

Ingenieurtechnik in der regenerativen Medizin

-

Erwartungen und Realität

Prof. Dr.-Ing. Ralf Pörtner

Technische Universität Hamburg (TUHH)
Institut für Bioprocess- und Biosystemtechnik

AG „Zellkulturtechnik und Tissue Engineering“ (Prof. Dr.-Ing. Ralf Pörtner)

Zellkulturprozesse zur Wirkstoffproduktion

- Steuerung von Fed-Batch-Prozessen
- Design, Betrieb und Scale-up von Festbettreaktoren mit immobilisierten Zellen
- Modellgestützte Versuchsplanung

Tissue Engineering

- Herstellung implantierbarer Knorpel-Träger-Konstrukte als Gelenkflächenersatz
- 3D-Gewebekulturen für Toxizitätstests



Forschungszentrum
Medizintechnik
Hamburg

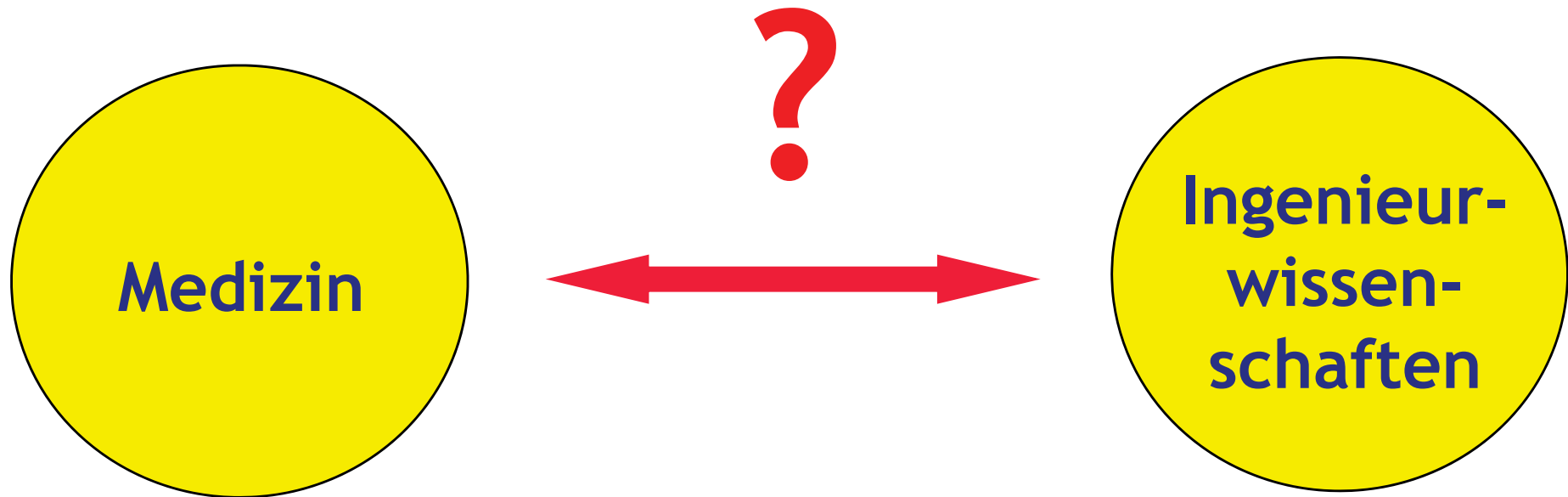


TUHH
Technische Universität Hamburg-Harburg

 Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

<http://fmthh.de/>

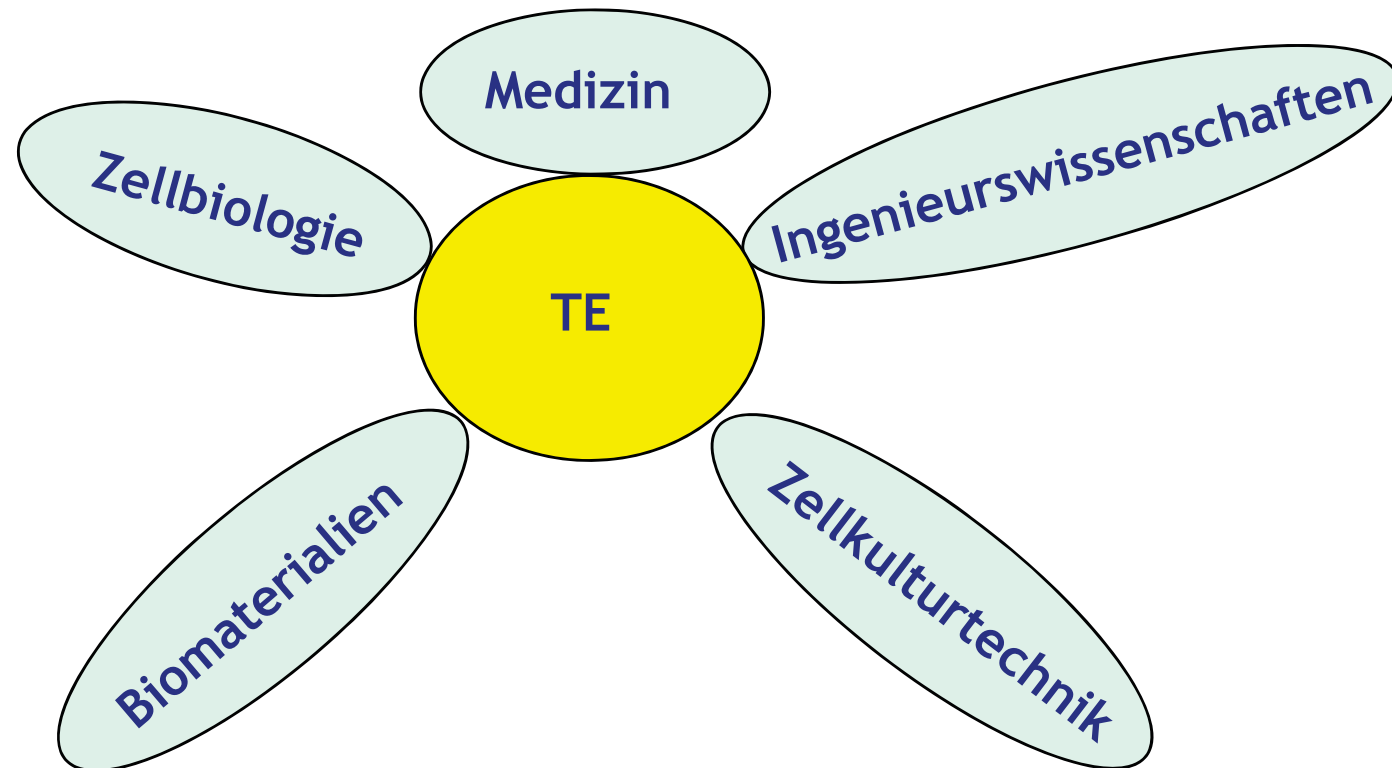
Menschliches Gewebe aus dem Bioreaktor?



Tissue Engineering / Regenerative Medizin

„Tissue Engineering (TE) ist die Anwendung der Prinzipien und Methoden der Ingenieurs- und Lebenswissenschaften...zur **Entwicklung** von biologischem **Gewebe-Ersatz** zur **Rekonstruktion**, dem **Erhalt** oder der Verbesserung der Gewebefunktion“

(National Science Foundation, Washington 1987)



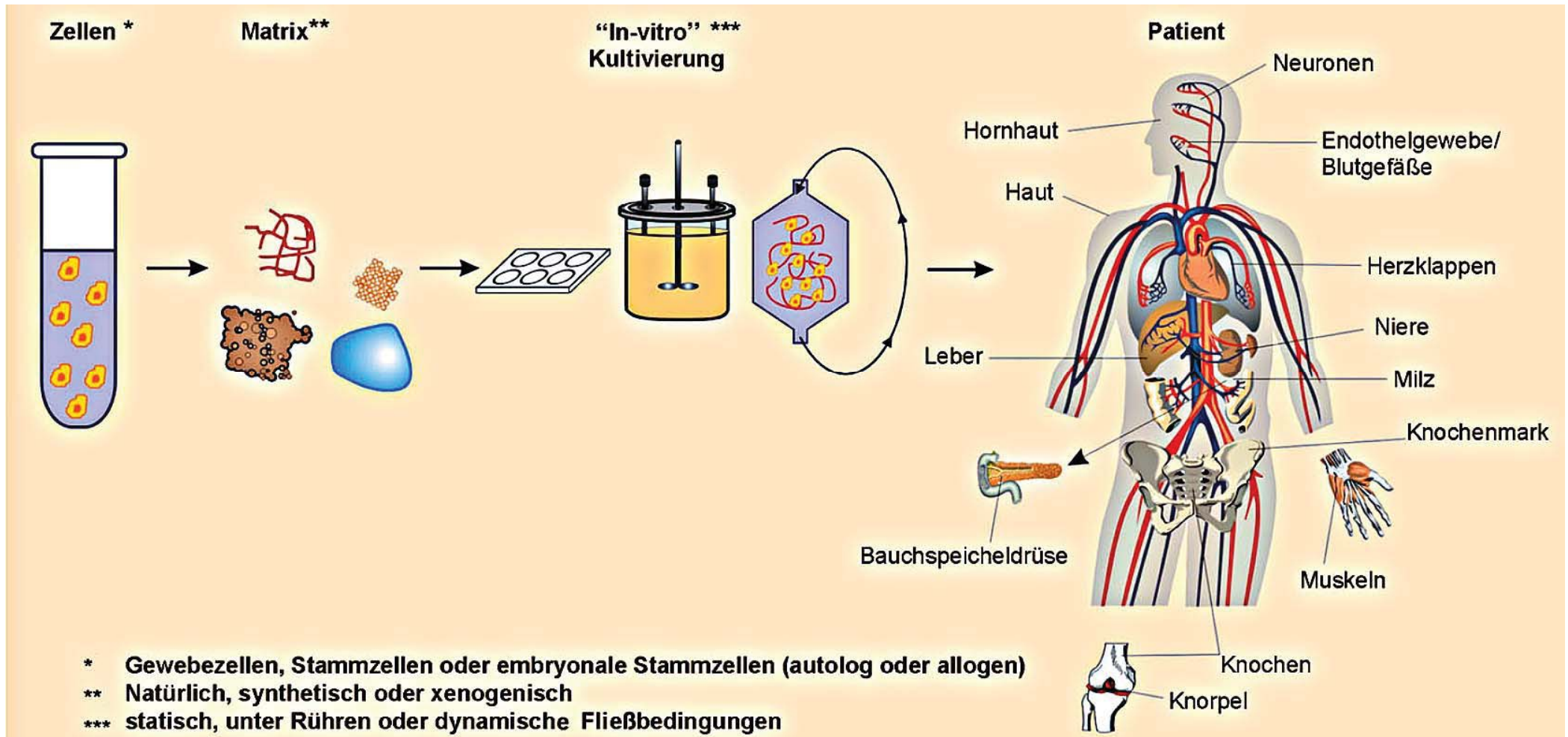
Warum regenerative Medizin / Tissue Engineering?

- Mangel an Spenderorganen
 - Steigende Lebenserwartung und demographischer Wandel
 - Zunahme von chronischen Erkrankungen
 - Behandlung genetischer Defekte
 - Neue Ansätze für Tumorthherapie
-
- Steigender Bedarf für zellbasierte Testung von Substanzen und neuen Medikamenten (REACH, Cosmetic directive) als Ersatz für Tierversuche

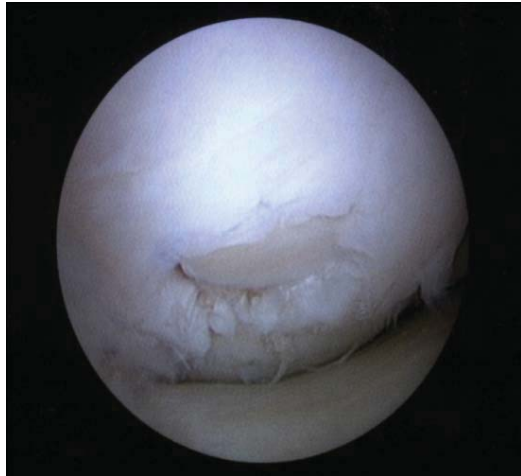
... eines Tages wird es Routine sein, Patienten mit Organen oder Geweben aus dem Bioreaktor zu versorgen, so wie heute ein Coronarer Bypass operiert wird ...

R.S. Langer, J.P. Vacanti, 1999

Prinzip des Tissue Engineering



Tissue Engineering von Knorpel



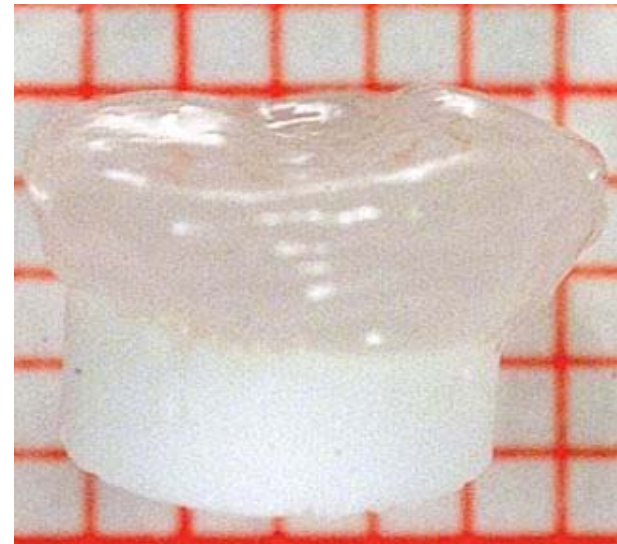
Ein beschädigter Knorpel heilt bei Erwachsenen nur bedingt, es kann zu Arthrose kommen!

Quelle: Prof. Meenen, UKE Hamburg / KKH Altona

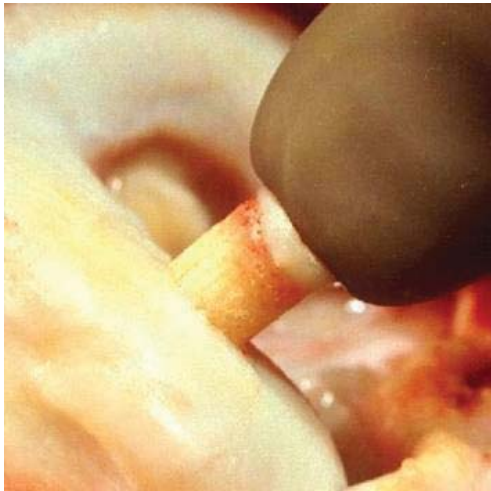
Behandlung heute



Morgen?



TE-Konzept zur Behandlung osteochondraler Defekte

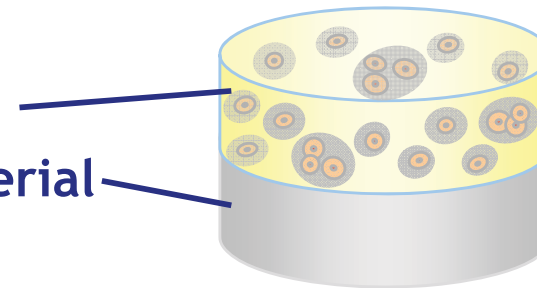


Meenen *et al.* 2003

Autologe osteochondrale Transplantation (AOT)

- **Nachteil: große Entnahmedefekte**
- **Konzept zur Vermeidung der Nachteile*:**

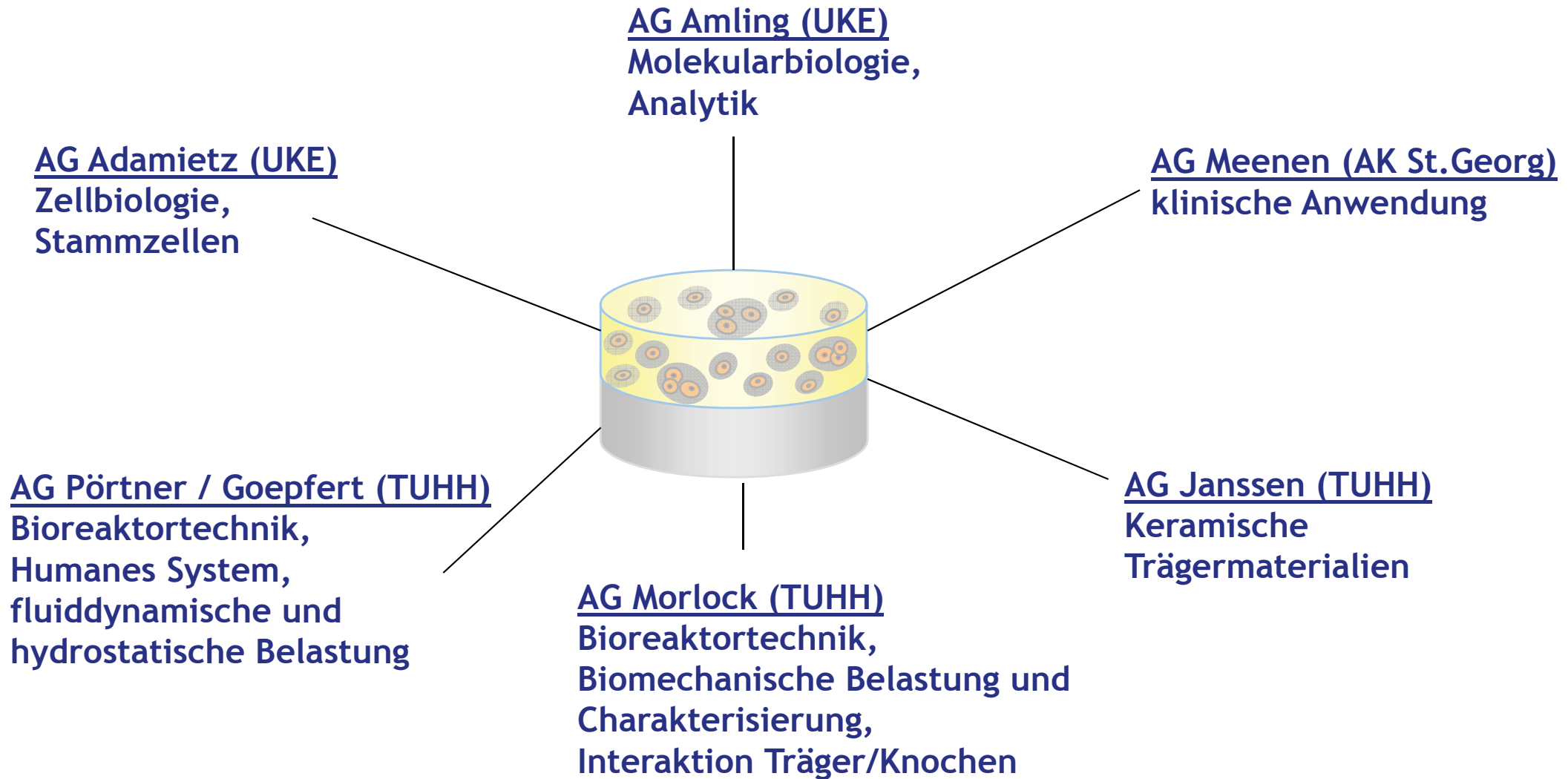
- Knorpelschicht
- Knochenersatzmaterial



biohybrides Implantat

* Adamietz, Meenen (UKE)

Forschungsgruppe „Tissue Engineering“ TU Hamburg-Harburg, Universitätsklinikum Eppendorf (Hamburg)



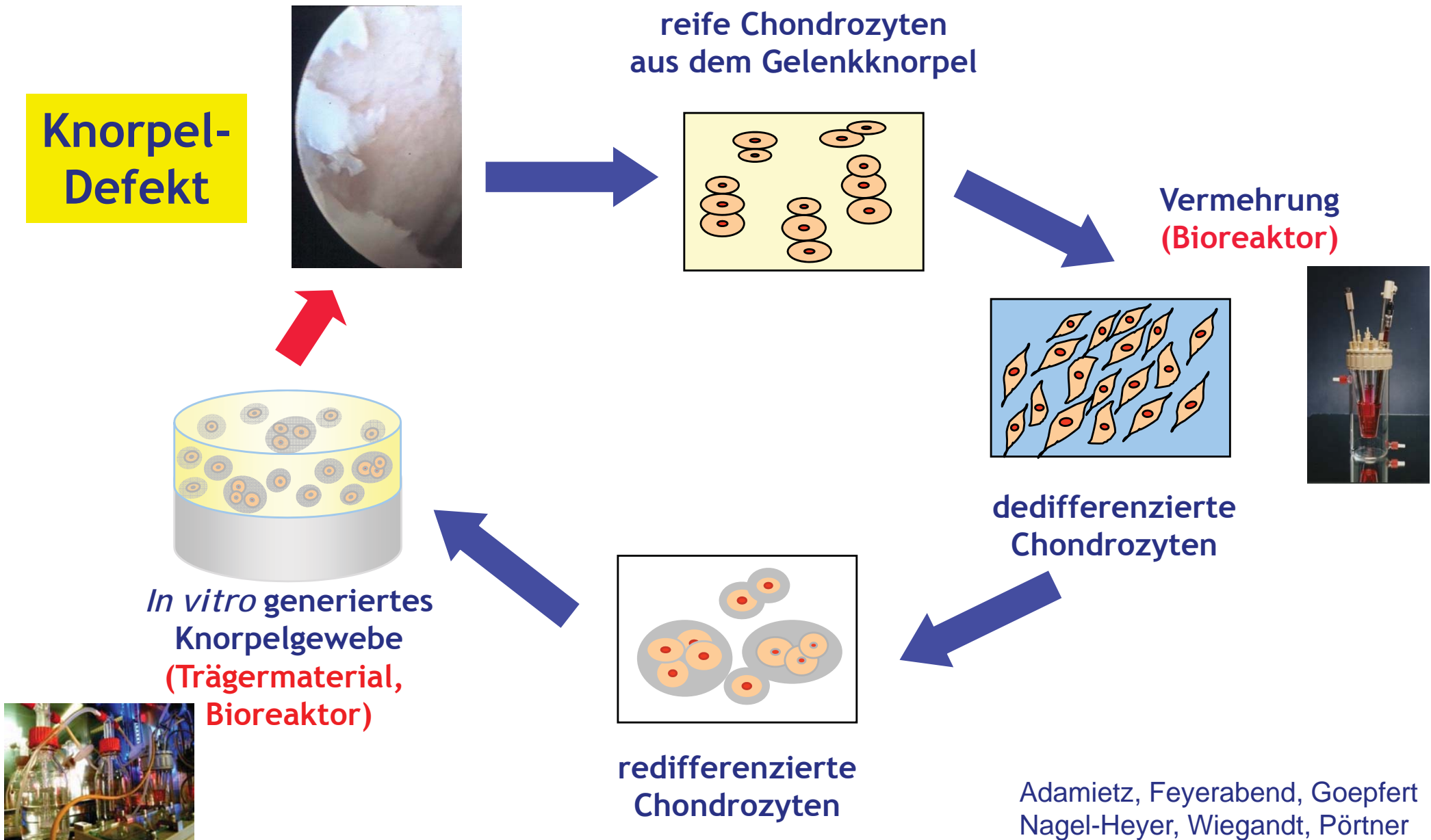
gefördert durch

BMBF 1999-2002

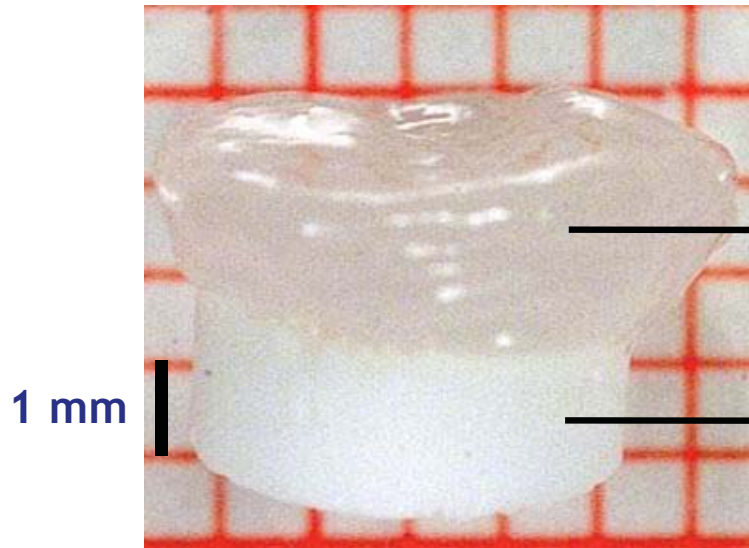
BWF Hamburg, 2003-2005 (Qualitätsoffensive „Tissue Engineering“)

DFG seit April 2006

Herstellung implantierbarer Knorpel-Träger-Konstrukte Prinzip



In vitro kultivierte Knorpel-Träger-Konstrukte



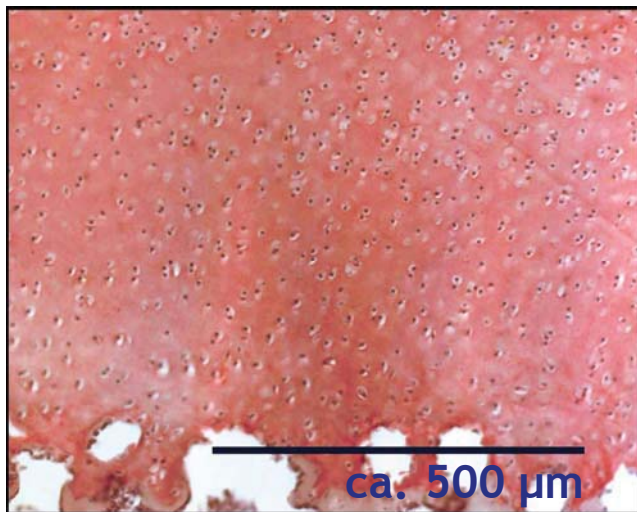
kultivierter
Knorpel (Schwein)

Träger
Calciumphosphat* bzw.
Hydroxylapatit**

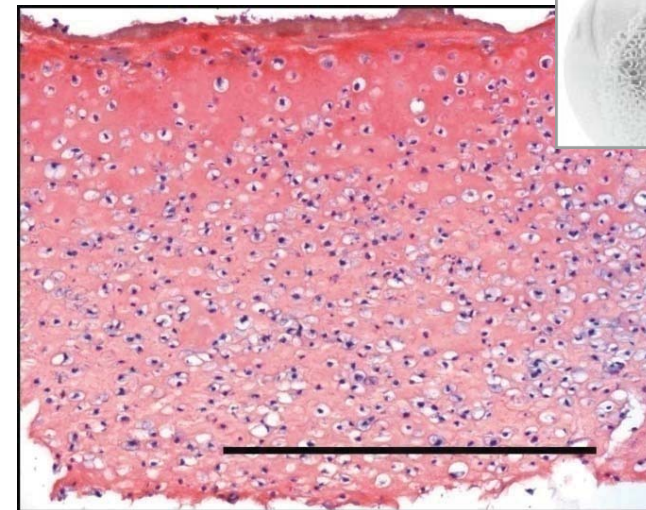
nativ

Kollagen Typ II

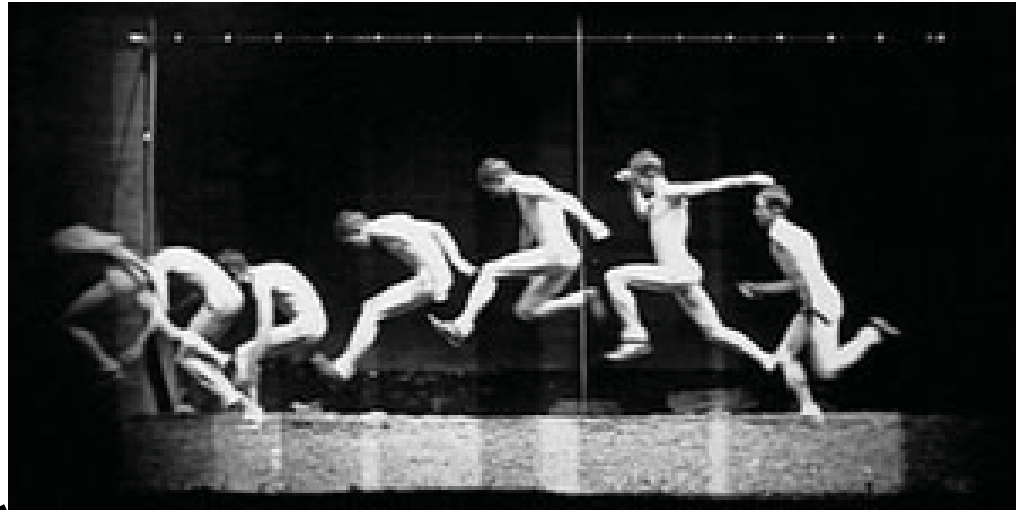
kultiviert



ca. 500 μm



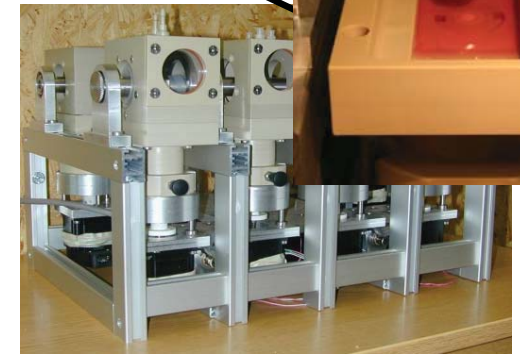
Tissue Engineering von Knorpel-Träger-Konstrukten unter Mechano-Stimulation*



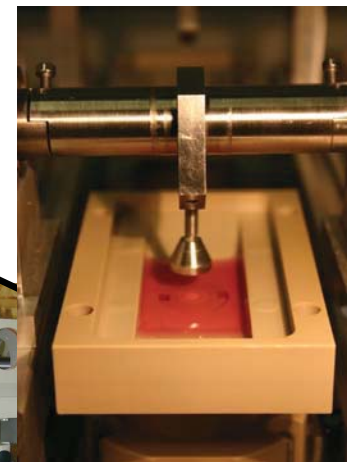
hydrostatische
Belastung (Druck),
patentiert



fluiddynamische Belastung
(überströmende
Flüssigkeit), patentiert

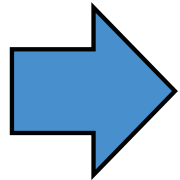


mechanische Belastung
(Normalkräfte, Rollen,
Gleiten, Scherung)

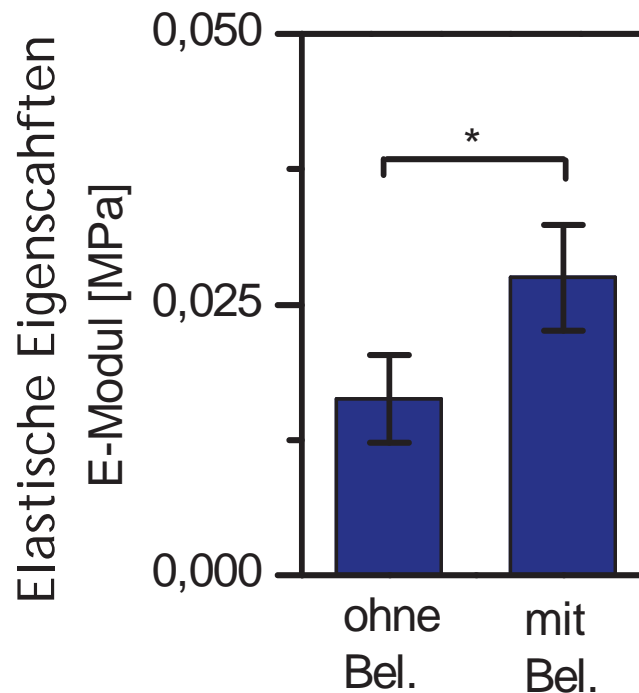


* In Zusammenarbeit mit Prof. Morlock, TUHH, finanziert durch DFG

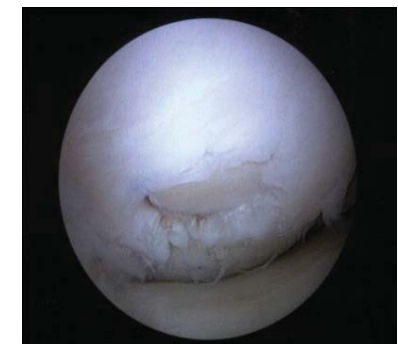
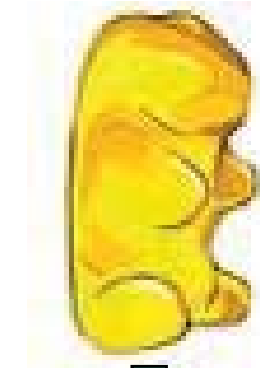
Kultivierung von Knorpel-Träger-Konstrukten unter intermittierendem, hydrostatischem Druck



Belastungszyklus: ab Tag 5, 16 Tage
(Knorpelzellen vom Schwein)



E-Modul nativ:
ca. 1 MPa

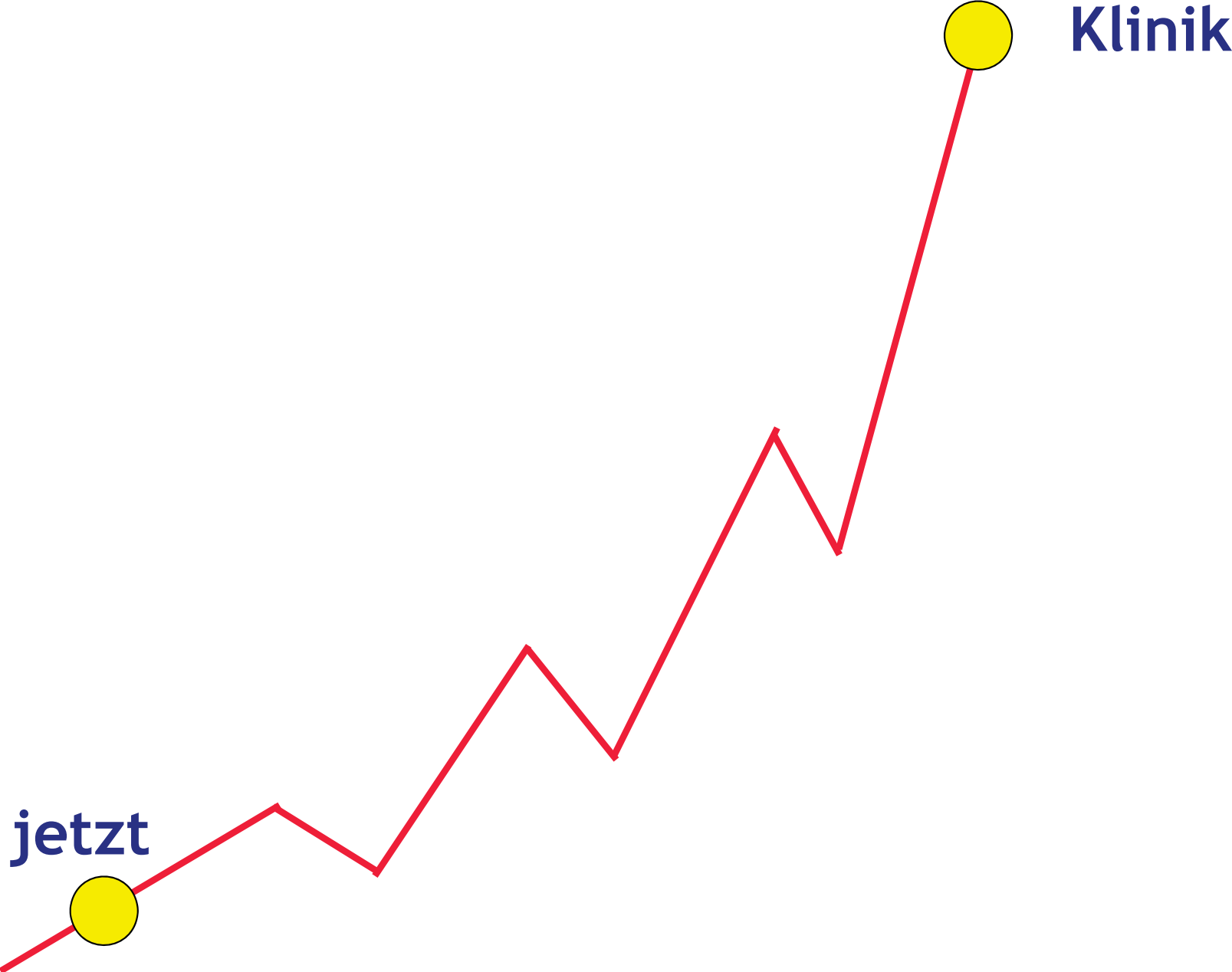


ohne Bel. - Konstrukte ohne Belastung, mit Bel. -Konstrukte mit Belastung

Pörtner et al.: Adv. Biochem. Eng. / Biotechnol.112: 145-182 (2009)

Wiegandt et al.: Adv. Biochem Eng./Biotechnol 126: 297-315 (2012)

Wo stehen wir heute?



Hoffnung in Zelltherapien bei Krebserkrankungen

- Die medizinische Forschung setzt inzwischen hohe Erwartungen auf die immuntherapeutische Bekämpfung von Krebskrankheiten als Alternative zu Bestrahlung, Operation und Chemotherapie.
- Somatische Zelltherapeutika - „Immunkompetente Blutzellen wie natürliche Killerzellen, T-Lymphozyten oder dendritische Zellen werden *in vitro* mit bestimmten Tumor-Antigenen stimuliert. Diese nun auf den Tumor "abgerichtete" Zellen werden Krebspatienten verabreicht.“

Klinische Studien zur Zelltherapie

| Immune Cell Type | Clinical trials in total | Open Clinical trials | Clinical trials Europe total | Clinical trials US total | Clinical trials China total |
|-------------------|--------------------------|----------------------|------------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| T-Lymphocytes | 2343 | 723 | 116 | 401 | 184 |
| TIL | 77 | 27 | 4 | 17 | 0 |
| CAR T-Lymphocytes | 170 | 123 | 7 | 40 | 78 |
| NK-Cells | 407 | 140 | 10 | 49 | 62 |
| MSC | 339 | 134 | 34 | 29 | 39 |
| BM-MSC | 104 | 46 | 12 | 12 | 7 |
| UC-MSC | 54 | 24 | 2 | 0 | 16 |
| UCB-MSC | 7 | 3 | 0 | 0 | 2 |
| AT-MSC | 20 | 6 | 1 | 1 | 2 |

www.clinicaltrials.gov/, accessed on Feb 15, 2017.

TIL: Tumour infiltrating Lymphocytes; CAR T-Lymphocytes: Chimeric Antigen Receptor Lymphocytes; MSC: Mesenchymal Stromal Cells; BM-MSC: Bone Marrow MSC; UC-MSC: Umbilical Cord MSC; AT-MSC: Adipose Tissue MSC.

Pörtner et al.: In: "Stem Cells and Tissue Engineering", Intechopen (2018)

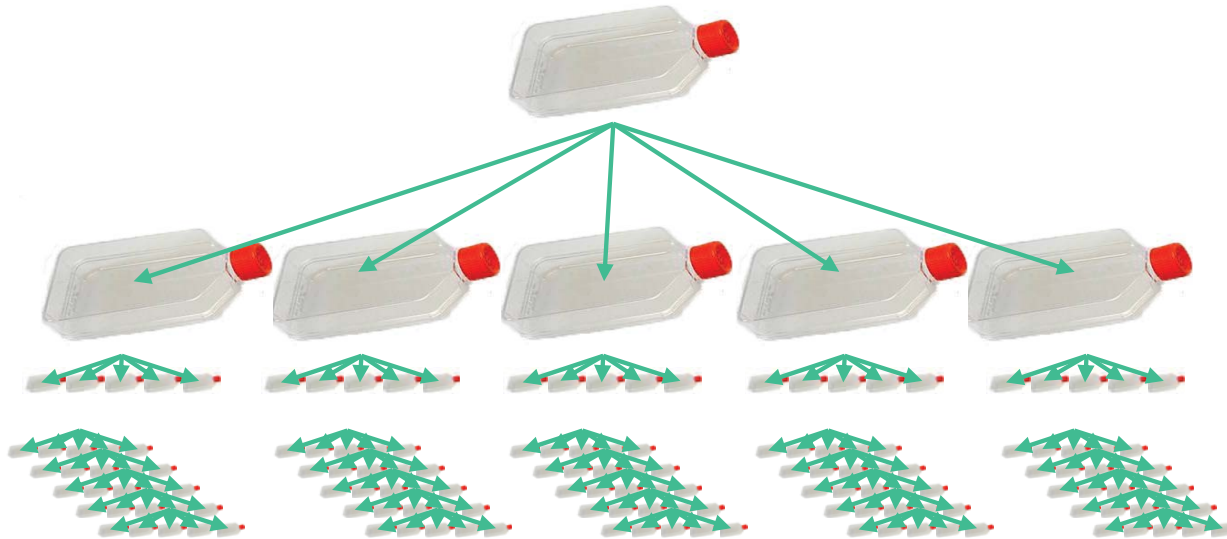
Herausforderungen für die Massenanwendung von Zellen für Zelltherapien

Erforderliche Anzahl an Zellen für die Therapie

- 100 Millionen Zellen oder mehr pro Patient
(bis zu 10^{11} Zellen abhängig vom Körpergewicht) → 100te von Litern Zellkulturmedium
- Expansion der Zellen in einem skalierbaren Kultivierungssystem unter kontrollierten Bedingungen und mit optimierter Prozessstrategie
→ Erhaltung des „undifferenzierten“ Status (Charakterisierung?)

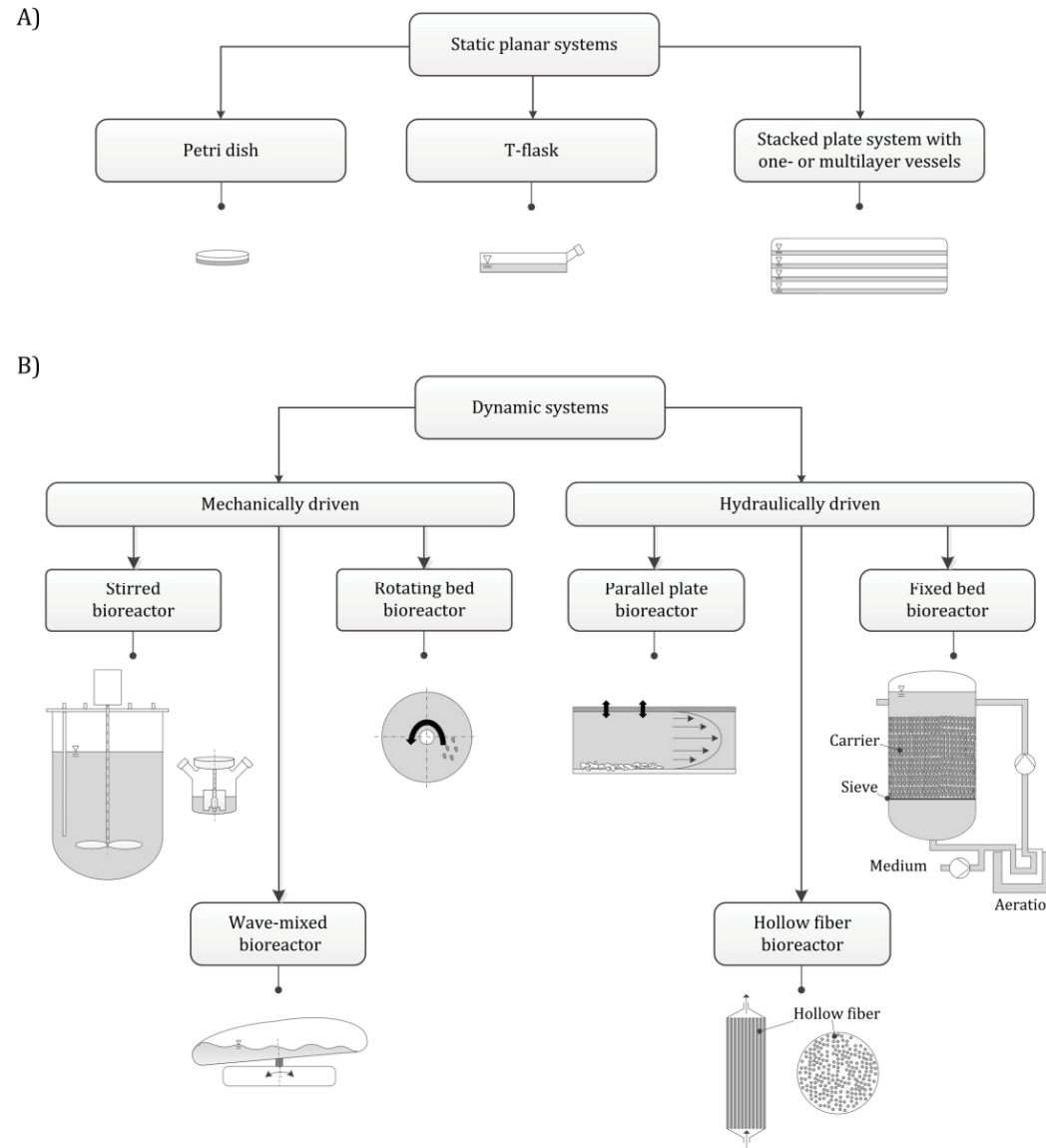
Herausforderungen für die Massenanwendung von Zellen für Zelltherapien

Vergrößerung von Mediumvolumen *und* Oberfläche



➤ Prozess mit Zellkulturflaschen unrealistisch.

Zellkultur-Bioreaktoren für Zelltherapien



“The majority of dynamic bioreactor types were originally developed for production processes aimed antibodies and vaccines.”

Landscape of Manufacturing Process of ATMP Cell Therapy Products for Unmet Clinical Needs

Ralf Pörtner, Shreemanta K. Parida,
Christiane Schaffer and Hans Hoffmeister

Additional information is available at the end of the chapter

<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69335>

The chapter reveals that the manufacturing of immune cells especially for clinical trials is until today primarily performed using archaic, scarcely controlled, and incomparable processes and methods.

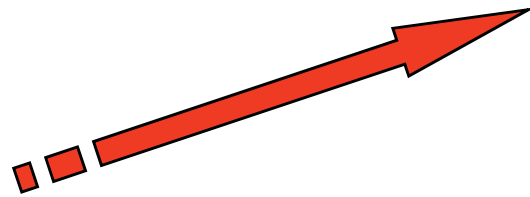
A deeper characterization of *ex vivo* expanded immune cells is urgently needed

Zellwerk's GMP Z[®]RP Cell BREEDER with M type Bioreactor



Schritte eines „Tissue Engineering“-Produktes von der Forschung bis zur klinischen Anwendung*

- Forschung und Entwicklung
- Herstellung nach „Good Manufacturing Practice“ (cGMP)
- Klinische Studien
- Produktevaluation
- Markt / Klinik (z.B. Kostenübernahme)

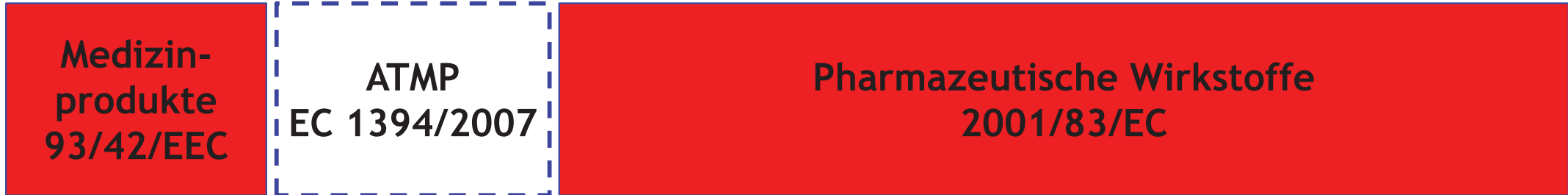


Anforderungen:

- Sicherheit
- Effizienz
- Qualität

*Woerly, 2000

Regulation für Zulassung



Advanced Therapy Medicinal Products ATMPs



ATMP - Zulassungen seit 2007 → 13*

Auswahl:

ChondroCelect® (TiGenix, Belgium /Sobi) - autologe zellbasierte Knorpelbehandlung

TiGenix wurde 2000 als Spin-off der Universitäten Leuven und Gent gegründet. **vom Markt genommen November 2016**

Glybera (uniQure, Netherlands) - erstes zugelassenes Gentherapie-Produkt in einem geregelten Markt (Nov. 2012 - für 5 Jahre)
Behandlung der seltenen Fettstoffwechsel-Krankheit Lipoprotein-Lipase-Defizienz

ca. 400 bis 500 Patienten in Europa **vom Markt genommen Oktober 2017**

MACI (Genzyme/Sanofi/Vericel) - Matrix basierte autologe Chondrozytentransplantation, ein "third-generation ACI product" (April 2013)

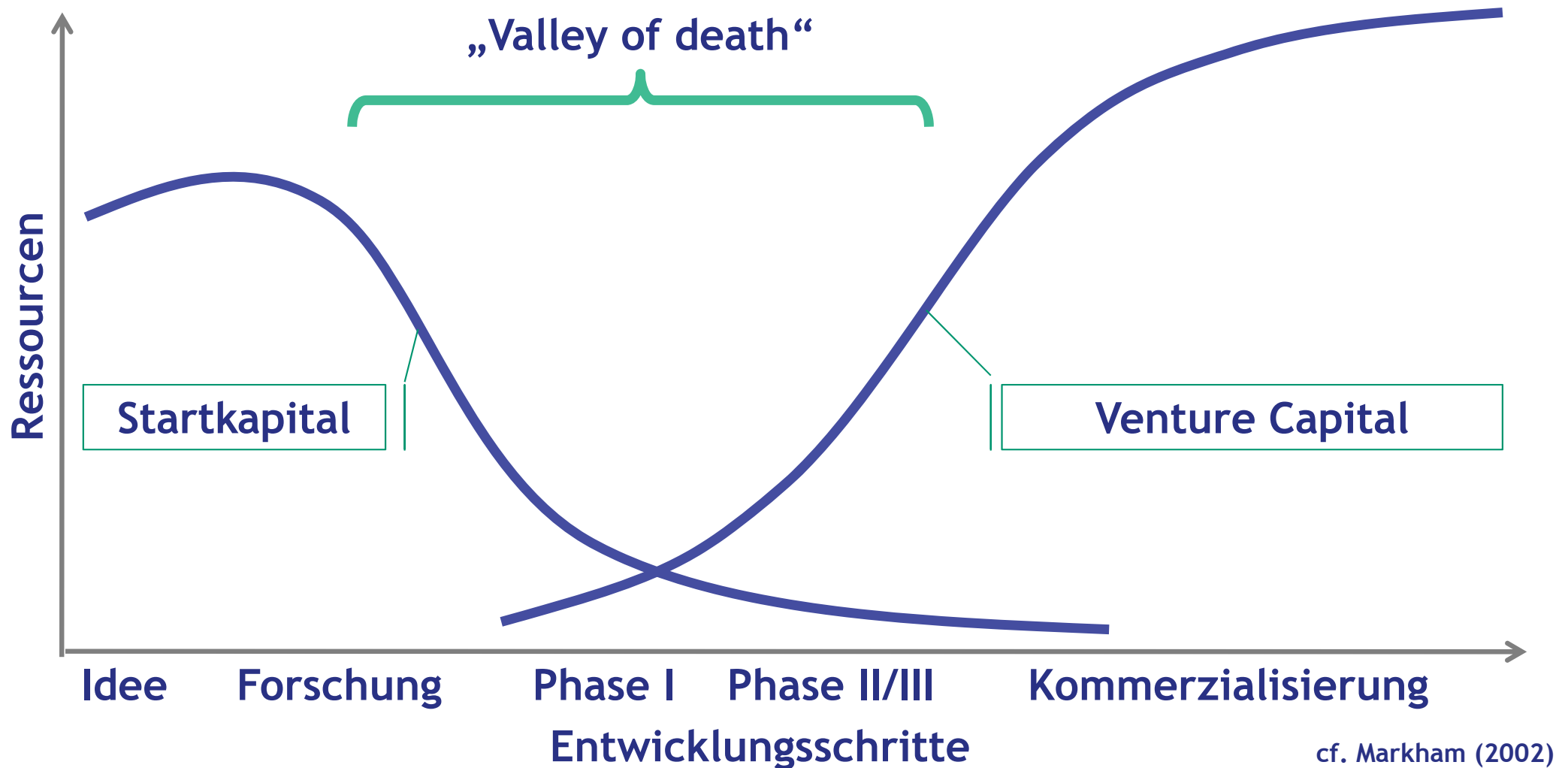
Zulassung für ganze EU

Vorher war MACI seit 1998 in einigen europäischen Ländern nach nationalen Richtlinien zugelassen

* CAT-Report September 2018

Marktzulassung aufgehoben Oktober 2017

Das „Valley of Death“ für die Finanzierung von TE-Produkten



Motivation zur Kultivierung von Hautmodellen

- 2013 European Regulation prohibits animal experiments for cosmetics products
- Cosmetic industries need alternative for substance testing
- Use human skin models



Prof. Dr.-Ing. Ralf Pörtner



Prof. Dr. rer.nat. Roland Lauster

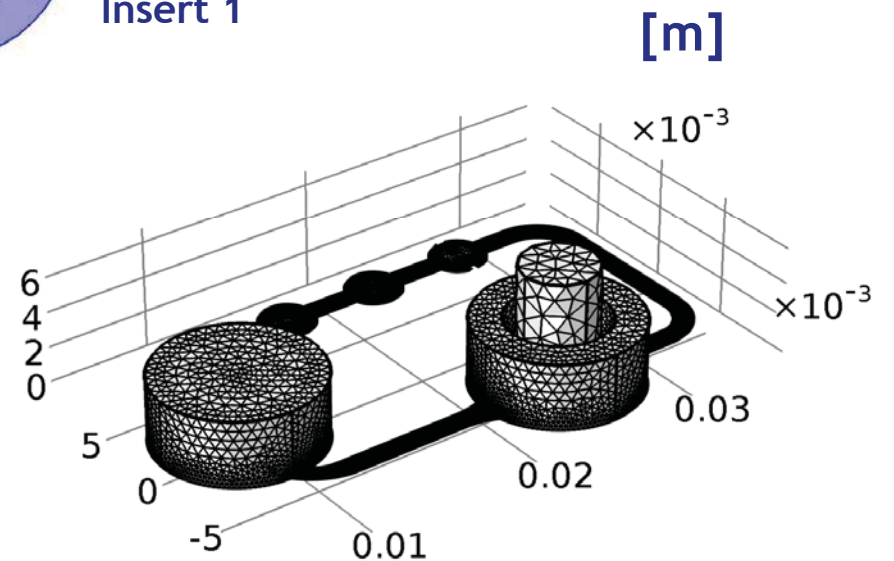
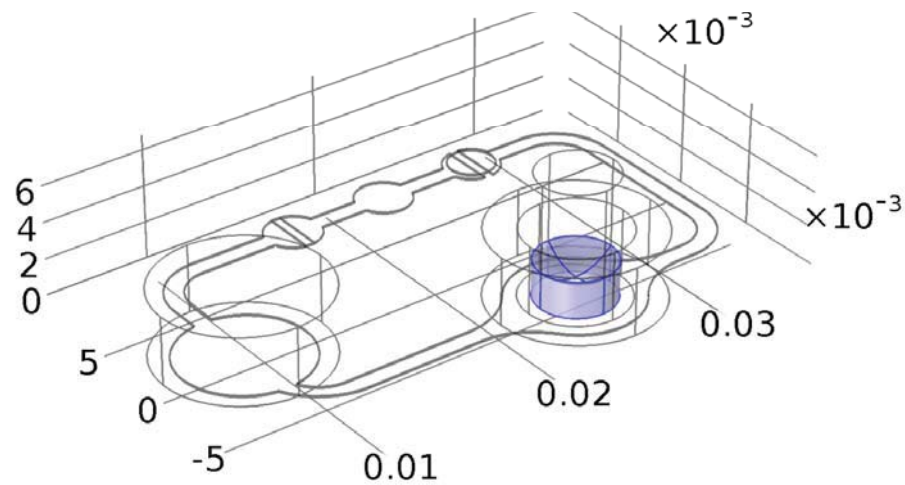
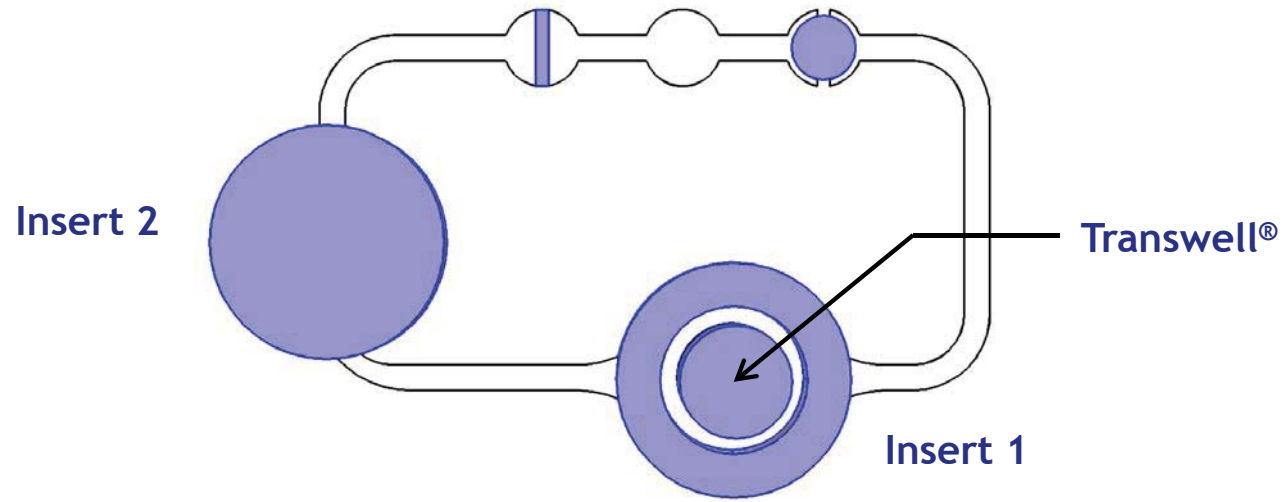


Dr. Uwe Marx

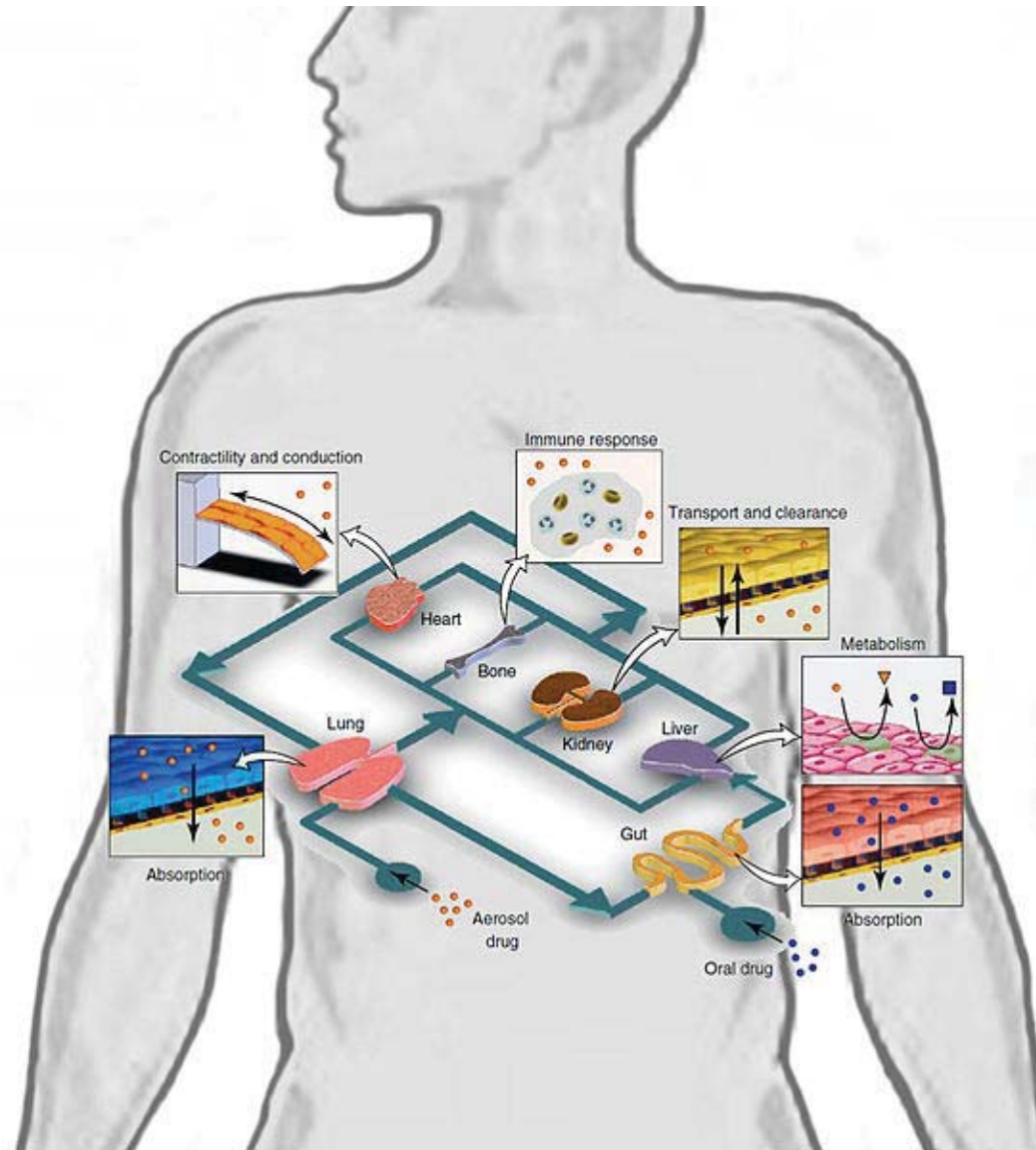


“Entwicklung und mikrofluidische
Charakterisierung eines dynamisch kultivierten
Vollhautmodells“

Simulation der Strömung im 20C mittels COMSOL Multiphysics



Vision: „Human-on-a-Chip“



Quelle: Wikipedia

Homunkulus des niederländischen Wissenschaftlers Nicolas Hartsoeker *Essai de dioptrique* (published in Paris, 1694, page 230).

Zusammenfassung

- Die regenerative Medizin hat ein sehr großes Potential, allerdings wurden die Erwartungen bislang nur teilweise erfüllt.
- Große Erwartungen in zellbasierte (organoide) Testsysteme als Ersatz für Tierversuche.