

Sophie Dobiasch

Dr. med.

Entwicklung von zielgerichteten Nanopartikeln zur verbesserten Bildgebung und Therapie beim Pankreaskarzinom

Identifizierung und Charakterisierung von neuen bioaktiven Modalitäten

Fach: Chirurgie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Klaus Felix

Ziel dieser Arbeit war es, bioaktive Nanopartikel zur Früherkennung des duktales Pankreasadenokarzioms (PDAC) zu entwickeln. Über spezifische Interaktionen der zielgerichteten Nanopartikel mit beim PDAC überexprimierten Zielstrukturen (in dieser Arbeit Galectine) können diese als Transportträger für bildgebende Substanzen und Therapeutika als sogenannte Nanotheranostika klinische Verwendung finden.

Ausgewählte Peptide des tissue Plasminogen Aktivators (tPA) wurden als Liganden für die Nanopartikel selektiert und auf die Eignung als Bindungspartner für die Galectine-1, -3 und -4 hin untersucht. Die Interaktionsstudie erfolgte *in vitro* mittels der innovativen Technologie „MicroScale Thermophoresis“ (MST). Dabei zeigte sich, dass die entwickelten tPA-Peptide eine starke und spezifische Bindung zu den Galectinen-1, -3 und -4 eingehen, die die Bindung des rekombinanten humanen (rh) tPAs übertreffen. Durch zusätzliche kovalente Modifizierung (Glykosylierung) der tPA-Peptide mit Galaktose oder Laktose konnte die Bindungsaffinität zu den Galectinen nochmals verbessert werden und erzielte mit einer Dissoziationskonstante von 31 nM eine bis zu 42-fach höhere Bindungsstärke im Vergleich zu dem nativen tPA.

Als Zielstrukturen für die tPA-Peptide wurden die im PDAC überexprimierten Galectine-1, -3 und -4 gewählt. Mittels Immunhistochemie konnte die Überexpression sowohl im humanen, als auch im Gewebe des Mausmormodells bestätigt werden. Die Galectine im Gewebe des PDAC verteilten sich vielfältig und konnten sowohl intrazellulär, interzellulär als auch glandulär nachgewiesen werden und eignen sich somit ideal als Zielstrukturen für die bioaktiven Nanopartikel im PDAC.

Für die *in vivo* Testung der bioaktiven Nanopartikel wurde ein subkutanes und orthotopes Mausmormodell mit den humanen Pankreastumorzelllinien Panc-1 und Su.86.86 etabliert. Mit einer Konzentration von 2×10^6 Tumorzellen pro 50 μ l Volumen konnte bereits nach wenigen Wochen ein gutes Tumorstadium erzielt werden.

Erste Erkenntnisse zur Bioverteilung der Nanopartikel erfolgten mittels Gamma-Kamera und Gamma-Counter. Als Voraussetzung dafür konnte mit einem verbesserten Protokoll zur Jodmarkierung eine Bindungseffizienz der Nanopartikel mit Radiojodisotopen bis zu 90% erreicht werden. Die Zeitverläufe der Akkumulation

der Nanopartikel nach i.v. Applikation zeigten eine maximale Anreicherung bereits 20 bis 60 Minuten nach Injektion, besonders in der Leber mit beginnender renaler Ausscheidung.

Aufgrund des Eisenoxids (Maghemit) im Polyethylen-Kern der bioaktiven Nanopartikel erfolgte als Bildgebung der Wahl ein 1,5 Tesla MRT. Dieses stellte sich zur Detektion aller getesteten Nanopartikel und zur Bioverteilung als geeignet dar. Nach Optimierung der bioaktiven Nanopartikel mit zusätzlicher PEGylierung als Außenhülle konnte das Retikuloendotheliale System, RES, teilweise umgangen und die sofortige Akkumulation in Leber und Milz deutlich reduziert werden. Somit wurde eine Akkumulation von 5 bis zu 11% der injizierten Menge an Nanopartikeln im subkutanen und 7 bis 18% im orthotopen Tumor beobachtet. Die bioaktiven Nanopartikel erwiesen eine gute Toleranz und Verträglichkeit in vivo. Innerhalb von fünf Tagen nach Injektion der Nanopartikel kam es weder zu Veränderungen im Verhalten noch im Gesundheitszustand der Mäuse.

Nach Beendigung der in vivo Experimente erfolgte ein zusätzlicher Nachweis des Eisenoxids im subkutanen und orthotopen Tumorgewebe mittels Berliner Blau Färbung.

In dieser Arbeit konnten geeignete tPA-Peptide, die spezifisch und mit hoher Bindungsaffinität an die Galectine-1, -3 und -4 binden, entwickelt werden. Die tPA-Peptide fungieren nach kovalenter Kopplung an die Nanopartikel als wichtige Liganden und sind wesentlich für die spezifische Interaktion der Nanopartikel mit den Galectinen als Zielstrukturen im PDAC verantwortlich. Nach intravenöser Applikation wurde eine deutliche Akkumulation der bioaktiven Nanopartikel sowohl im subkutanen als auch orthotopen pankreatischen Tumorgewebe mittels Gamma-Kamera, MRI und Berliner Blau Färbung nachgewiesen.

Die entwickelten bioaktiven Nanopartikel zeigen Potential in der Früherkennung des PDAC und können in Zukunft zusätzlich als Trägerfunktionen für Therapeutika als Nanotheranostika in Betracht gezogen werden. Wesentliche Vorteile der Nanopartikel sind die nicht-invasive Verabreichungsform, das geringe Nebenwirkungsprofil, die strahlenbelastungsarme, verbesserte und frühzeitige Diagnostik mittels MRT, sowie ein exakteres Staging und ein Monitoring nach erfolgter Therapie.