

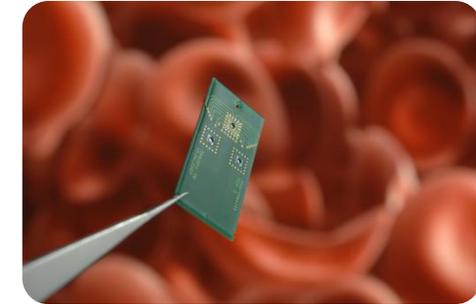
# Blut-Hirn-Schranken-Modelle für die Pharmakologie – von Primärzellen zu hiPS-Krankheitsmodellen



Karin Danz, Abteilung Bioprozesse & Bioanalytik  
[karin.danz@ibmt.fraunhofer.de](mailto:karin.danz@ibmt.fraunhofer.de)

# Fraunhofer IBMT – Daten und Fakten

- 4 Abteilungen
- Fraunhofer-Projektzentrum für Stammzellprozesstechnik
- ca. 160 Mitarbeiter
- 16,9 Mio € IBMT-Gesamthaushalt (2018)
- Gründungsmitglied des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences (VLS)
- Fraunhofer-Bioarchiv
- Gemeinschaft Deutscher Kryobanken (GDK)

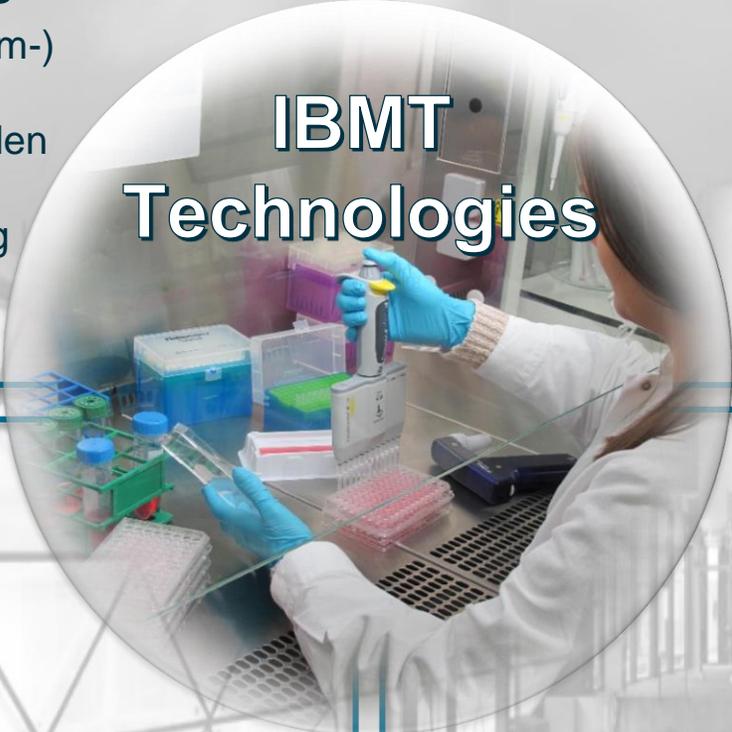


# Medizinische Biotechnologie am IBMT

## Zellmodelle und Toxikologie

- Kultivierungstechniken und (Stamm-) Zell-basierte Modellsysteme
- Nicht-invasive analytische Methoden und humanes Biomonitoring
- Nanopartikeldesign und –targeting
- Zyto- und Nanotoxikologie

## IBMT Technologies



## Substrattechnologie

- Chemische und physikalische Modifizierung von Biomaterialien
- Bioprinting und Entwicklung von Biotinte
- Stimulus-responsive Biopolymeroberflächen

## Kryotechnologie

- Zell- und Gewebe-spezifische Protokolle zur Kryokonservierung
- Eis-freie Kryokonservierung
- Zelluläre Mikroskopie und Spektroskopie

## Prozessautomatisierung

- Hochdurchsatzverfahren für Zellexpansion und -lagerung
- Automatisiertes Biobanking
- Prozessoptimierung und -beschleunigung

# Zellkulturmodelle am IBMT



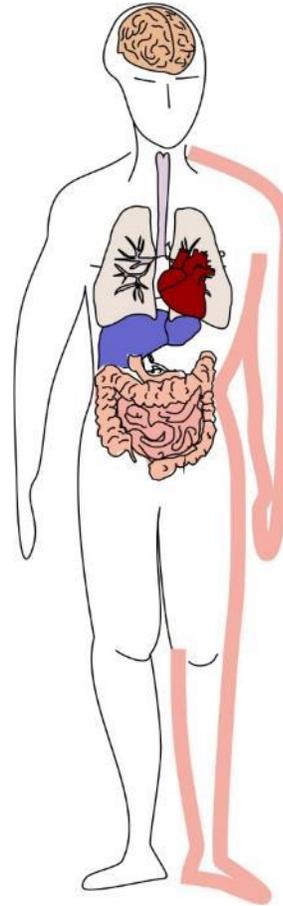
**Lungenmodell**  
VITROCELL® System (air-liquid Interface)

**Modell der intestinalen Barriere**  
Ussing Kammer®  
(liquid-liquid Interface)



**Mukusbarriere-Modell**  
Microkavitäts-Chip mit Ex-vivo-Mukus

**Hautmodell**  
Franz Zell® System



**Blut-Hirn-Schranken-Modell**  
CellZscope®



**Krankheitsspezifische Modelle**  
z.B. Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson

**Vaskularisiertes Tumor-Modell**

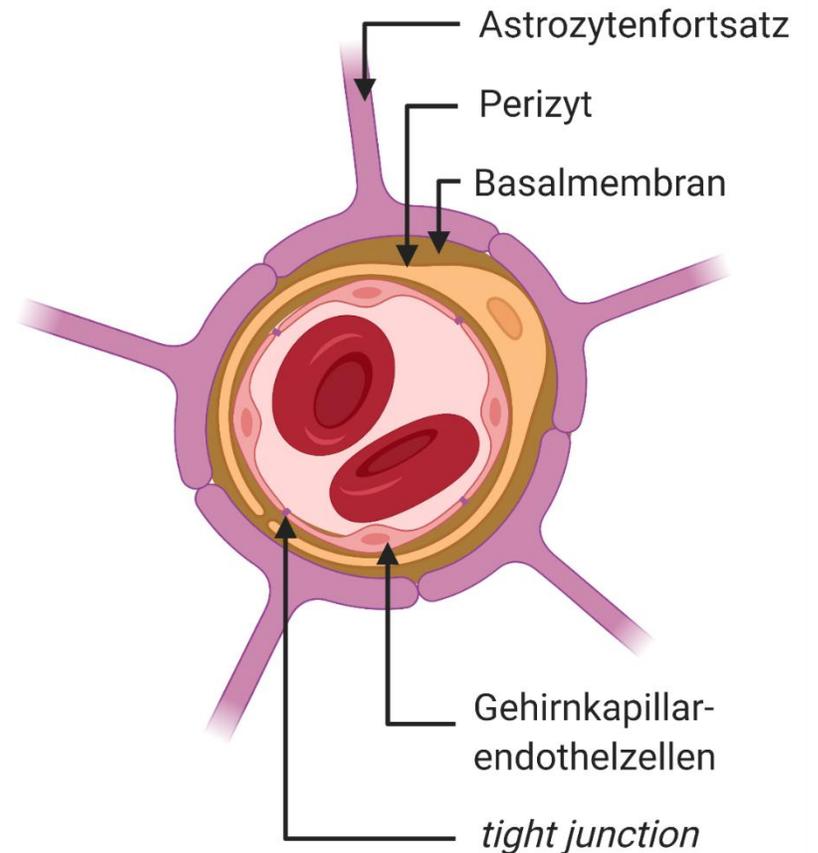


**In-vitro- & Ex-vivo-Modelle**  
Zelllinien, Primärzellen, Stammzellen,  
Reporterzelllinien, Co-Kultur-Modelle, 3D-  
Modelle, Mikrofluidische Modellsysteme, ...

# Blut-Hirn-Schranke und Pharmazeutika

- Hoch-selektive Barriere
  - Pharmazeutika können nicht durch Zellzwischenräume ins Gehirn gelangen
  - Zelluläre Aufnahme stark abhängig von spezifischen physiko-chemischen Eigenschaften
  - Nach Aufnahme in Endothelzellen wird Großteil durch hohe Konzentration von Effluxtransportern zurück ins Blut abgegeben
- **In-vitro-Modelle mit zuverlässigen prädiktiven Eigenschaften in der pharmazeutischen Entwicklung von essentieller Bedeutung**

Gefäßquerschnitt einer Hirnkapillare

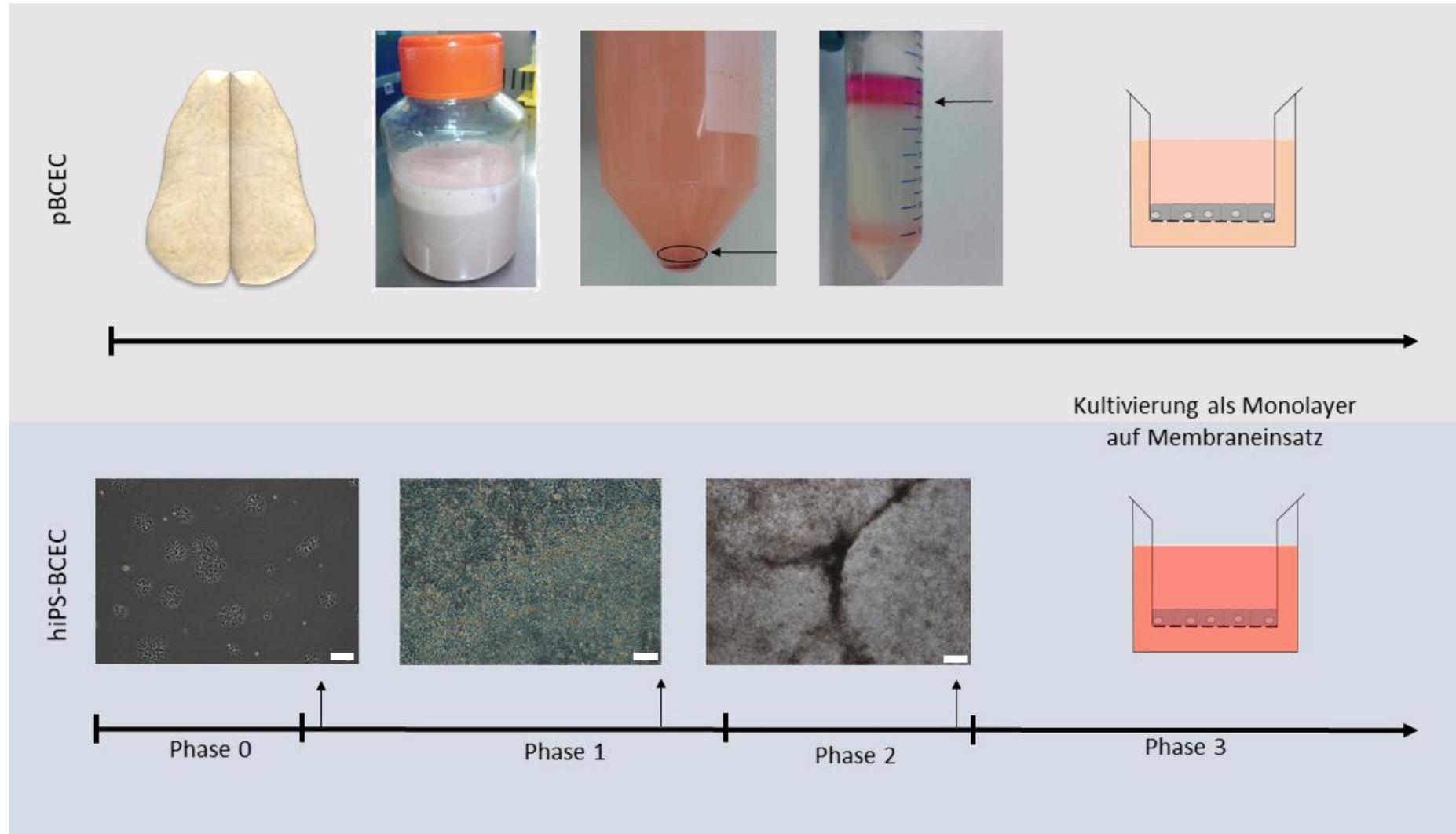


Erstellt mit BioRender.com

# Blut-Hirn-Schranken-Modelle – „state of the art“

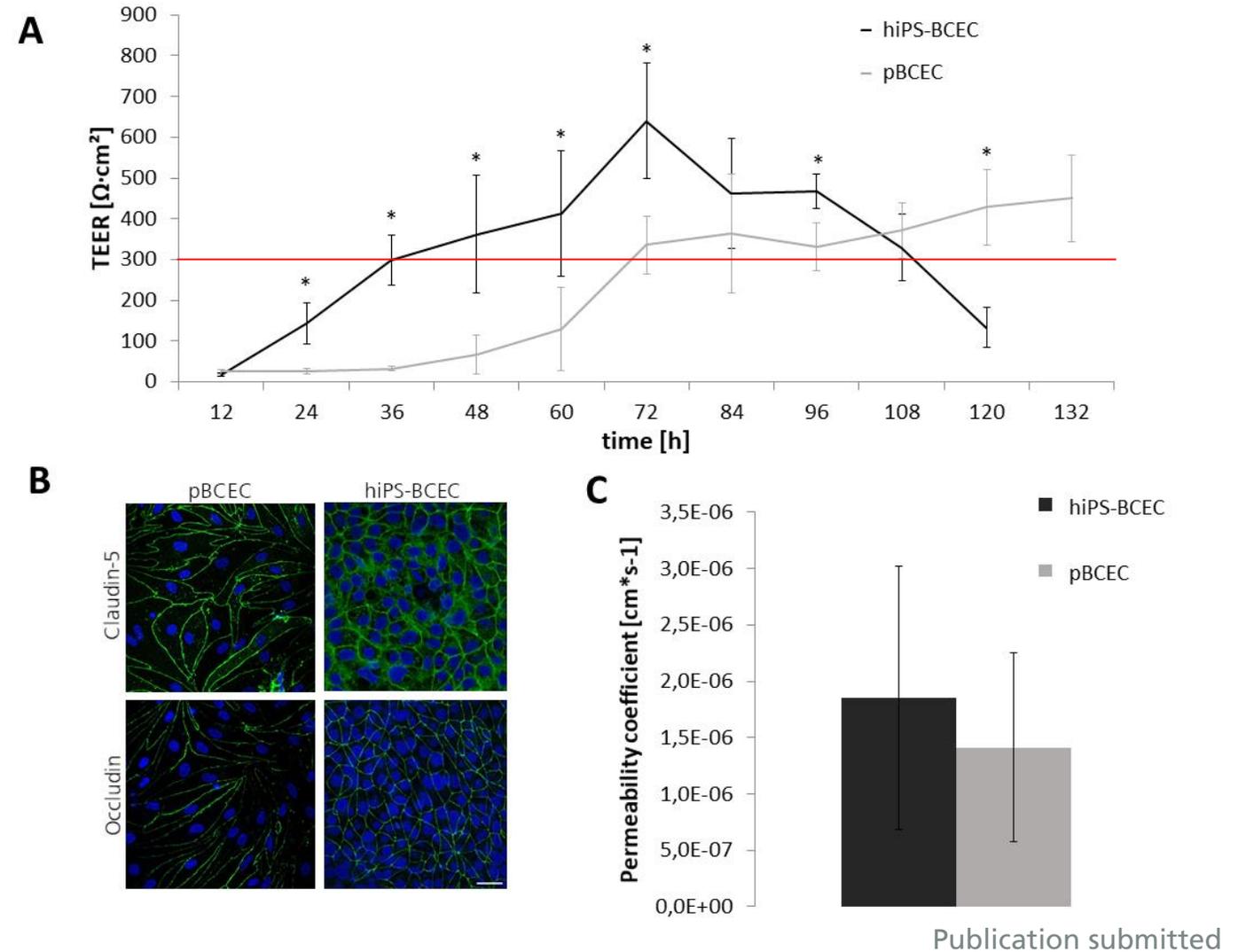
Modellsystem	Primärzellmodelle	Gehirnkapillarendothelzellen differenziert aus humanen induzierten pluripotenten Stammzellen	Modelle mit integrierter Fluidik
Verfügbarkeit	Abhängig von Primärmaterial tierischen Ursprungs	Reproduzierbare Protokolle veröffentlicht	Mikrofluidische und Chip-basierte Plattformen publiziert, noch keine Verfügbarkeit im Hochdurchsatz-Bereich
TEER-Werte	> 300 $\Omega$ cm <sup>2</sup>	> 600 $\Omega$ cm <sup>2</sup>	Integrierte Lösungen noch in der Entwicklung
Charakterisierung	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>tight junction</i>-Proteine</li> <li>• Permeabilität gegenüber Markersubstanzen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>tight junction</i>-Proteine</li> <li>• Permeabilität gegenüber Markersubstanzen</li> <li>• Genexpressionsanalysen</li> </ul>	Abhängig von verwendeten Zellen, analog zu nicht-fluidischen Modellen
Vorbereitungszeit	5 – 7 Tage	12 – 14 Tage	Abhängig von verwendeten Zellen, 5 – 14 Tage
Weitere Faktoren	Nicht humanen Ursprungs ➤ Limitierte Vorhersagekraft	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Humaner Ursprung</li> <li>• Etablierung krankheitsspezifischer Modelle möglich</li> </ul>	Signifikante Weiterentwicklung vor breiter Einsetzbarkeit notwendig

# Blut-Hirn-Schranken-Modelle am IBMT



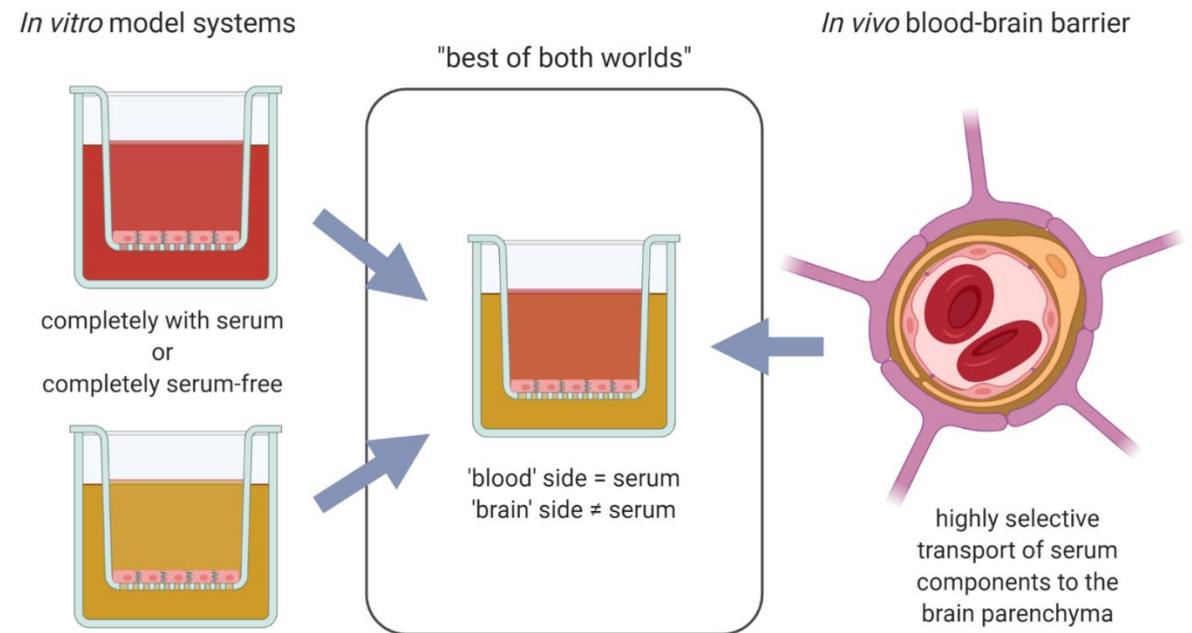
# Vergleich von Primärzell-Modell und hiPS-basierter BHS

- hiPS-basierte Zellen (hiPS-BCEC) zeigen höhere TEER-Werte als porcine Primärzellen (pBCEC)
- Relevante *tight junction*-Marker in beiden Zellen exprimiert
- Permeabilität gegenüber Markersubstanz Natriumfluoreszein vergleichbar gering



# Weiterentwicklung zur Verbesserung der Modelleigenschaften

- Wichtiger Faktor bei der Aufnahme von Pharmazeutika und anderen Substanzen an der Blut-Hirn-Schranke: Interaktion mit Plasmaproteinen
- In-vivo-Situation: Plasmaproteine selektiv und spezifisch in geringen Mengen über die Blut-Hirn-Schranke transportiert
- In-vitro-Modelle: Serum in der Modellentwicklung entweder auf beiden Seiten der Barriere zu finden, oder Kultivierung erfolgt komplett Serum-frei
- Annäherung an In-vivo-Situation: Einsatz von Serum selektiv nur auf einer Seite der Barriere

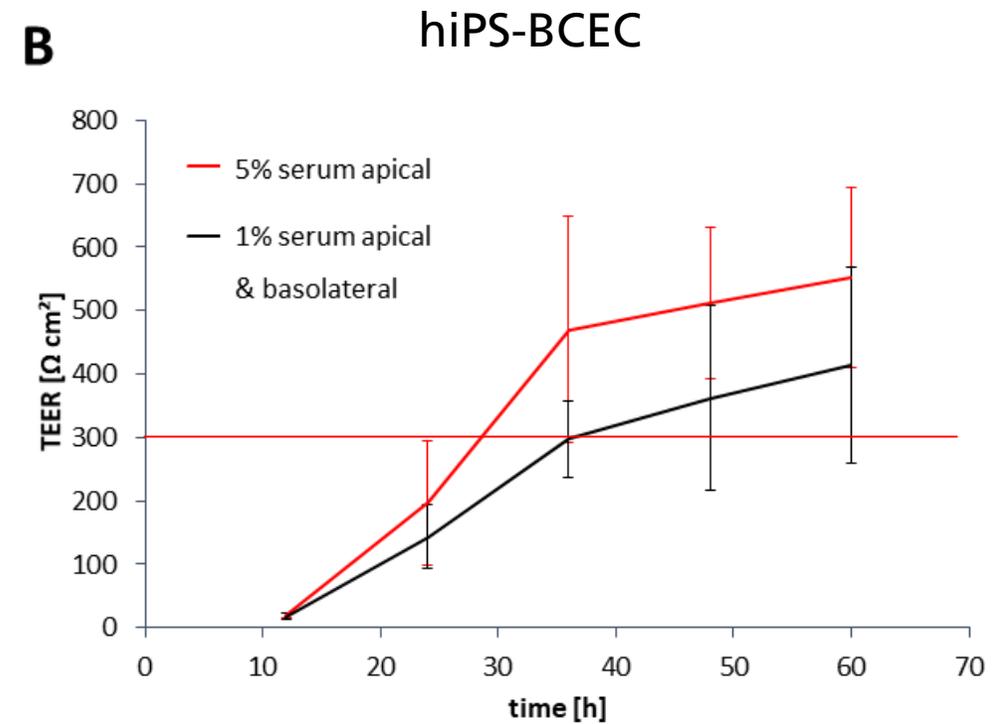
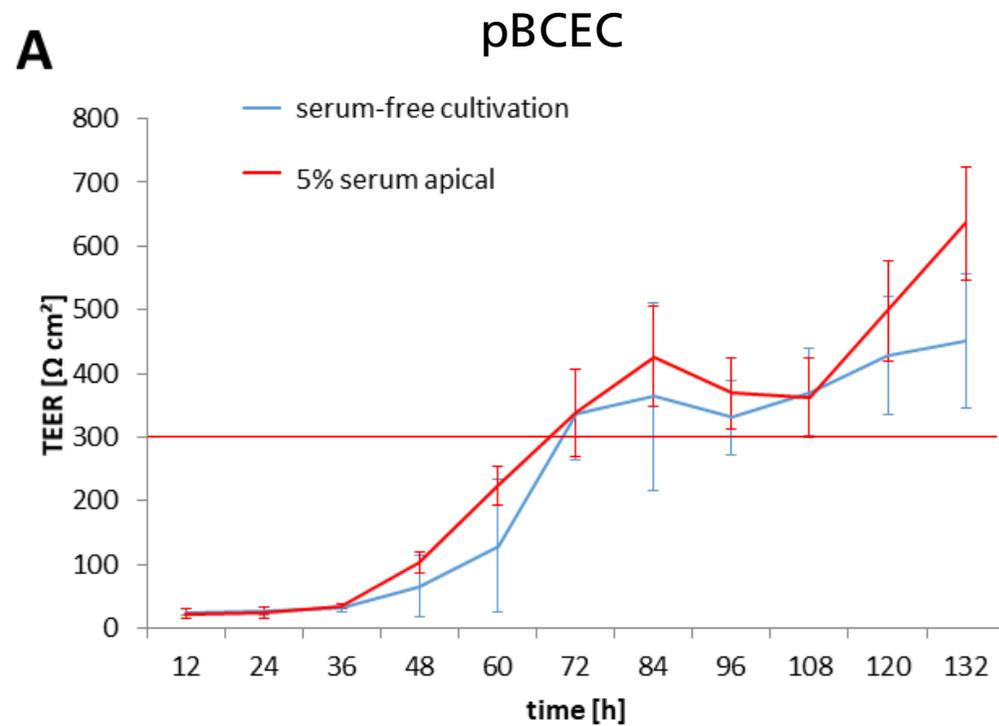


Created with BioRender.com

Publication submitted

# Einfluss der Serumverteilung auf die Barriereigenschaften – TEER-Wert

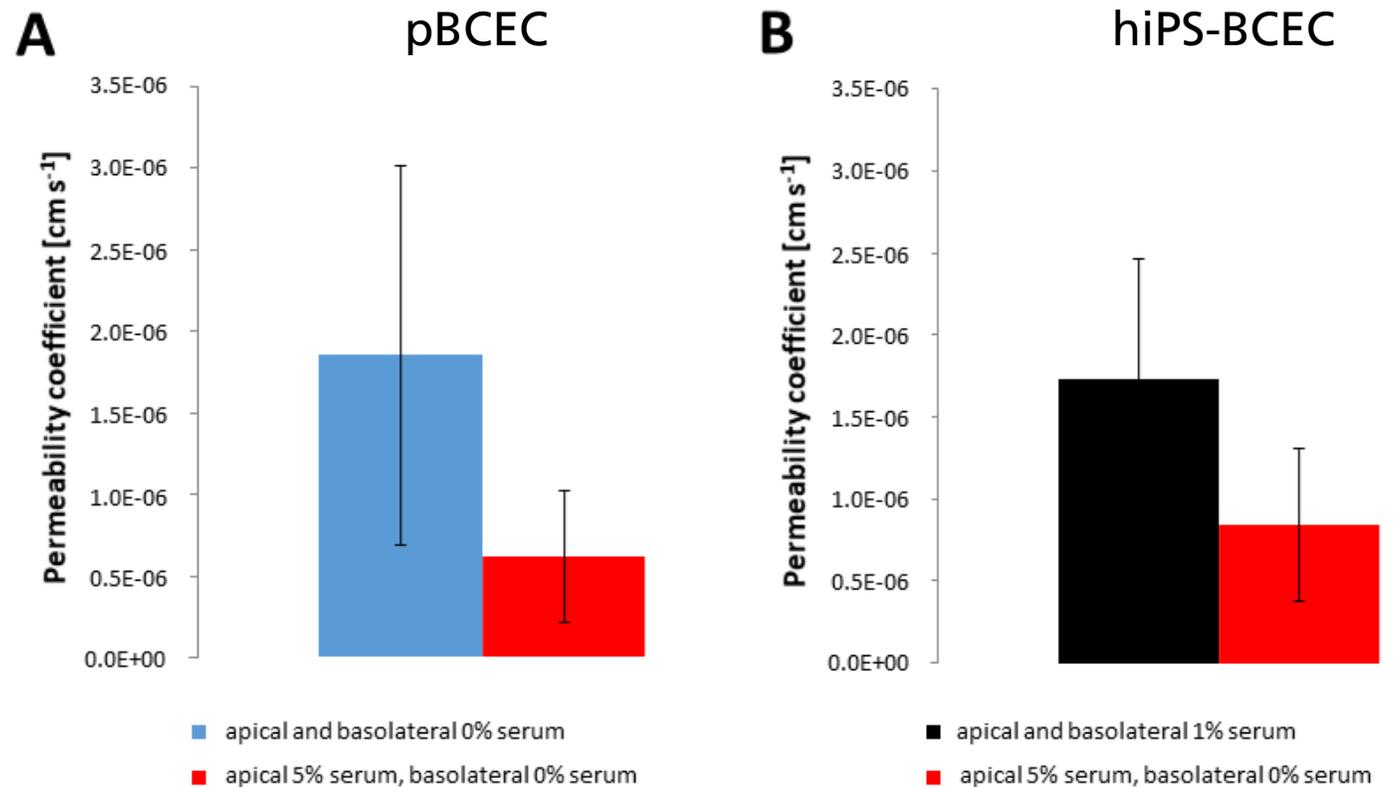
- TEER-Werte sind in beiden Modellen mit In-vivo-ähnlicher Serumverteilung verbessert



Publication submitted

# Einfluss der Serumverteilung auf die Barriereigenschaften – Permeabilität

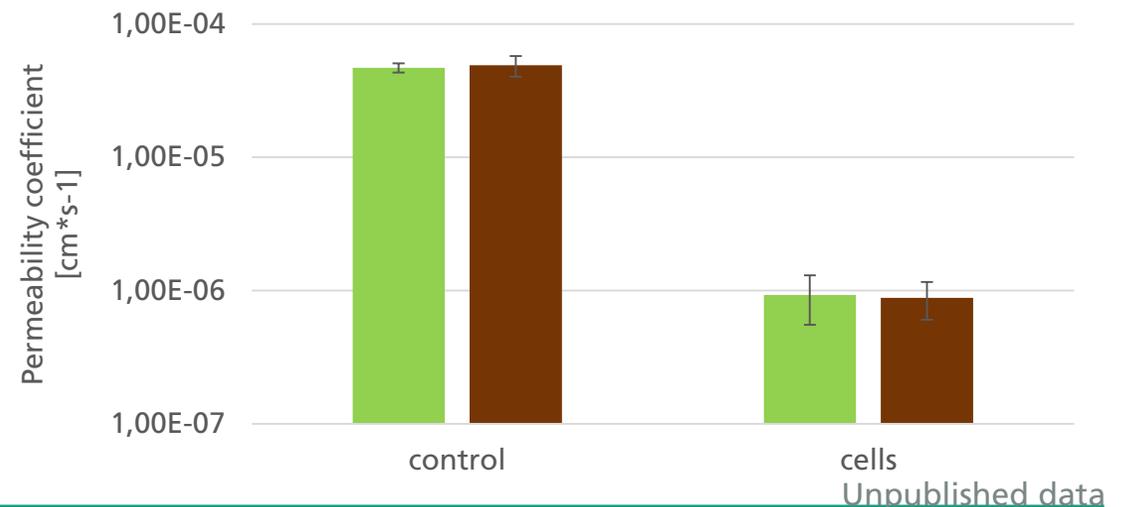
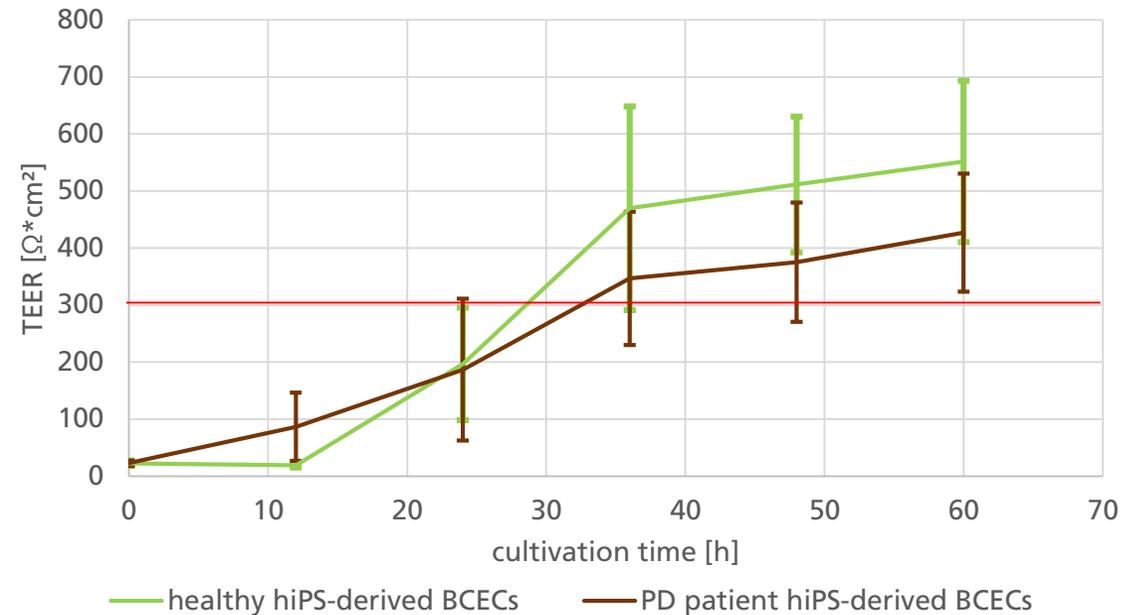
- Permeabilität gegenüber Markersubstanz wird gesenkt
  - Entspricht physiologischer Situation
  - Modellsysteme können durch selektiven Serumeinsatz verbessert werden und spiegeln die In-vivo-Situation besser wieder



Publication submitted

# Krankheitsmodelle aus hiPS-Zellen

- Durch hiPS-Zellen ist Entwicklung krankheitsspezifischer Modelle möglich
  - Breite Einsatzmöglichkeiten in der Erforschung krankheitsspezifischer Prozesse und deren Einfluss auf Aufnahme und Transport von pharmakologischen Stoffen
- hiPS-basierte Modellsysteme setzen sich durch als Mittel der Wahl



# Einsetzbarkeit der Modelle in pharmakologischen Studien

- hiPS-basierte Blut-Hirn-Schranken-Modelle besonders gut einsetzbar für Hochdurchsatzversuche
- Für Entwicklung krankheitsspezifischer Therapeutika Einsatz entsprechender krankheitsspezifischer Modelle im Vergleich zu gesunden Vergleichsmodellen nutzbar
- Durch humanen Zellursprung und In-vivo-ähnlichen Einsatz der Serum-Verfügbarkeit sind prädiktive Eigenschaften gegenüber Modellen tierischen Ursprungs zu erwarten
- Etablierung der Modelle und Durchführung von Studien unter notwendigen Qualitätskriterien (ISO, GLP) gut umsetzbar



GLP Kategorie 9: Biologische und mikrobiologische Sicherheitsprüfungen an Medizinprodukten, Arzneimitteln und Zelltherapeutika

# Danksagung

- Kollegen am Fraunhofer IBMT
- Partner von
  - Universität des Saarlandes
  - Eberhard-Karls-Universität Tübingen
  - Instituto de Salud Carlos III

# Förderung

- Bundesministerium für Wirtschaft und Energie
  - Programm ZIM: Projekt NanoDopa



- EU-Kommission
  - Programm FET-OPEN (Horizon 2020)



**Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!**



Karin Danz, Abteilung Bioprozesse & Bioanalytik  
[karin.danz@ibmt.fraunhofer.de](mailto:karin.danz@ibmt.fraunhofer.de)