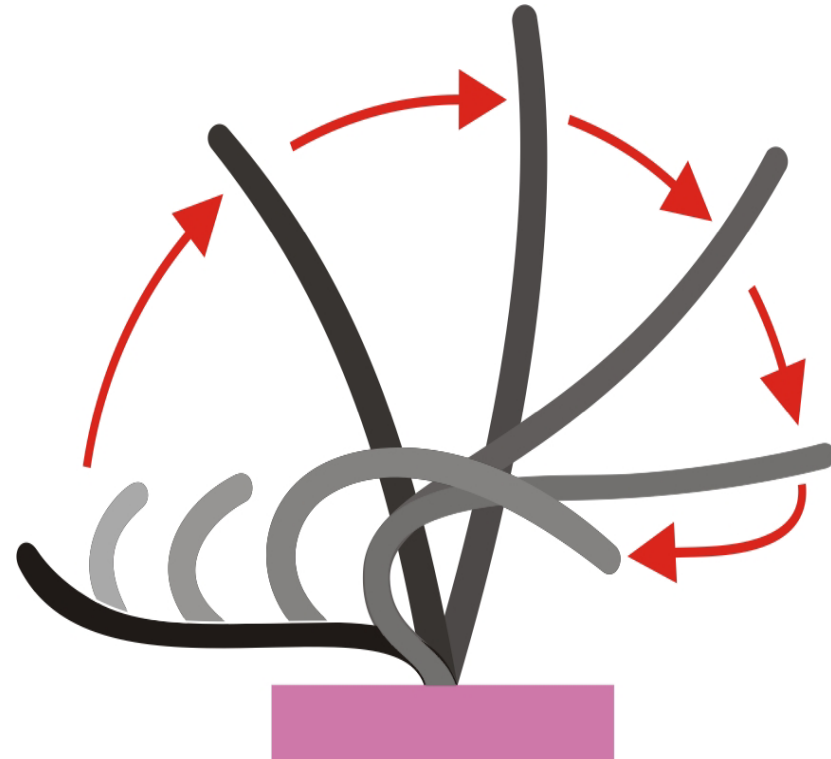
Simulation der Resorption von Medikamenten und Schadstoffen über die Atemwege



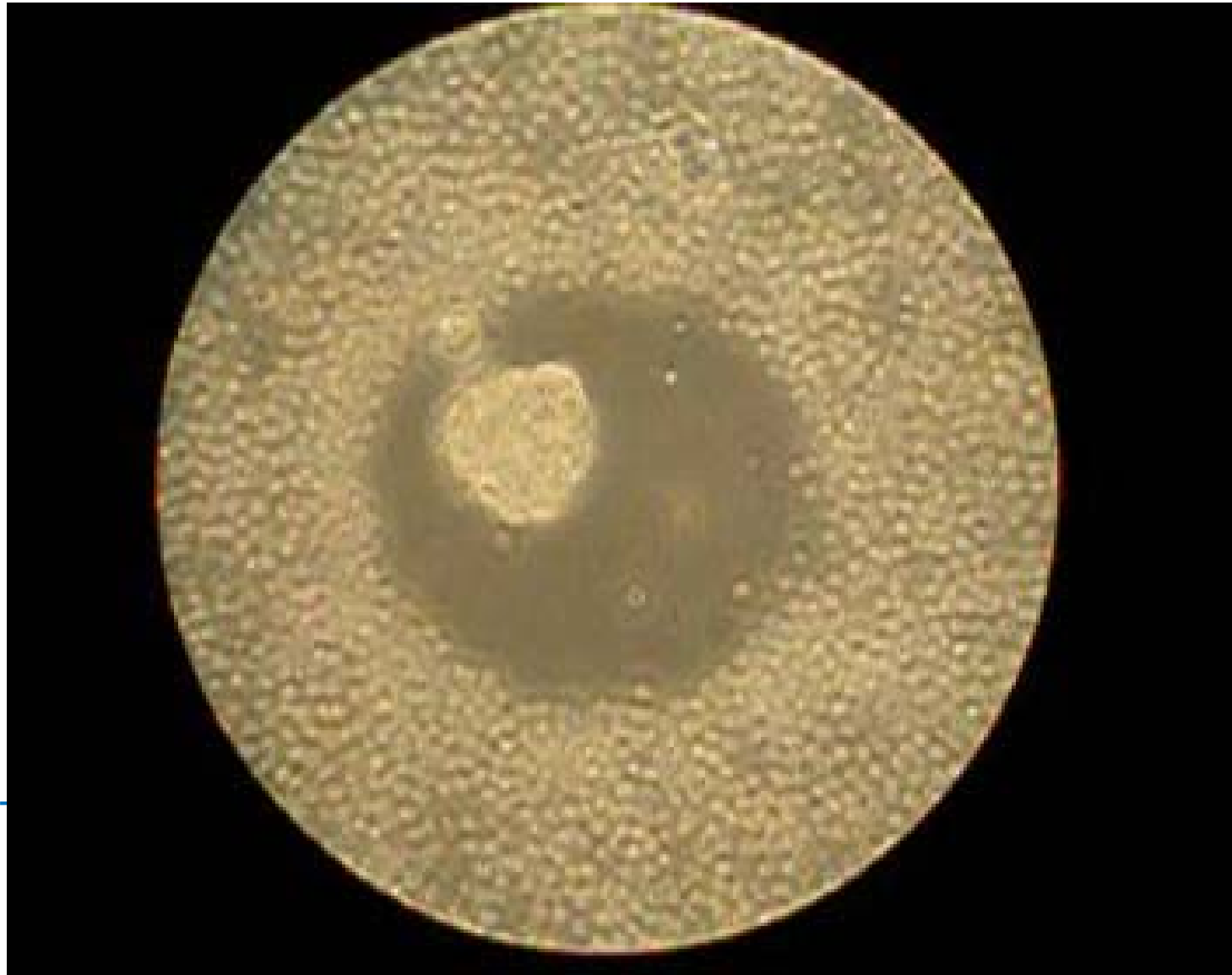
Trachea Modell - Risikobewertung von Nanomaterialien



Trachea-Bioreaktor



Trachea Modell - Risikobewertung von Nanomaterialien



gefördert von



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



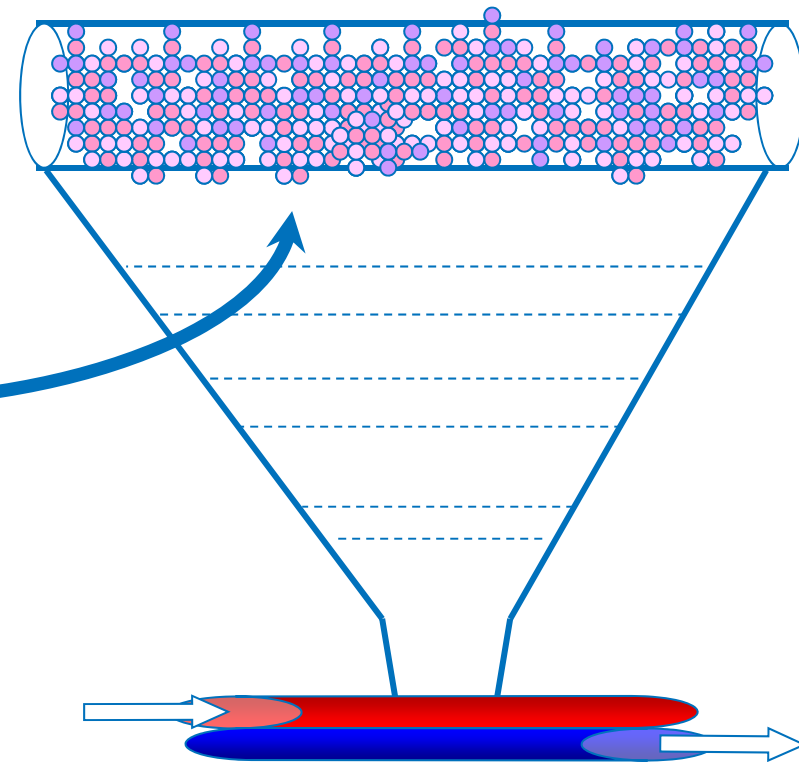
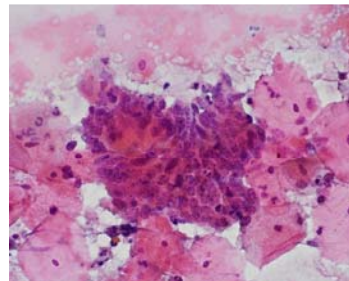
WING

Werkstoffinnovationen
für Industrie und Gesellschaft



Bayer MaterialScience

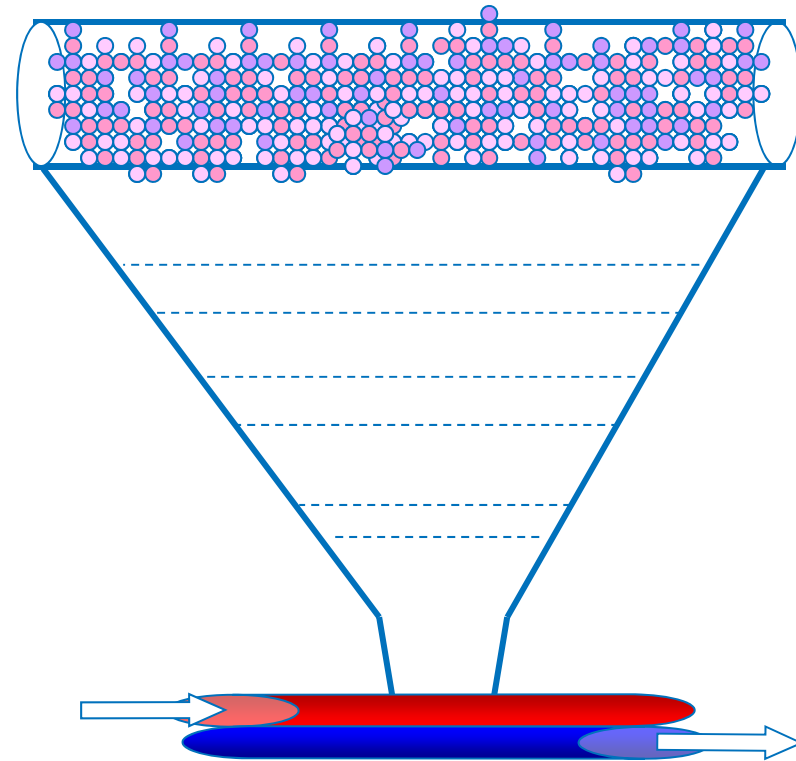
3D Tumor Modell mit Blutgefäßversorgung



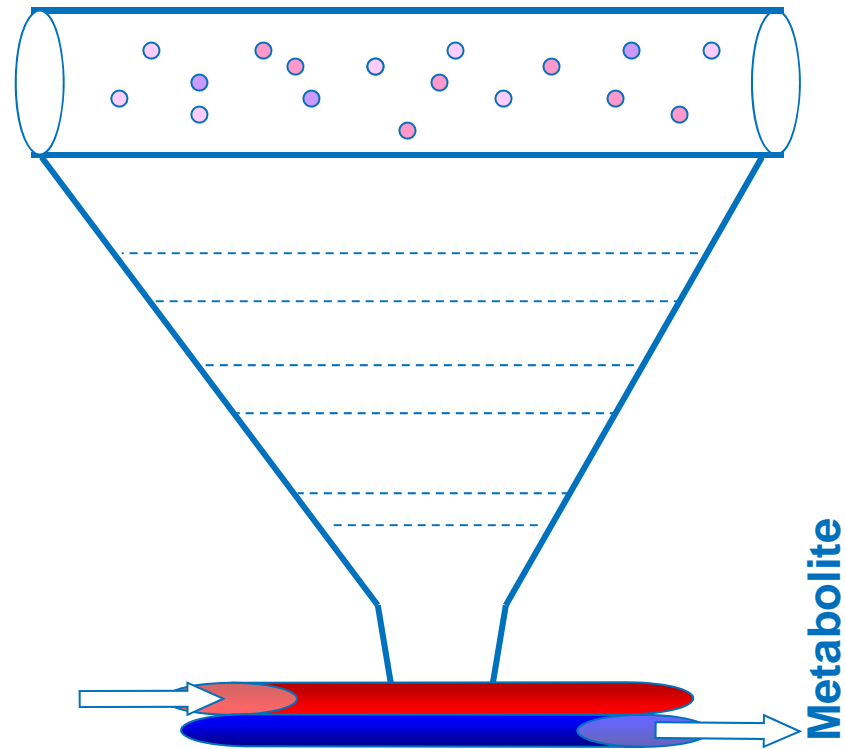
Medium – Blut

3D Tumor Modell mit Blutgefäßversorgung

Medium – Blut + Therapeutikum
e.g. Antikörper
Liposomen

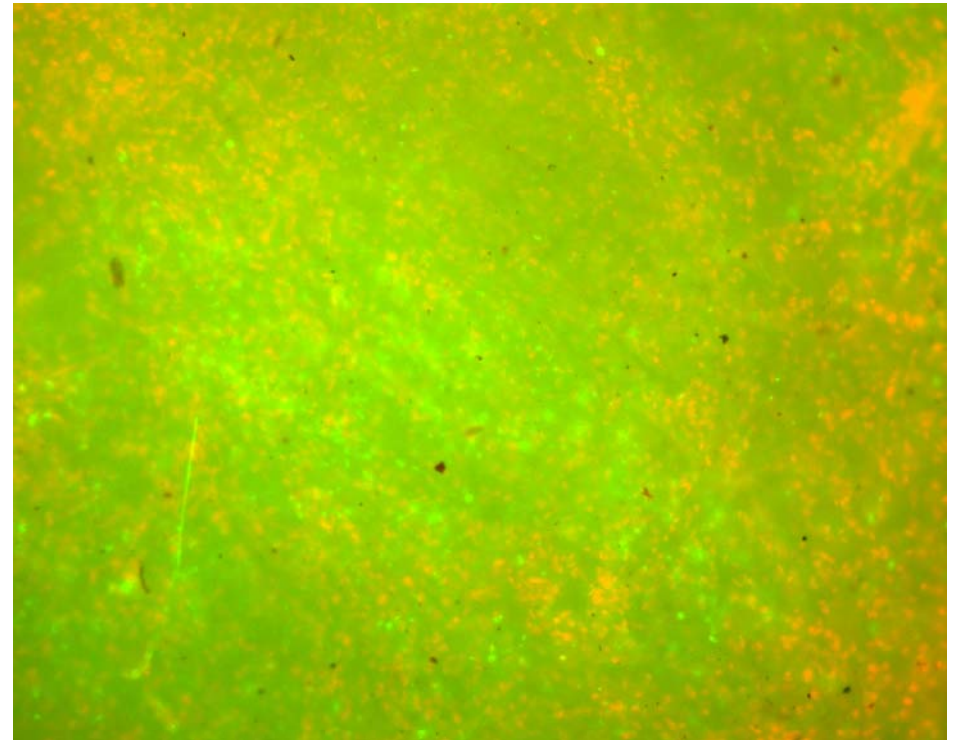
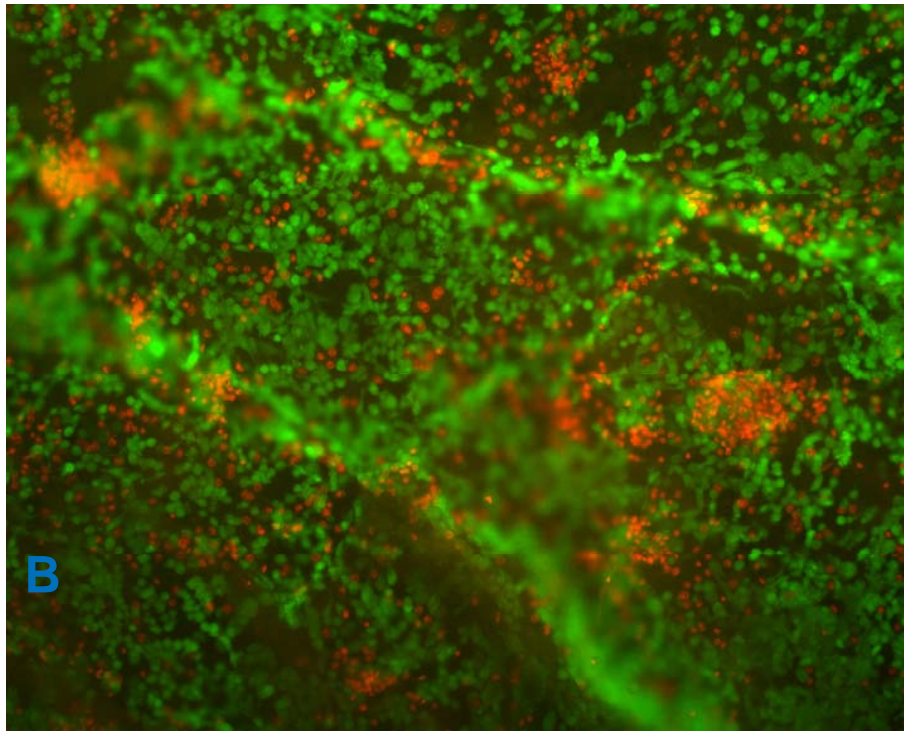


3D Tumor Modell mit Blutgefäßversorgung



3D Tumor Modell mit Blutgefäßversorgung

Life-Dead staining mit Fluoreszin-Diazetat + Propiumjodid

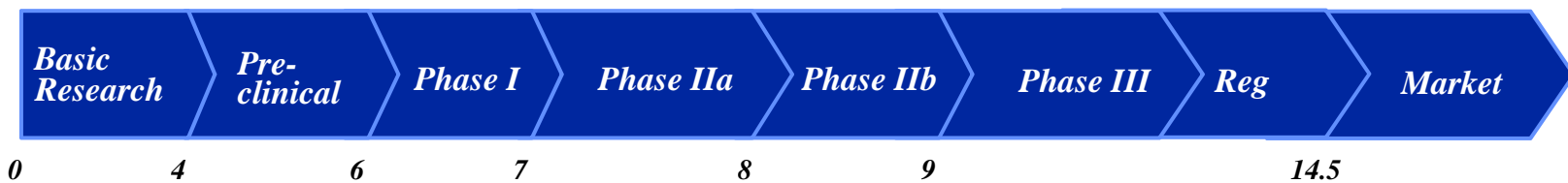


grün = vital rot = tot

Onkologie 2007; 30(7): 388
Hugo Geieger Preis 2007

Zusammenfassung Testsysteme

- Alternative zum Tierversuche
 - 3Rs (*Refine, Reduce, Replace*, aber Akkreditierung und Anerkennung durch die Behörden Zeit- und Kosten-intensiver Weg)
 - anerkannt und häufig eingesetzt: Haut und Cornea
 - REACH (**R**egistration, **E**valuation, **A**uthorisation and **R**estriction of **C**hemicals, also Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung von Chemikalien)
 - Entwicklung von Kosmetika –EU Richtlinie
- Sicherere Medikamentenentwicklung durch die Verwendung primärer humaner Zellen
 - Reduktion der Gefahr von unerwünschten Nebenwirkung in klinischen Studien (TGN 1412, 2006) – aber von Gesetzgeber vorgeschrieben für die Zulassung

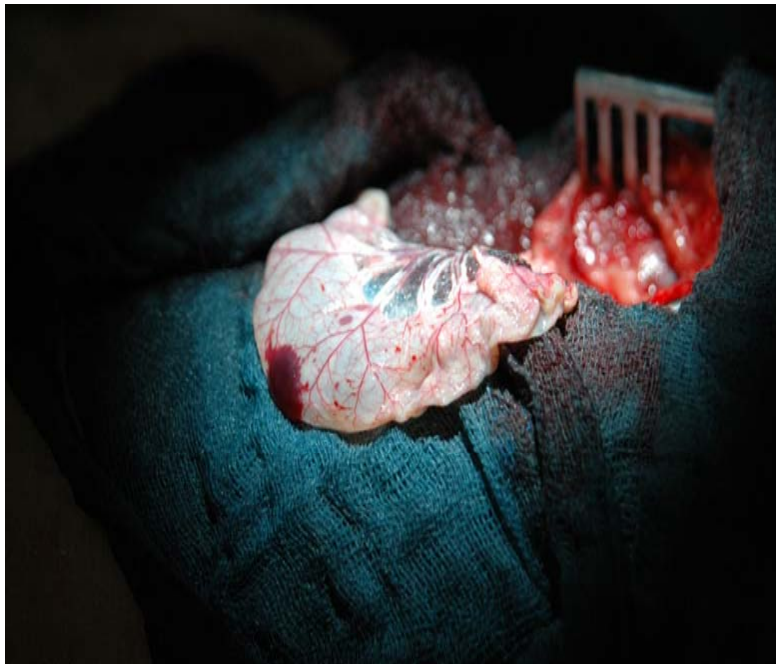


Vollautomatisierte Herstellung humaner Testsysteme

- Zellquelle
 - primäre Zellen – *Votum der Ethik Kommission, Aufklärung und Einwilligung der Patienten*
 - *iPS-Zellen (induziert pluripotente Stammzellen)*



Transplantate

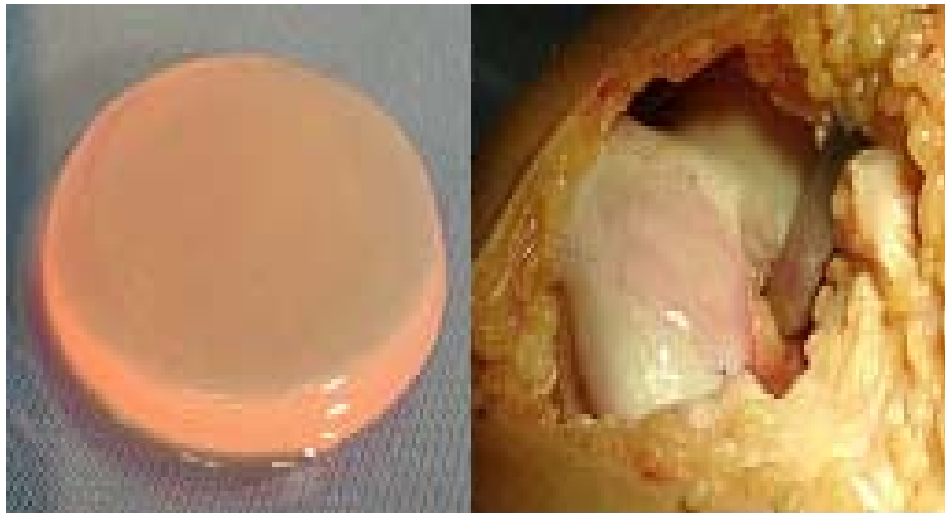


DERMAGRAFT®

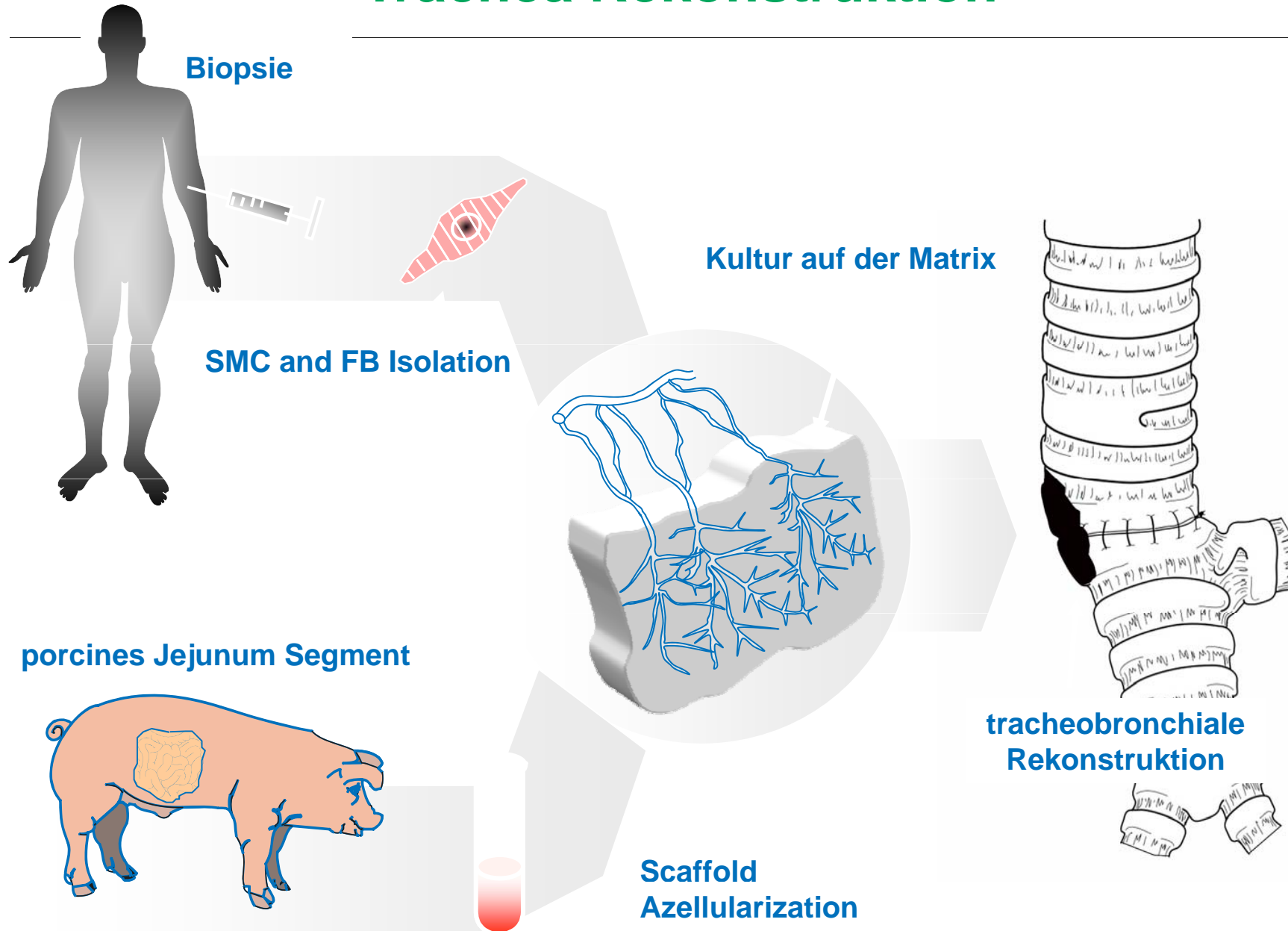


Knorpel

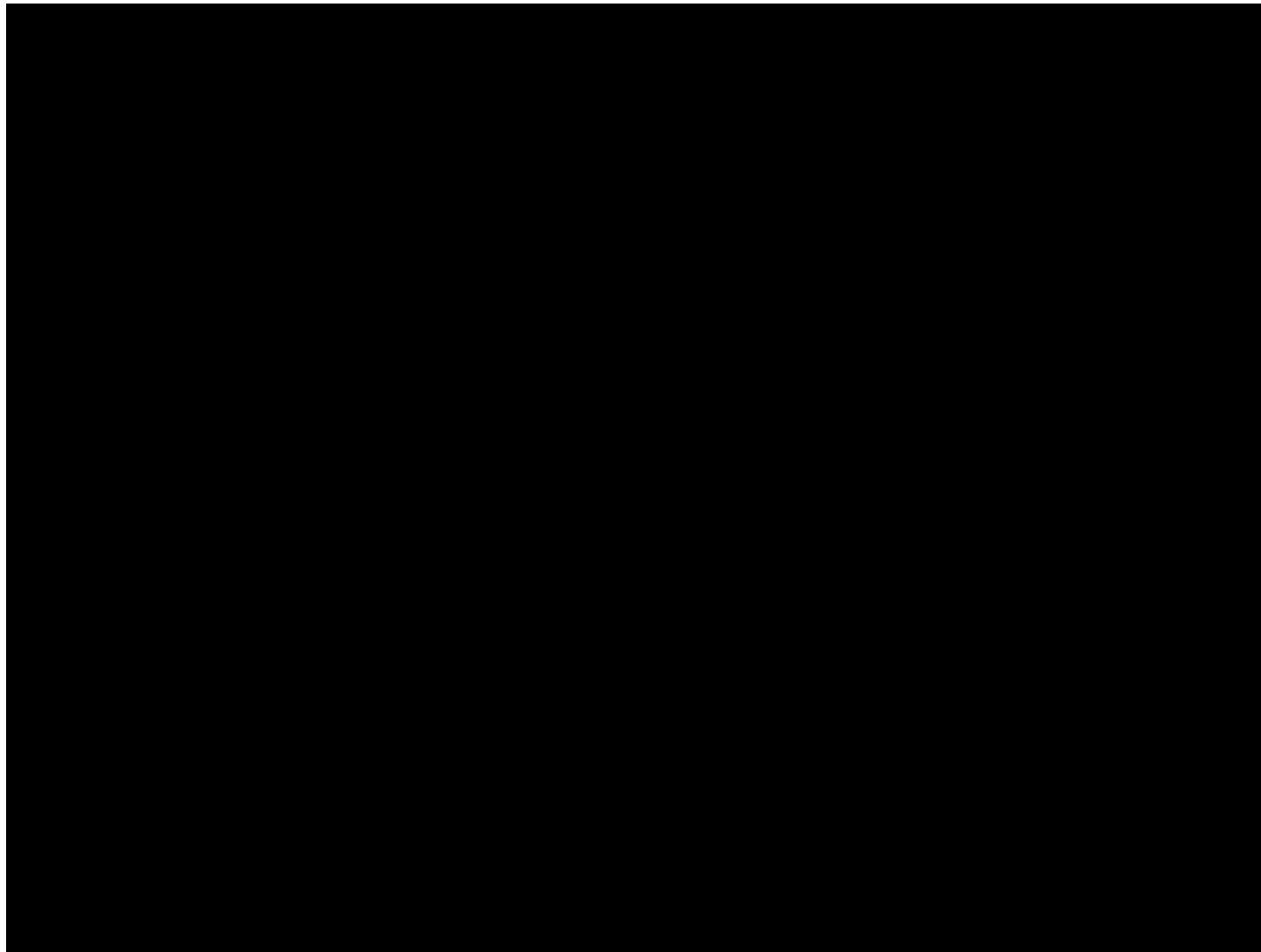
- autolog
- erstes Matrix basiertes Implantat das von den Krankenkassen erstattet wird
- alleine in Deutschland über 5000 Patienten
- Klinische Multi-Centerstudie in Vorbereitung (BMBF: Regenerative Technologien)



Trachea Rekonstruktion



BioVaSc *Proof of concept*

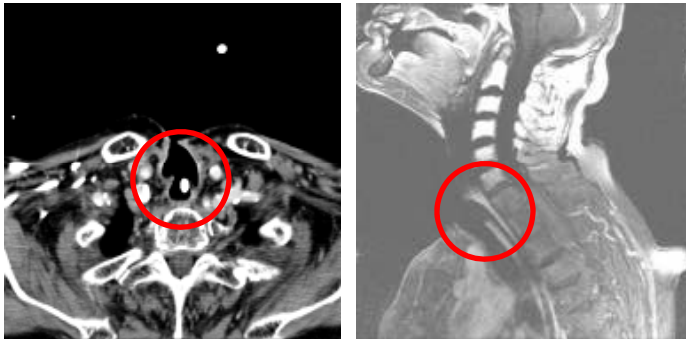


Walles, [Transplantation](#) 88 (2009) 203-10

(BMBF: Regenerative Technologien)

BioVaSc Klinischer Einsatz

Klinische Anwendung



Anwendung als „Second-line“ Verfahren

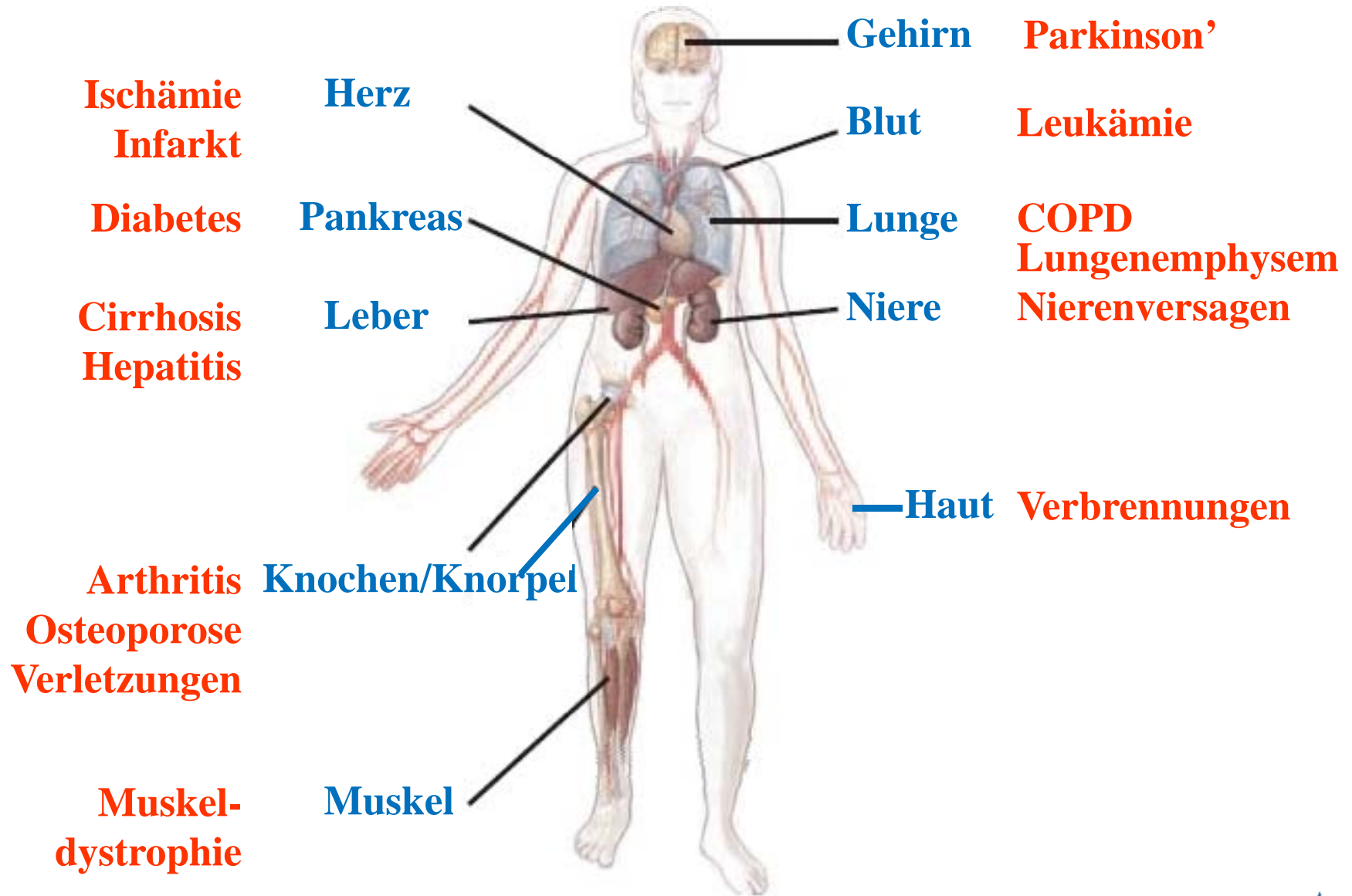
- Bronchusstumpfinsuffizienz
- Trachea-Hinterwandverletzungen
- tracheo-ösophageale Fisteln
- ...

Nr.	Geschlecht	Alter	Diagnose	Implantatdauer	Verlauf	Ergebnis
1	männlich	56	Bronchusstumpf-Insuffizienz rechts	16 Monate	o. Befund	sehr gut
2	männlich	63	Proof of concept (Arm)	1 Woche	o. Befund	sehr gut
3	männlich	63	cervicothorakale ösophagotracheale Fistel (6x2 cm)	3 Monate	Sternum- insuffizienz ARDS	Kurzen Zeit- raum volle Funkti- on
4	männlich	28	intrathorakale ösophago- tracheo-bronchiale Fistel (7x1 cm)	seit 27.04.2009	Larynx- stenose	sehr gut

Herausforderungen

- Reproduzierbarkeit
- geeignetes Antikoagulationsregime
- Immunogenität
- EU-weite Zulassung als ATMP
- Erstattungsfähigkeit
- weitere klinische Anwendungen (endokrines Pankreas)
- (Teil-) Automatisierung des Herstellungsprozesses

Regenerative Therapien - Anwendungen

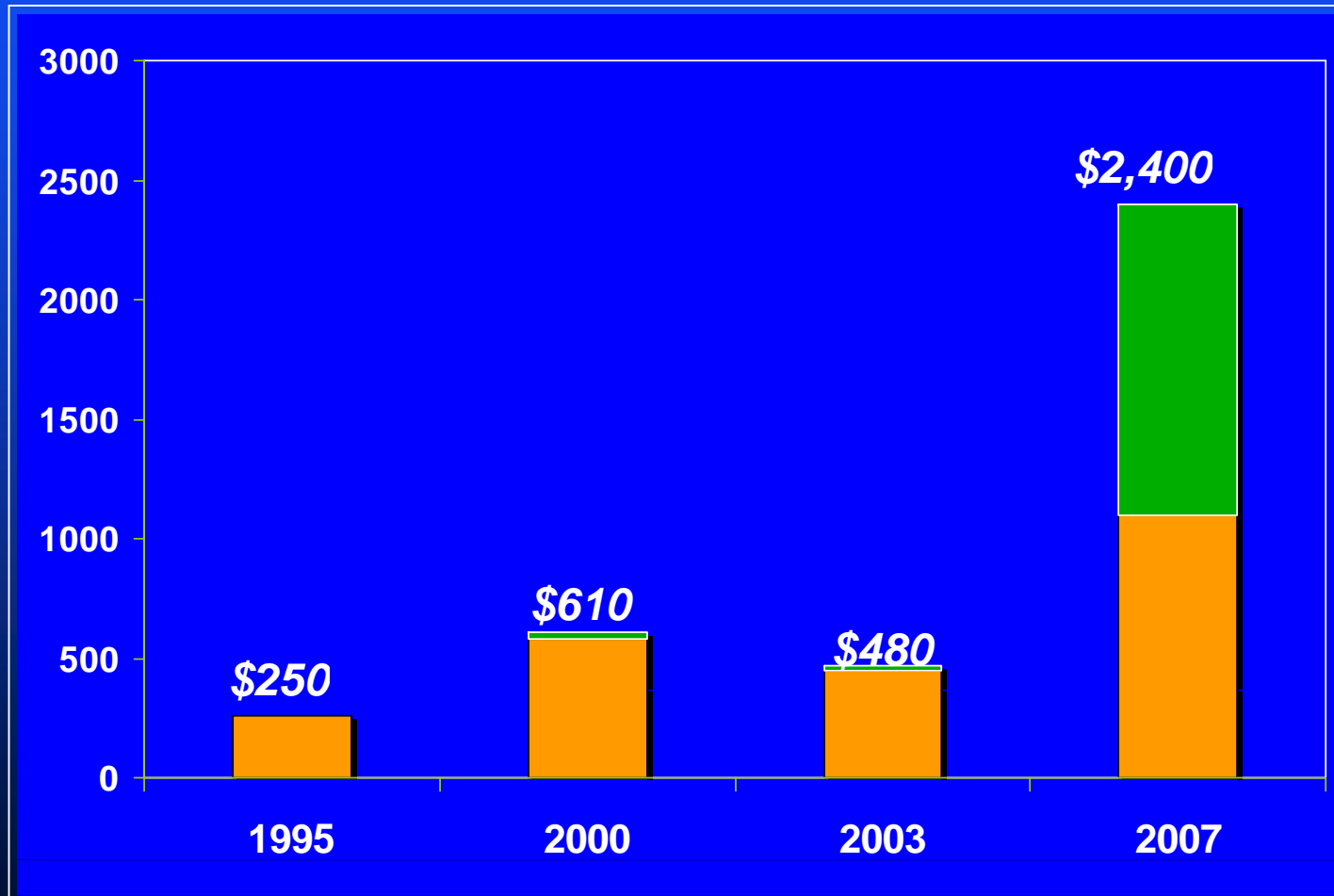


Die Höhen und Tiefen von Biotechnologie Firmen

- **1990s: The Go-Go Years**
- **2000-2005: The Sobering Years**
- **2005 and on: Back to the Future**

Regenerative Medizin : 1995- 2007

*In der Entwicklung
kommerziell*



Robert M. Nerem



Verkaufte Produkte (\$ Millionen)

Commercial Products	2007 Sales	Cumulative Patients
Bioactive Bone Grafts	\$700	170,000
Regenerative Biomaterials	\$240	750,000
Cord Stem Cells	\$270	**
LSE & Cartilage	\$90	250,000

Robert M. Nerem



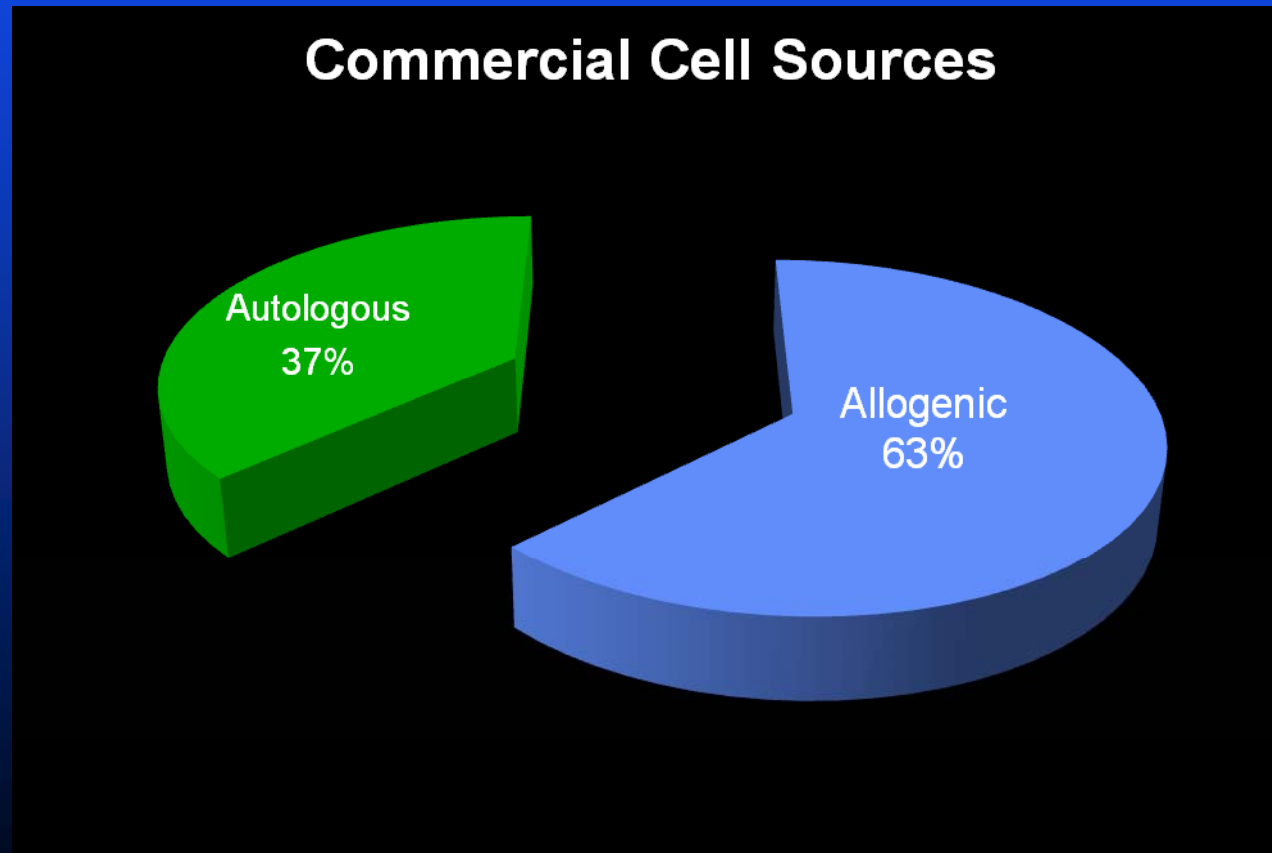
Entwicklung – Investment 2007

Interactive Biomaterials	\$84
Cells & Biomaterials	\$218
Stem Cells	\$507
Multiple/Other	\$55

About two thirds of this total pre commercial spending (\$864) is spent by companies with products (~50) in FDA-level clinical trials

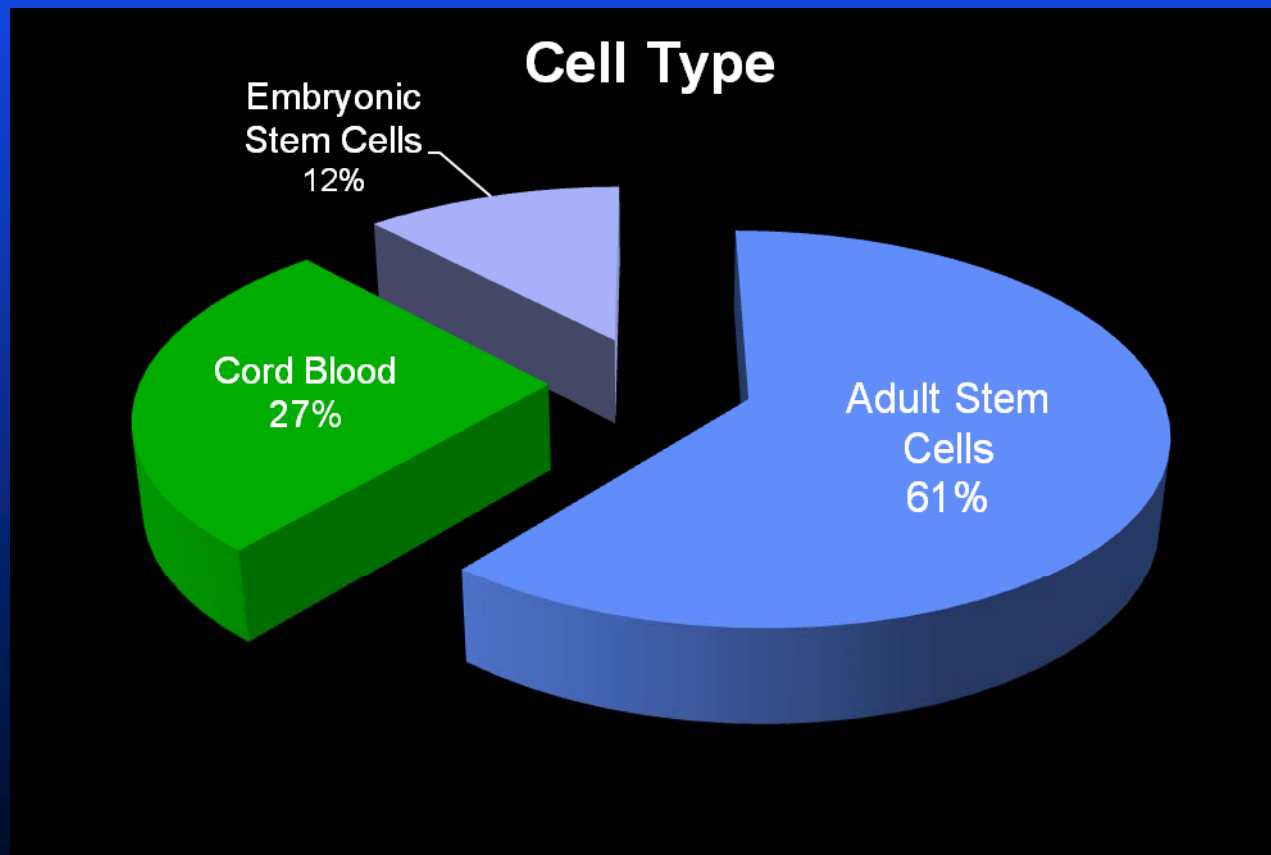
Zellquelle

- 63% der Firmen entwickeln allogene Produkte, nur 37 % autologe Transplantate

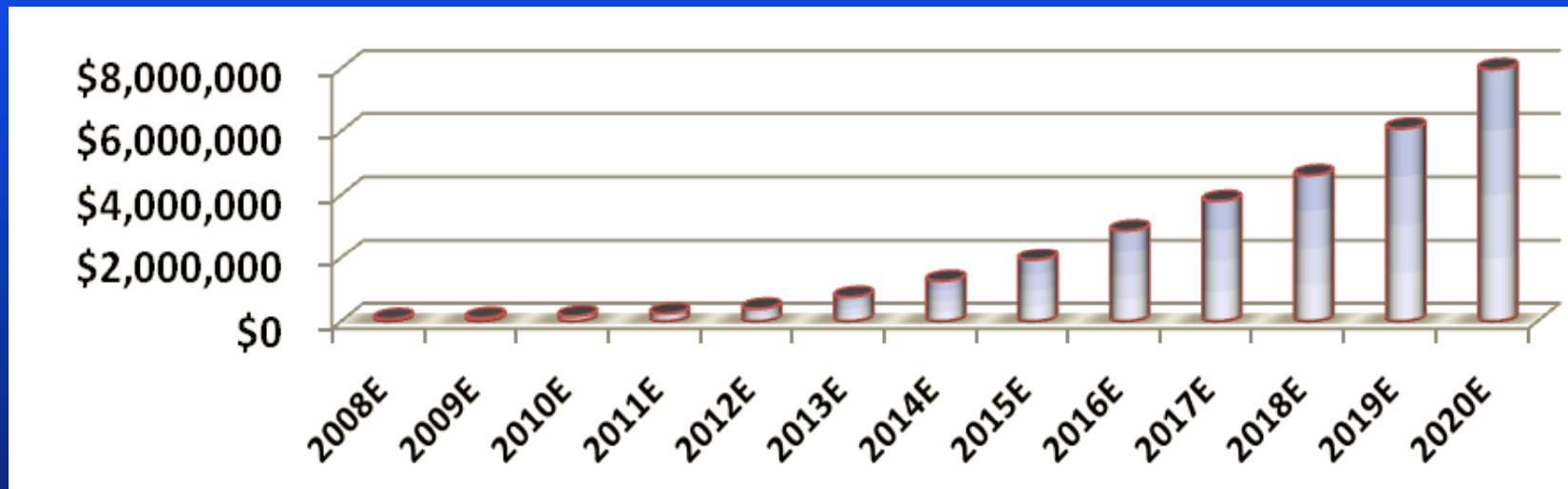


Stammzellen

61 % der Produkte sind adulte Stammzellen, 27 % Nabelschnurrblut und 12 % ES-Zell

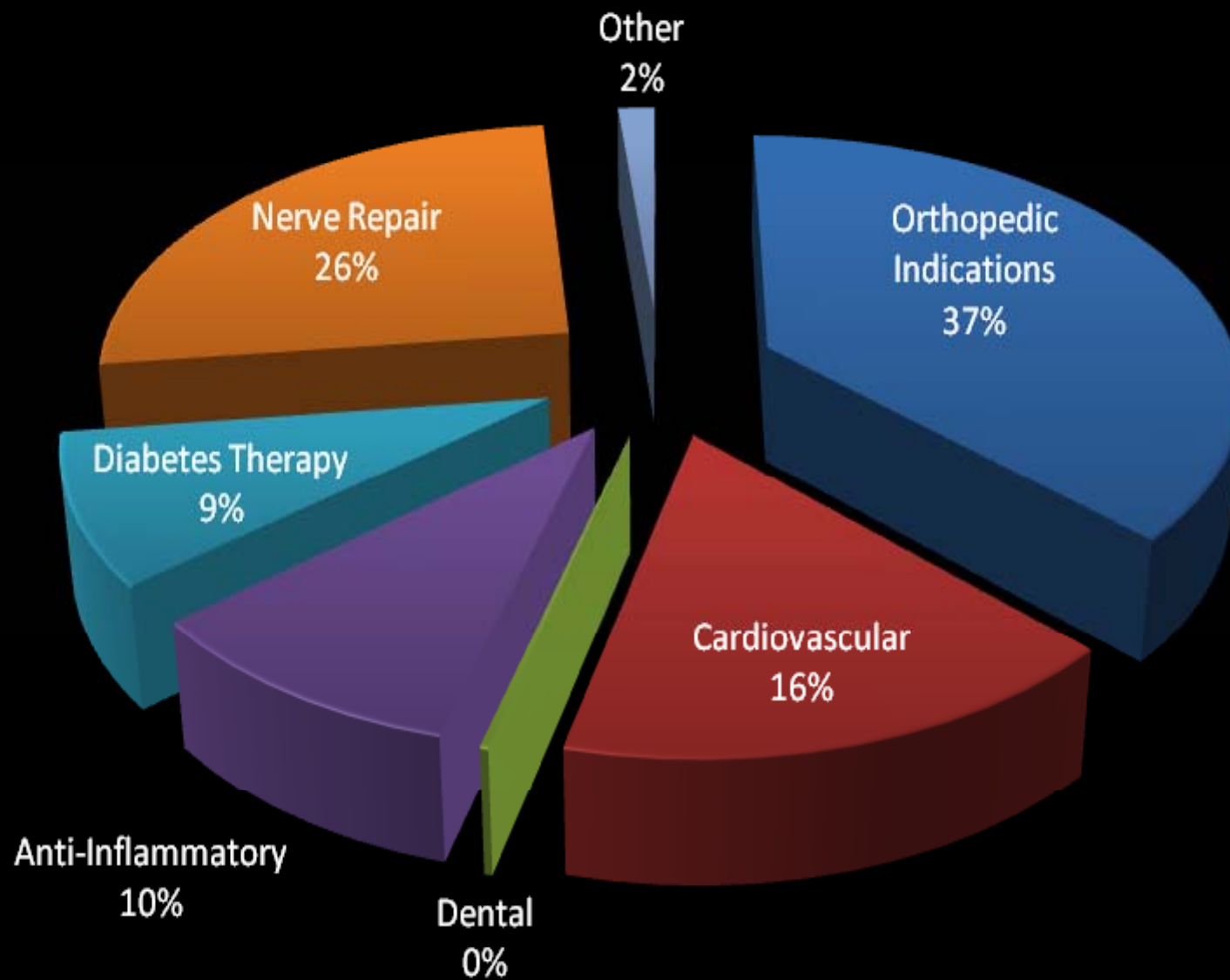


Erwarteter Stammzell Markt: jährlicher Gewinn



Source: Robin Young Consulting

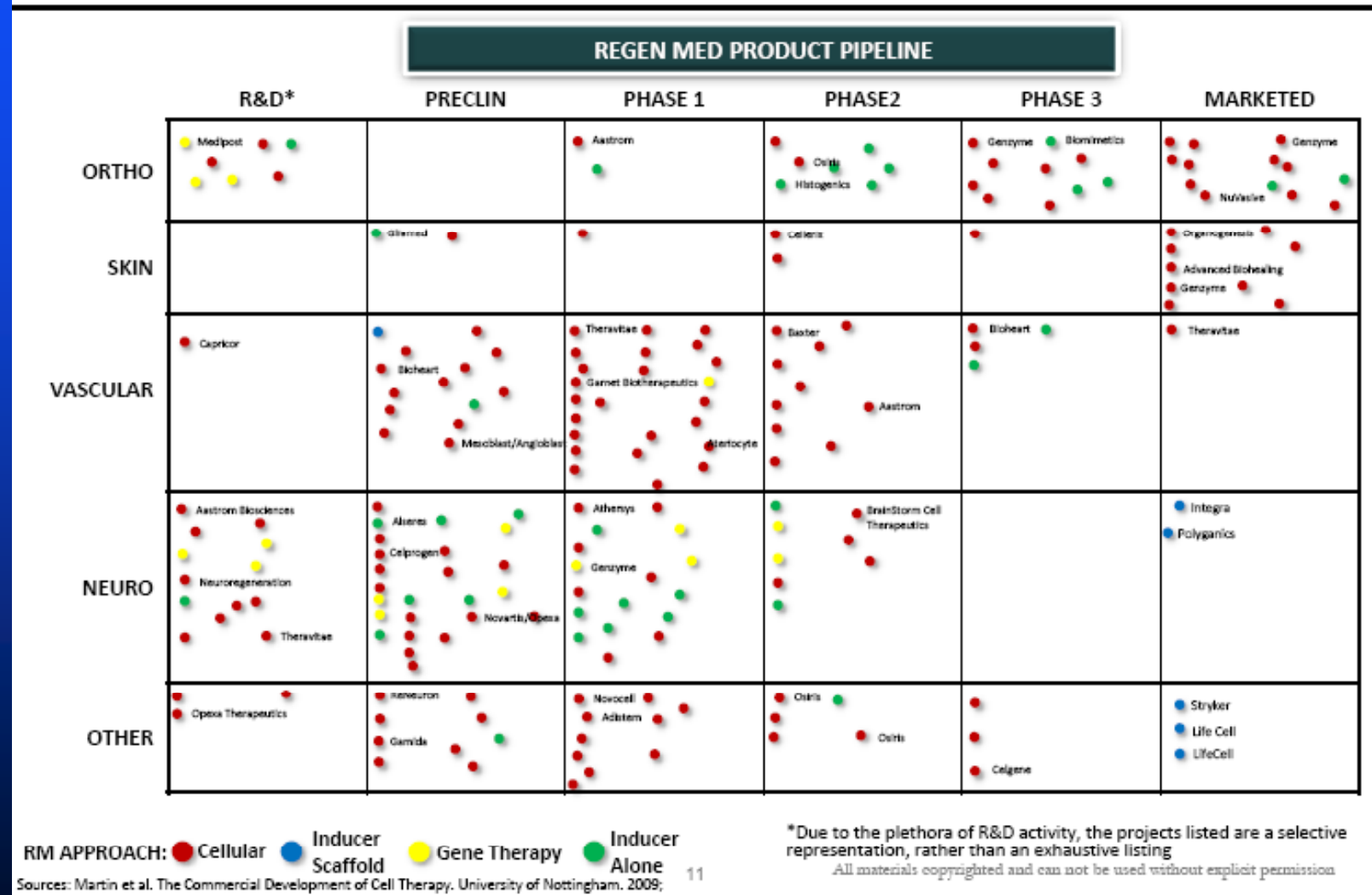
2020 \$8 Billion Stem Cell Market Share Forecast



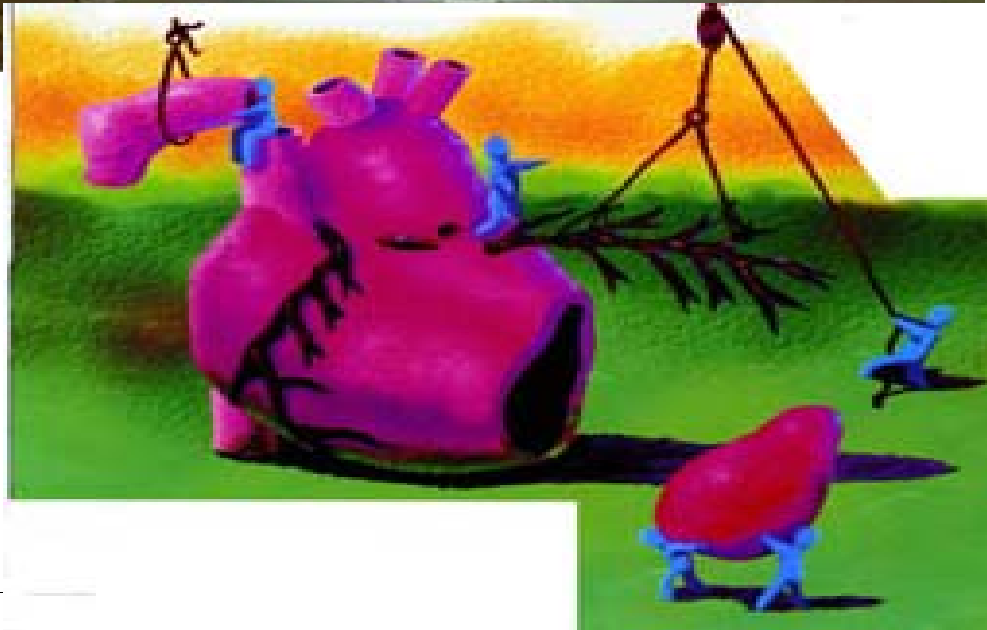
Source: Robin Young Consulting

Regenerative Medicine Development Pipeline

There is a significant amount of development activity in regenerative medicine, most of which is cell therapy based



Zusammenfassung Transplantate des Tissue Engineering und der Regenerativen Medizin



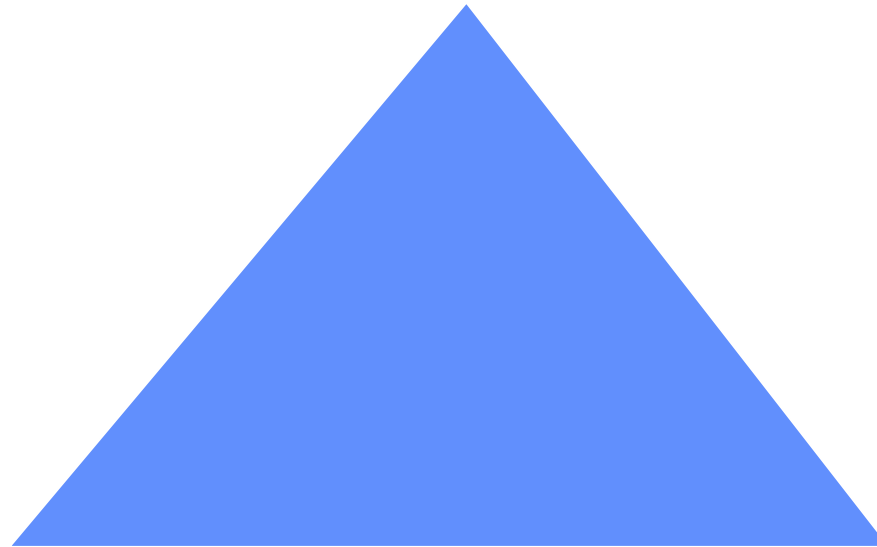
- Organismus
 - niemals
- Organe
 - ????
- Gewebe
 - ja

Paradigmenwechsel im TE&RegMed

Wichtigste biologische Komponente

Signale

**(Wachstumsfaktoren, Biomaterialien,
Bioreaktoren)**



Zellen

**(primäre Zellen (iPS), Stamm-
und Progenitorzellen)**

Scaffolds

(synthetisch und ECM)

Herausforderungen

- **Innervation und Vaskularization**
- **Scaffolds/ECM**
- **Immune-Akzeptanz**

mit ethischer Relevanz

- **Zellquelle /Differenzierung**
- **aussagekräftige präklinische Tiermodelle**
- **klinische Endpunkte für “safety/efficacy”**
- **Zulassung/Erstattung (F&E = Steuergelder)**
- **spezialisierte Ärzte**