

Natalie Hönig & Bonny Gaby Lui

Sie verstecken sich schlafend in den Blutbahnen betroffener Menschen, immer dazu bereit, die Krankheit erneut auszulösen und den Menschen damit weiter zu schädigen, seine Organe anzugreifen und sich nach Herzenslust zu vermehren. Aber zunächst ist es ihre Hauptaufgabe, unbemerkt zu bleiben und sich ganz unauffällig im Körper zu verbreiten. Und dann, wenn es niemand erwartet, tauchen sie auf und könnten erneut einen tödlichen Angriff starten...

Aber um wen handelt es sich dabei, wer plant diesen geheimen Angriff auf den menschlichen Körper? Gemeint sind sogenannte zirkulierende Tumorzellen (O'Flaherty et al., 2012), die sich aus vom Krebs befallenem Gewebe abseilen und unter vielen anderen Zellen im Blut tarnen. Auf eine solche Zelle kommen etwa eine Millionen gesunde Zellen. Dadurch sind sie für die Medizin nur schwer aufzuspüren. Wenn man sie einfangen und untersuchen könnte, würde das einen großen Durchbruch im Kampf gegen die zirkulierenden Tumorzellen und ihren Ursprung, das vom Krebs betroffene Gewebe, bringen.

Krebs ist eine der häufigsten Todesursachen der Menschheit, in Deutschland sterben jährlich etwa 210.000 Menschen daran (Die Welt, 2013). Die Krankheit entsteht, wenn sich körpereigene Zellen so verändern, dass sie unkontrolliert wachsen. Dieses Wachstum stört die Funktion des umgebenden Gewebes, führt bei großem Ausmaß zu Organversagen und hat häufig letztendlich den Tod zur Folge. Die Entstehung von Tumorzellen kann unter Anderem erblich bedingt sein oder durch Umwelteinflüsse hervorgerufen werden.

Das Hauptproblem bei der Behandlung von Krebs ist, dass nach dem Entfernen des betroffenen Gewebes noch im Blut zirkulierende Tumorzellen vorhanden bleiben. Durch die Blutbahn erhalten die Zellen die Möglichkeit, sich an beliebiger Stelle im Körper anzusiedeln und neue Tumorbildung hervorzurufen. Dieses Phänomen führt einige Zeit nach der Therapie häufig zum erneuten Ausbruch der Krankheit. Aus diesem Grund versucht man durch innovative Therapieansätzen den Kampf gegen den Krebs direkt am Ursprung, den zirkulierenden Tumorzellen, anzugehen. Nanopartikel, die millionenmal kleiner sind als eine 1 Cent-Münze, stellen dabei einen vielversprechenden Ansatz dar (Riehemann et al., 2009). Besonderes Interesse liegt auf sogenannten Hybrid-Nanopartikeln, die mehrere Funktionen gleichzeitig ausüben können.

Klein aber oho –Nanopartikel auf dem Siegeszug

Was macht diese Nanopartikel so einzigartig, warum hört man neuerdings im Alltag so häufig davon? Das Besondere an ihnen ist ihre Größe, die Silbe „Nano-“ steht für eine Größenordnung von 10^{-9} . Allerdings variiert die Größe von als Nanopartikel bezeichneten Strukturen zwischen wenigen und mehreren 100 nm. Praktisch bedeutet das für den Einsatz in der Medizin, dass kleine Nanopartikel im Gegensatz zu großen Nanopartikeln eine sehr viel höhere Chance haben, die Barriere zwischen Körperzellen und ihrer Umgebung, die Zellwand, zu durchdringen. In der Medizin werden Nanopartikel zum Beispiel als Transporter verwendet. Ihre Oberfläche kann mit Eiweißen, kleinen

organischen Molekülen, Zuckerverbindungen oder Nukleinsäuren beladen werden. Vielversprechend sind vor allem Partikel mit mehreren Funktionalisierungen. Diese Hybrid-Nanopartikel kombinieren strukturell und funktional Oberflächenstrukturen miteinander. So kann zum Beispiel ein Wirkstoff selbst über einen Nanopartikel mit einer Klebefunktion verbunden werden, durch welche der Wirkstoff nur an bestimmten Oberflächen im Körper haftet und auch nur dort wirken kann. Gezielte Medikation ist gerade in der Tumorforschung wichtig, da durch die bisher eingesetzten Wirkstoffe auch gesundes Gewebe bekämpft wird und es in der Folge zu starken Nebenwirkungen kommt. Der Einsatz von Klebemolekülen, die nur an Tumorzellen anhaften, könnte diese Nebenwirkungen verhindern und die Therapie dadurch deutlich verbessern.

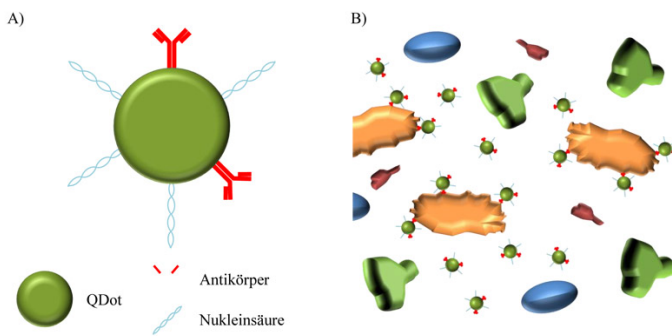


Abbildung 1: Hybrid-Nanopartikel zur Detektion von im Blut zirkulierenden Tumorzellen.

A) Schematischer Aufbau der Nanopartikel.
 B) Anheftung der Nanopartikel an Tumorzellen (orange), gesunde Körperzellen (blau, grün, violett) werden nicht gebunden.
 (Verändert nach Lee et al., 2013).

In der Diagnostik ist der Einsatz von Nanopartikeln zur Detektion von Tumorzellen im frühen Stadium der Krankheit interessant. Bisher erfolgt die Auffindung von Tumoren durch bildgebende Verfahren, die allerdings erst im späten Stadium der Krankheit erfolgreich sind. Nanotechnologien könnten eine deutlich frühere Diagnose ermöglichen, wodurch sich die Heilungschancen stark verbessern. Bereits bei Ausbruch von Tumorerkrankungen lösen sich einzelne bösartige Zellen aus dem kranken Gewebe und werden in die Blutbahn und das umliegende Gewebe abgegeben. Auffinden von geringen Konzentrationen an Tumorzellen im Blut und Analyse dieser Zellen würden eine frühe Diagnose ermöglichen. In diesem Forschungsgebiet der Onkologie sind gerade Hybrid-Nanopartikel von besonderer Bedeutung.

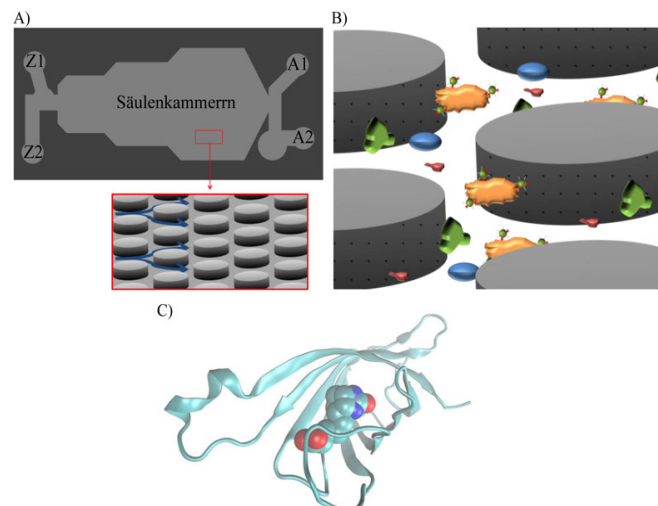


Abbildung 2: A) Schematischer Chipaufbau. Z = Zulauf, A = Ablauf. Z1: Insertion der Blutprobe, Z2: Spüllösung, A1: Hauptablauf, A2: Abfuhr regenerierter Zellen.
 B) Säulen mit Avidin-Proteinen.
 C) Struktur von Avidin (hellblaues Bändermodell) mit gebundenem Biotin (Kalottenmodell). Verändert nach (Pugliese, Coda, Malcovati, & Bolognesi, 1993).

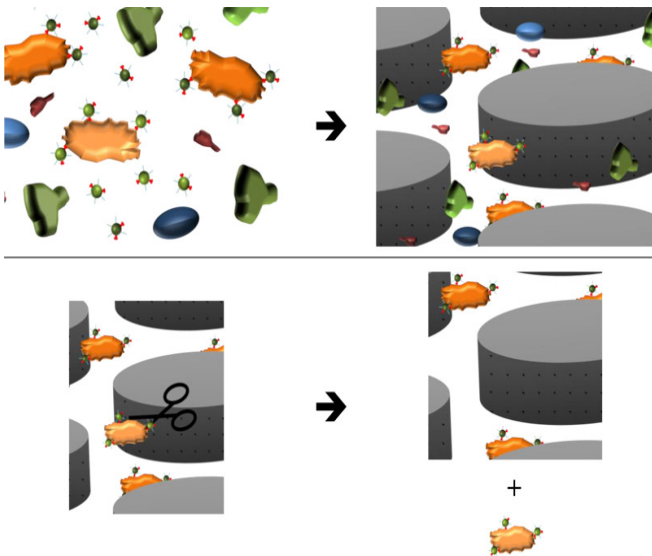
Hybrid-Technik

Einen solchen vielversprechenden Hybrid-Nanopartikel hat eine Gruppe von Forschern aus Korea um Lee, H. J. 2013 entwickelt. Ihr Ziel war es, die ins Blut ausgewanderten Tumorzellen durch Einsatz von Nanopartikeln zu detektieren und aus dem Blut zu isolieren, um sie im Labor genauer untersuchen zu können. Diese Nanopartikel sind in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

Das Grundgerüst der Nanopartikel besteht aus Quantum Dots (QDots, etwa 4 bis 5 nm groß), siehe Abbildung 1, welche aus Halbleitermaterial bestehen und nach Anregung Licht spezieller Wellenlängen aussenden. Somit können die Nanopartikel

nachgewiesen und verfolgt werden. An der Oberfläche der QDots befinden sich unter anderem Antikörper, welche spezifisch an Eiweißstrukturen auf Tumorzellen binden und damit eine Abgrenzung zu gesunden Körperzellen ermöglichen. Daneben besitzen die

entwickelten Nanopartikel kurze Nukleinsäuresequenzabschnitte definierter Länge an ihrer Oberfläche. Sogenannte Restriktionsenzyme erkennen bestimmte Nukleinsäuresequenzen und schneiden diese. Der Nutzen dieser Schnittstellen wird später genauer erläutert.



Zusammenfassend sind die Nanopartikel dazu in der Lage, spezifisch Tumorzellen unter gesunden Körperzellen zu erkennen und zu binden. Daneben können die Partikel detektiert werden, und sie besitzen Nukleinsäuren an ihrer Oberfläche.

Nanopartikel in Kombination mit Chip-Technologie

Neben den Partikeln haben die Forscher eine weitere Komponente, einen Siliziumchip, entwickelt

Dieser Chip besteht aus Kammern, die mit einer Flüssigkeit durchspült werden können. Im Inneren der Kammern wurden durch Ausfräsungen viele neben- und hintereinander angeordnete Säulen gebildet, an deren Oberfläche sogenannte Avidin-Proteine hängen. Avidin bindet extrem stark Biotin (Abbildung 2). Auf den Nanopartikeln ist am Ende der DNA-Moleküle ein Biotin chemisch konjugiert. Daher kann der Nanopartikel über die Biotin-gekoppelten Nukleinsäuren eingefangen und festgehalten werden (Abbildung 2).

Abbildung 3: Nanopartikel und Chiptechnologie zur Detektion von Tumorzellen im Blut. Schematische Darstellung nach (Lee et al., 2013). Oben links: Inkubation der Blutzellen (orange, blau, grün, violett) mit Nanopartikeln (hellgrün). Oben rechts: Anheftung von Tumorzellen an die Säulen (grau) des Chips. Unten links: Selektives Ablösen der Zellen mithilfe eines Restriktionsenzym (Schere). Unten rechts: Säule mit weiterhin haftenden Tumorzellen (dunkles orange) und die erhaltene Tumorzelle (helles orange).

Diese Technik soll eingesetzt werden, um aus Blutproben, die eine riesige Anzahl an gesunden Blutzellen und eine sehr geringe Anzahl an Tumorzellen enthalten, erkrankte Zellen herauszufiltern. Eine Blutprobe wird dazu zunächst mit den Nanopartikeln behandelt und anschließend durch die Säulenkammer des Chips geleitet, wo Tumorzellen über den Nanopartikel an der Säulenoberfläche kleben bleiben (Abbildung 3).

Im Anschluss wird die Kammer gewaschen, um nicht an die Säulen gebundenes Material zu entfernen. Um die gebundenen Zellen in die Hand zu bekommen, werden nun in das Fluidiksystem des Chips Restriktionsenzyme zugesetzt, die die am Nanopartikel aufgetragenen Nukleinsäuren schneiden und die Zellen damit ablösen, so dass diese wiedergewonnen werden können. Wenn man Nanopartikel mit unterschiedlichen Nukleinsäuresequenzen in Kombination mit unterschiedlichen Antikörpern einsetzt, kann man nach Bindung der Zellen an den Chip je nach Wahl des Restriktionsenzym und Antikörpers selektiv gebundene Zellen ablösen und die Zellen noch genauer je nach Bindefähigkeit an den Nanopartikel-gebundenen Antikörper unterteilen und typisieren. Die vom Chip wiedergewonnenen Zellen sind im Labor kultivierbar und können für diagnostische Tests genutzt werden. Mit ihnen kann das Wachstum und die Herkunft des Tumors genauer charakterisiert werden. Daneben kann die Wirkung von Medikamenten an den Zellen getestet werden, was ebenfalls einen Fortschritt in der patientenbezogenen Medizin bringen kann, in der Medikamente speziell auf die Bedürfnisse des Einzelnen angepasst sind.

Zusammenfassung

Nanotechnologie spielt auch in der medizinischen Forschung eine zunehmend wichtige Rolle. Durch den Einsatz von maßgeschneiderten Nanopartikeln eröffnen sich viele Möglichkeiten sowohl im diagnostischen als auch therapeutischen Einsatz. Die Arbeitsgruppe um Lee hat kürzlich eine Kombination von Chiptechnologie und Nanopartikeleinsatz zur Entfernung von zirkulierenden Tumorzellen aus dem Blut vorgeschlagen. Eine Validierung durch klinische Erprobung steht allerdings noch aus.

Kontakt:	Schlauer Fuchs
 <p>Der Artikel wurde im Rahmen des Studienprojektes HighChem des Fachbereichs Chemie der Technischen Universität Darmstadt verfasst (s. Woche 2).</p> <p>Die Autorinnen, Natalie Hönig und Gaby Lui, sind Studierende im Masterstudiengang Technische Chemie an der TU Darmstadt</p> <p>(E-Mail: nataliehoenig@aol.com und b_gaby@hotmail.de).</p>  <p>Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Harald Kolmar (E-Mail: kolmar@biochemie-tud.de).</p>	<p>Unsere Schlaue-Fuchs-Frage zu diesem Beitrag lautete:</p> <p>Warum sind die zirkulierenden Tumorzellen für die Medizin nur schwer aufzuspüren?</p>
Literatur:	
<p>[1] Die Welt, Online-Ausgabe vom 04.02.2013: Jeder vierte Deutsche stirbt an Krebs (http://www.welt.de/gesundheit/krankheiten-a-z/article113359927/Jeder-vierte-Deutsche-stirbt-an-Krebs.html)</p> <p>[2] Lee, H. J., Cho, H. Y., Oh, J. H., Namkoong, K., Lee, J. G., Park, J. M., . . . Choi, J. W. (2013). Simultaneous capture and in situ analysis of circulating tumor cells using multiple hybrid nanoparticles. <i>Biosens Bioelectron</i>, 47, 508-514. doi: 10.1016/j.bios.2013.03.040</p> <p>[3] O'Flaherty, J. D., Gray, S., Richard, D., Fennell, D., O'Leary, J. J., Blackhall, F. H., & O'Byrne, K. J. (2012). Circulating tumour cells, their role in metastasis and their clinical utility in lung cancer. <i>Lung Cancer</i>, 76(1), 19-25. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.10.018</p> <p>[4] Pugliese, L., Coda, A., Malcovati, M., & Bolognesi, M. (1993). Three-dimensional structure of the tetragonal crystal form of egg-white avidin in its functional complex with biotin at 2.7 Å resolution. <i>J Mol Biol</i>, 231(3), 698-710. doi: 10.1006/jmbi.1993.1321</p> <p>[5] Riehemann, K., Schneider, S. W., Luger, T. A., Godin, B., Ferrari, M., & Fuchs, H. (2009). Nanomedicine--challenge and perspectives. <i>Angew Chem Int Ed Engl</i>, 48(5), 872-897. doi: 10.1002/anie.200802585</p>	