

Nora Winkler

Dr. sc. hum.

Endotheliale Anreicherung: Konzept, Mechanismen und Potential für Tumor-Targeting mithilfe von Antikörpern und Nanopartikeln

Fach: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Eduard Ryschich

Fragestellung

Die vorliegende Arbeit geht der Fragestellung nach, anhand welcher Mechanismen eine zielgerichtete, lokale Substanzanreicherung mithilfe von endothelspezifischen Antikörpern und Antikörper-beschichteten Nanopartikeln am Endothel der Leber sowie in experimentellen Lebertumoren erfolgt.

Ergebnisse

Endothelspezifische Antikörper werden durch eine unterschiedliche Dynamik der Endothelbindung charakterisiert. Anti-CD31-, anti-CD146- sowie anti-CD49e-Antikörper konnten als schnell bindende Antikörper im Mausmodell selektioniert werden. Dabei ist die quantitative Dynamik der Antikörperbindung unabhängig vom Gewebetyp, kann jedoch durch Konjugation des Antikörpers stark beeinträchtigt werden. Es konnte eine nahezu vollständige Retention dieser schnell bindenden Antikörper bei der ersten intravaskulären Passage *ex vivo* gezeigt werden. Die Effizienz der endothelialen Anreicherung ist zwar Antikörperdosis-unabhängig, wird jedoch durch die Perfusionsgeschwindigkeit beeinflusst und durch wiederholte oder Langzeitinjektion beeinträchtigt. Bei dem Prinzip der endothelialen Anreicherung besteht außerdem ein negativer Zusammenhang zwischen der Masse des perfundierten Gewebes und lokaler Antikörperkonzentration. Lokoregionale Applikation *in vivo* begünstigt zusätzlich eine hohe intratumorale Antikörperakkumulierung. Die Bindung der mit endothelspezifischen Antikörpern beschichteten magnetischen Nanopartikel und Liposomen am Endothel ist spezifisch, jedoch substantiell schlechter als die Antikörperbindung und wird zusätzlich durch Scherkräfte beeinträchtigt. Der zytotoxische Einfluss Doxorubicin-haltiger CD49e-Immunoliposomen auf murine Tumorzellen ist, trotz spezifischer Bindung und effizienter Anreicherung, nur bei hoher Konzentration nachweisbar. Die Perfusionsgeschwindigkeits-abhängige endotheliale Anreicherung, der

negative Zusammenhang zwischen der Masse des perfundierten Gewebes und lokaler Anreicherung sowie der Vorteil lokoregionaler Applikation für die Tumorendothelanreicherung *in vivo* konnte auch für Immunoliposomen gezeigt werden.

Diskussion

Alle hier getroffenen Aussagen sind nur für die untersuchten Antikörperklone sichergestellt. Das stärkste Translationspotential haben dabei die untersuchten anti-CD49e-Antikörper. Mit Tumorendothel-Targeting können klassische physiologische Barrieren des Tumorzell-Targetings umgangen werden. Klinik-übliche, hohe Dosierung sowie Nichtbeachtung des Injektionsregimes von Antikörper(-Arzneimittel-Konjugate)n verschleiert die Effizienz der endothelialen Anreicherung. Die Berechnung der halbmaximalen effektiven Konzentration der Antikörperbindung am histologischen Schnitt könnte als Parameter für die Antikörperselektion zur Anwendung der endothelialen Anreicherung verwendet werden. Die Auswahl optimaler Eigenschaften für eine effiziente endotheliale Anreicherung Antikörperbeschichteter Nanopartikel ist komplex, da diese von multiplen Parametern beeinflusst wird. Zudem darf die unspezifische Eliminierung der Partikel durch das Mononukleäre Phagozytensystem oder den Effekt erhöhter Permeabilität und Retention *in vivo* nicht vernachlässigt werden. Die geringe zytotoxische Wirkung des hier verwendeten liposomalen Doxorubicins ist womöglich durch suboptimale Wahl der Dosis und des Messzeitpunkts sowie die Komplexität des beteiligten Endozytosemechanismus zu erklären.

Schlussfolgerungen

Das Prinzip der endothelialen Anreicherung ist ein vielversprechender Ansatz, um einen endothelspezifischen, schnell bindenden Antikörper nach lokoregionaler Applikation effizient am Tumorendothel anzureichern und dessen Eintritt in die systemische Zirkulation erheblich zu reduzieren. Dies ist insbesondere für das Tumor-Targeting mit Radioimmunkonjugaten von Bedeutung und stellt sowohl für Diagnose, als auch möglicherweise für die gezielte Therapie lokoregional zugänglicher Tumoren, wie das Hepatozelluläre Karzinom, eine Chance dar. Neben CD49e sollten weitere gegen humane Tumorendothelmarker gerichtete, schnell bindende Antikörper selektioniert werden. Durch die Optimierung der Immunoliposomen bezüglich Größe, Doxorubicingehalt und Avidität scheint eine Therapiestudie im murinen Modell des Hepatozellulären Karzinoms möglich. Beim Einsatz beschichteter Nanopartikel in der Klinik ist das Ziel der Anwendung hinsichtlich

der Wahl optimaler Eigenschaften entscheidend, da die ausschließliche endotheliale Anreicherung vom therapeutischen Anspruch mit Nanopartikel-Internalisierung und -Degradierung zu unterscheiden ist.