

MATTHIAS TAUPITZ / BERND HAMM

Magnetische Nanopartikel

Klinische Forschergruppe 213

Die KFO 213 »Magnetische Eisenoxid-Nanopartikel für die Zelluläre und Molekulare MR-Bildgebung« ist eine von derzeit vier DFG-geförderten Klinischen Forschergruppen (KFO) an der Charité – Universitätsmedizin Berlin. In insgesamt 9 wissenschaftlichen Teilprojekten arbeiten Wissenschaftler der Radiologie, der kardiovaskulären Medizin und der Neurowissenschaften der Charité sowie der physikalischen Messtechnik der PTB Berlin zusammen. Einen Schwerpunkt der Arbeiten bildet die Herstellung verschiedener unspezifischer und spezifischer magnetischer Nanopartikel als Marker (Kontrastmittel) für die Magnetresonanz (MR)-Bildgebung und deren biologische, chemische und magnetische Charakterisierung. Des Weiteren werden verschiedene biomedizinische Anwendungen derartiger Partikel einschließlich ihres empfindlichen Nachweises erforscht (Abb. 1).

Mit diesen Forschungsaktivitäten werden, im Sinne der biomedizinischen Grundlagenforschung, mit Methoden der zielgerichteten MR-Bildgebung (Magnetresonanztomographie) an entsprechenden Krankheitsmodellen durch Darstellung von Prozessen auf zellulärer und molekularer Ebene neue Erkenntnisse über Krankheitsentstehung und Krankheitsprogression erarbeitet (i.e. mit Methoden der Zellulären und Molekularen MR-Bildgebung). In der KFO 213 liegen hierzu die Schwerpunkte auf der Atherosklerose, derzeit Ursache Nummer eins für Morbidität und Mortalität in den entwickelten Ländern, sowie auf neurologischen Erkrankungen, wie Multiple Sklerose und Schlaganfall. Zudem wird mit Hilfe der magnetischen Zellmarkierung die Rolle verschiedener Immunzellpopulationen bei pathologischen Prozessen im Zentralen Nervensystem im Rahmen von Infarkt, Inflammation und Tumorstadium erforscht. Die KFO 213 wurde Ende 2008 eingerichtet, nachdem das vorgeschriebene zweistu-



fige Antragsverfahren mit einer positiven Evaluation durch die DFG abgeschlossen wurde. Die erforderliche finanzielle Beteiligung der Fakultät und der beteiligten Institute und Kliniken mit 50% an den Projektkosten der KFO 213 ist mit einer strukturbildenden Maßnahme zum Themenbereich Nanomedizin an der Charité verbunden. Diese strukturbildende Maßnahme besteht zum einen aus der bereits erfolgten Einrichtung einer W2-Professur im Jahr 2008 für die Leitung der Klinischen Forschergruppe sowie in der zukünftigen Verstärkung von Mitteln für einen Grundstock an Personal für den Forschungsbereich »Magnetische Eisenoxid-Nanopartikel«, vorbehaltlich einer positiven Zwischenevaluation der Klinischen Forschergruppe durch die DFG. Zum anderen erfolgte im Jahr 2010 bereits eine Erweiterung der Labor- und Büroflächen für die Arbeitsgruppen der experimentellen Radiologie, die an der KFO 213 beteiligt sind, deren Ressourcen auch den anderen an der KFO 213 beteiligten Arbeits-



gruppen zur Verfügung stehen (Abb. 2). Mit der Einrichtung der Klinischen Forschergruppe wurden auch einige

zentrale Aspekte des »Masterplans Gesundheitsregion Berlin« aufgegriffen. Exemplarisch seien hier die Nanotechnologie, Molekulare Bildgebung, in-vivo-Bildgebung sowie die Wirkstoffentwicklung

Abb. 1
 Struktur der Klinischen Forschergruppe mit ihren Teilprojekten (TP, äußere Säulen) und Bezug zu den Tätigkeitsfeldern der Zellulären und Molekularen Bildgebung (mittlere Säule). Die rot markierten TP bilden ein Cluster zu Synthese, Analytik und Funktionalisierung verschiedener Eisenoxid-Nanopartikeln und deren Testung an unterschiedlichen biologischen Systemen (Zellkultur, in vivo). Aus diesem Cluster heraus werden den anderen TP Eisenoxid-Nanopartikel zur Verfügung gestellt. Die hellblau markierten TP bilden ein Cluster zur Erforschung der Wechselwirkung verschiedener Eisenoxid-Nanopartikel mit Strukturen atherosklerotischer Plaques mit dem Ziel, in Zukunft am Menschen gefährliche Gefäßwandveränderungen (vulnerable Plaque) bildgebend mittels Magnetresonanztomographie und damit nicht-invasiv nachweisen zu können. Im gelb markierten neurowissenschaftlichen Cluster werden mit Hilfe geeigneter Eisenoxid-Nanopartikel die Rolle von Immunzellen bei verschiedenen Pathologien des zentralen Nervensystems untersucht und Möglichkeiten erforscht, Multiple Sklerose oder Hirntumoren besser bildgebend darzustellen. Das TP zur Messtechnik (weiß markiert) erarbeitet neue Methoden zur empfindlichen Quantifizierung der in dieser Klinischen Forschergruppe entwickelten sehr kleinen Eisenoxid-Nanopartikel und führt für alle anderen TP Untersuchungen von Gewebeproben durch, die Eisenoxid-Nanopartikel enthalten und charakterisiert für das Zentralprojekt (Z-Projekt) derartige Partikel im Rahmen der Optimierung von Herstellungsparametern.

thias Taupitz. Die Leiter der einzelnen Teilprojekte sind in der Übersicht am Schluss des Beitrags aufgelistet.

Forschung

Eisenoxid-Nanopartikeln wurden bereits vor etwa 50 Jahren in der biomedizinischen Forschung zur Untersuchung von Transportvorgängen auf zellulärer und subzellulärer Ebene und zur Markie-

zu nennen. Darüber hinaus ist in dieser Klinischen Forschergruppe ein relevanter Beitrag zur Stärkung des Gebietes der Molekularen Bildgebung sowie der Nanotechnologie für biomedizinische Anwendungen in der Hauptstadtregion zu sehen. Sprecher der KFO 213 ist Prof. Dr. Bernd Hamm. Die Leitung liegt bei Prof. Dr. Mat-

Abb. 2
 Interdisziplinäres Centrum für Moderne Bildgebung mit Forschungsflächen für die Klinische Forschergruppe »Magnetische Nanopartikel« im Nordflügel der Inneren Klinik der Charité – Campus Mitte (neben anderen Forschungslaboren und Arbeitsgruppen). Eingang Virchowweg 11 und Blick in das Labor der Experimentellen Radiologie.



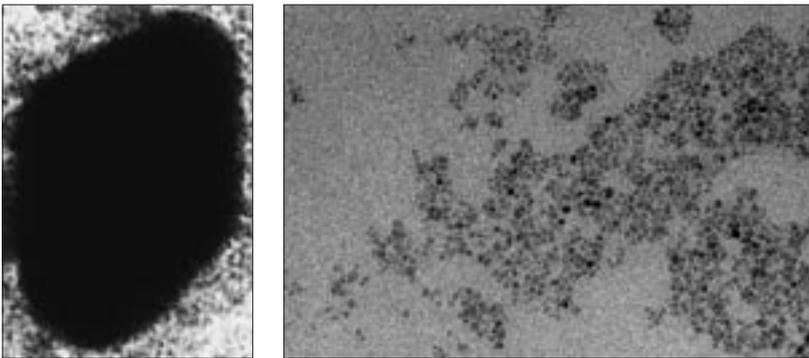
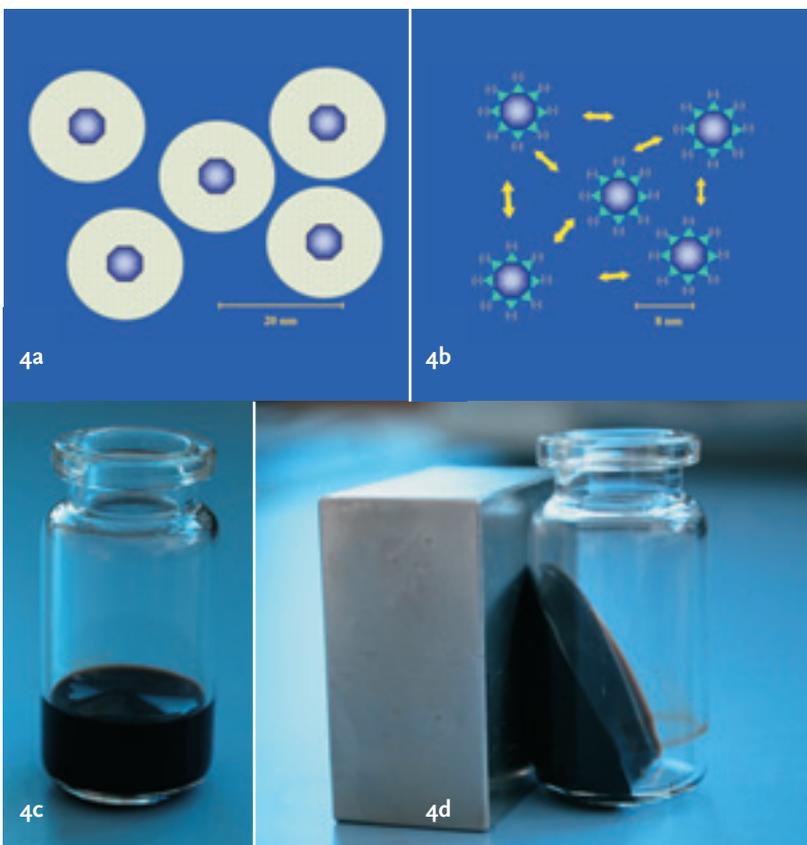


Abb. 3
Eisenoxid-Nanopartikel in der Transmissionselektronenmikroskopie. Die Übersicht (rechts) zeigt Partikel, wie sie im Zentralprojekt der Klinischen Forschergruppe hergestellt werden. Diese haben sehr einheitliche Partikeldurchmesser (ca. 4 nm), was eine wichtige Voraussetzung für die Korrelation von Partikeleigenschaften mit biologischem Verhalten ist, sei es in Zellkultur oder in vivo. Die Vergrößerung (links) zeigt für Eisenoxid-Nanopartikel die charakteristische romboide Form, die aus der Spinel-Kristallstruktur resultieren.



nung von Komponenten der extrazellulären Gewebematrix genutzt. Die elektronendichte Eisenoxidstruktur macht diese Partikel zu einem idealen histochemischen Farbstoff für den direkten elektronenmikroskopischen Nachweis.

Im Gegensatz zu den heute für die MR-Bildgebung im Zentrum der Forschung stehenden Eisenoxid-Nanopartikel basierten diese früher verwendeten Teilchen auf einem nicht-magnetischen Eisenoxid – zumeist dem nicht-magnetischen Goethit in einer Kristallitgröße von 5–7 nm. Allerdings hat man bereits damals diese Nano-Teilchen mit einer biokompatiblen Hülle aus Zucker versehen, um Transportvorgänge im Kapillarbett vom Gefäßlumen in das Gewebe elektronenmikroskopisch zu erforschen.

Das Eisen ist ein reaktives Element und bildet mit Sauerstoff mehr als 16 verschiedene Formen der Eisenoxide. Von all diesen Eisenoxid-Formen besitzt nur das Magnetit und die weiter oxidierte Form das Maghämät die erforderlichen magnetischen Eigenschaften, um sie in Form von Nanopartikeln (i.e. Magnetit-Maghämät-Nanopartikel) als Marker bzw. Kontrastmittel für die Magnetresonanztomographie einsetzen zu können (Abb. 3). Aufgrund ihrer magnetischen Eigenschaften können diese Magnetit-Maghämät-Nanopartikel auch mit anderen magnetischen Messmethoden, wie z.B. mit der Magnetrelaxometrie und Suszeptometrie, nachgewiesen und vermessen werden.

Am Rande sei bemerkt, dass Eisenoxid-Kristalle aus Magnetit-Maghämät als biogene Metalloxi-

Abb. 4
Größenvergleich von Polymer-ummantelten (a) und Monomer-ummantelten (b) Eisenoxid-Nanopartikeln. Eine Aggregation der Partikel wird entweder durch eine sterische Stabilisierung durch die Polymerbeschichtung oder durch die elektrostatische Abstoßung des geladenen monomeren Hüllmaterials erreicht. Bei entsprechender Stabilisierung bleiben die Eisenoxid-Nanopartikel dieser Ferrofluide auch unter Einwirkung eines Magnetfeldes in Lösung (c: ohne Magnetfeld, d: mit Magnetfeld).

form (sog. Magnetosomen) in bestimmten magnetotaktischen Bakterien vorkommen und diesen zur Orientierung im Erdmagnetfeld dienen. Auch im Gehirn von Tauben und anderen Spezies, u.a. des Menschen, werden derartige Partikel in Zusammenhang mit Magnetotaxis gebracht. Somit sind diese Nanopartikel auf Basis der magnetischen Eisenoxide physiologische Stoffe, auch wenn sie endogen nur in sehr geringer Menge vorkommen.

Um synthetische Partikel in vivo in der experimentellen oder in der klinischen Anwendung als magnetische Marker für die intravenöse Injektion einsetzen zu können, ist eine Umhüllung der Partikel (Coating) unentbehrlich. Mit dieser Umhüllung werden die Partikel in der wässrigen Lösung am Aggregieren und am Sedimentieren gehindert.

Besonders einfach gelingt die Herstellung einer Umhüllung aus Zuckerpolymeren wie Stärke oder Dextran (sterische Stabilisierung, Abb. 4 a). Dadurch haben die Teilchen einen großen Durchmesser und die Zuckerhülle führt dazu, dass die Partikel nach mehr oder weniger langer Zirkulation im Blut nahezu ausschließlich von Zellen des klärenden Systems im Körper, dem Mononukleären Phagozytierenden System aufgenommen werden. Besonders zahlreich sind diese Zellen in der Leber (Kupffersche Sternzellen). Daher ist die bisher einzige klinische Anwendung dieser Partikel die eines Kontrastmittels für die MRT-Diagnostik der Leber (z.B. als Produkte der Firma Guerbet, Paris oder bis 2010 der Firma Bayer-Schering Pharma).

In unserer klinischen Forschergruppe stehen magnetische Eisenoxid-Nanopartikel im Zentrum der Forschung, die als primäres Hüllmaterial mit einer dünnen Beschichtung aus biologischen monomeren Molekülen stabilisiert sind, wie z.B. Polycarbonsäuren, Aminosäuren, Aminoalkohole. Diese

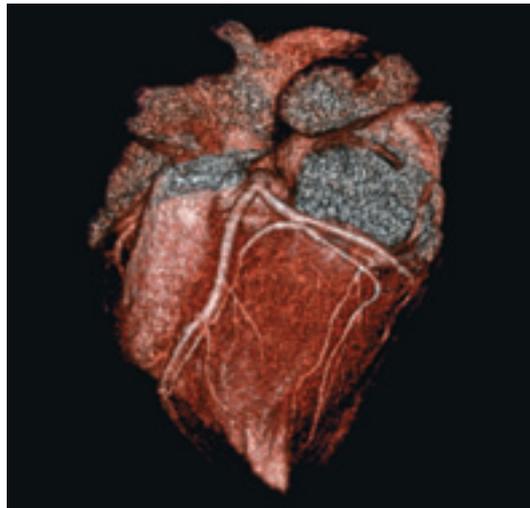


Abb. 5

Unspezifische Anwendung von Eisenoxid-Nanopartikeln für die Gefäßdarstellung in der MR-Bildgebung, hier am Beispiel der Herzkranzgefäße (experimentelle Untersuchung). Die lange Zirkulationszeit und der starke signalsteigernde Effekt von Zitrat-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikeln ermöglicht die Abbildung (MR-Angiographie in 3D) auch von kleinen Gefäßen unter schwierigen Aufnahmebedingungen, wie es am schlagenden Herzen unter Atembewegung der Fall ist.

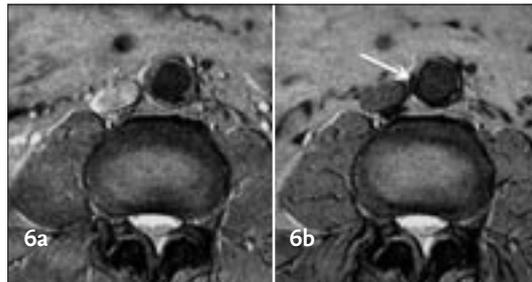
stabilisierenden Moleküle gehen eine Komplexbindung mit der Metalloberfläche der Eisenoxid-Nanopartikel ein. Ladungsgruppen, die nicht in die Oberflächenbindung eingehen, bewirken eine nach außen gerichtete Oberflächenladung, die durch eine elektrostatische Abstoßung eine Aggregation der Teilchen verhindert (elektrostatische Stabilisierung, Abb. 4 b). Dadurch kann man selbst mit einem starken Magneten die wässrige Dispersion dieser Teilchen bewegen und die magnetischen Teilchen werden nicht durch den Magneten aus der Flüssigkeit separiert (Abb. 4 c, d).

Dieses Hüllmaterial kann unterschiedliche Funktionen haben:

1) Die primären Hüllmoleküle dienen als Transporter, um eine Zirkulation der Partikel nach intravenöser Injektion im Blut zu ermöglichen. Dies ermög-

Abb. 6

Zelluläre in vivo Bildgebung der Atherosklerose. In der nativen MR-Untersuchung der Aorta ist die Wand der Aorta leicht verdickt, jedoch gleichmäßig hell (a). Nach intravenöser Injektion von magnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln treten dunkle Regionen in der Aortenwand auf (b, Pfeil), die auf die Akkumulation der Partikel durch Entzündungszellen hindeuten (Studie, nach Taupitz et al, Superparamagnetic iron oxide particles: current state and future development. *Rofo* 175, 752–765 (2003)). Die nicht-invasive Darstellung von derartigen entzündlichen Veränderungen in der Gefäßwand könnte in Zukunft wichtige Zusatzinformationen gegenüber dem alleinigen Nachweis von Gefäßverengungen (Stenosen) mittels Katheterangiographie liefern. Entzündliche Gefäßwandveränderungen an den Herzkranzgefäßen und Halsschlagadern werden heute als wichtiger Faktor für das Auftreten von Herzinfarkt oder Schlaganfall angesehen und sind derzeit nicht mittels nicht-invasiver Verfahren erfassbar.



licht die Darstellung des Blutpools im Sinne einer MR-Angiographie (Abb. 5). Liegt ein Krankheitsprozess mit einer Vermehrung von phagozytierenden Zellen vor – dies sind nahezu alle inflammatorischen Prozesse – werden die Partikel während ihrer Zirkulation dort akkumuliert, und führen im MR-Bild dort zu einer Signaländerung (Abb. 6). Für die elektrostatisch stabilisierten Partikel existiert nach Erkenntnissen aus der Klinischen Forschergruppe ein weiterer interessanter Targetingmechanismus. In entzündlichem Gewebe kann das Hüllmaterial von körpereigenen komplexierend wirkenden Molekülen verdrängt werden und die Eisenteilchen gehen eine Bindung mit stark geladenen biologischen Molekülen ein, wie z.B. Komponenten der Extrazellulärmatrix.

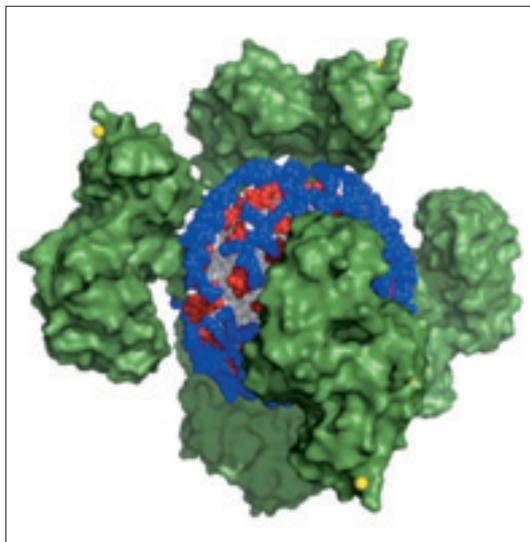


Abb. 7

Modell eines zielgerichteten Eisenoxid-Nanopartikels, an dessen Kern mehrere Annexin-A5 Moleküle elektrostatisch gekoppelt sind (Schellenberger et al. Linking proteins with anionic nanoparticles via protamine: ultrasmall protein-coupled probes for magnetic resonance imaging of apoptosis. *Small* 4, 225–230 (2008)). Annexin-A5 bindet im Körper an Zellen, die den Prozess des programmierten Zelltods durchlaufen (Apoptose). Mit einer derartigen Sonde als Marker für die molekulare MR-Bildgebung könnte in Zukunft apoptotisches Gewebe, z.B. im Rahmen des Monitoring einer Tumorthherapie, nicht-invasiv dargestellt werden.

An das primäre Hüllmaterial können wiederum funktionelle, auch höhermolekulare Stoffe gebunden werden, die eine zielgerichtete Verteilung im Körper bewirken sollen. Zwei Ansätze, wie sie in der Klinischen Forschergruppe 213 verfolgt werden, sind:

2) Sekundäre Hüllmoleküle dienen als Transporter und gleichzeitig als Ligand zur Bindung an ein spezifisches Target. Das setzt voraus, dass die Bindung zwischen magnetischem Kern und dem primären Hüllmaterial sehr fest ist (Abb. 7).

Teilprojekte mit Teilprojektleitern

- 1) Funktionalisierung superparamagnetischer Nanopartikel als Plattform für targetspezifische Marker für die MRT und deren Anwendung für die Apoptose-Bildgebung. (E. Schellenberger, M. Taupitz)
- 2) Aufnahmemechanismen von magnetischen Nanopartikeln in an atherosklerotischer Plaquebildung beteiligten Zelltypen. (A. Ludwig, V. Stangl)
- 3) Untersuchungen zur lokalen Kinetik und zum Anreicherungsverhalten elektrostatisch stabilisierter magnetischer Nanopartikel in komplexen atherosklerotischen Plaques. (S. Wagner, M. Taupitz)
- 4) In vivo Untersuchung okkultier neuroinflammatorischer Prozesse in Mausmodellen der Multiplen Sklerose mit elektrostatisch stabilisierten magnetischen Nanopartikeln im Ultrahochfeld-MRT. (C. Infante-Duarte, J. Würfel)
- 5) MRT-Bildgebung von Inflammation und Therapiemonitoring mittels magnetischer Nanopartikel beim experimentellen Schlaganfall und Glioblastom. (C. Harms, M. Endres)
- 6) Invasion, Migration und Schicksal von monozytären Zellen nach axonaler Schädigung im ZNS: MR-tomographische Untersuchungen mit elektrostatisch stabilisierten, magnetischen Nanopartikeln. (J. Glumm, A. Bräuer)
- 7) Ultrakleine Biomimetische Nanopartikel für die zielgerichtete Molekulare und Zelluläre MR-Bildgebung. (E. Schellenberger, J. Schnorr)
- 8) Ortsaufgelöste Quantifizierung magnetischer Eisenoxid-Nanopartikel mittels SQUID-Magnetometrie. (L. Trahms)
- 9) Zentralprojekt: Zentrale Aufgaben zu Herstellung, Analytik und Histologie. (M. Taupitz, J. Schnorr)

Teilprojektleiter der Klinischen Forschergruppe

- Prof. Dr. rer. nat. habil. Jürgen Beuthan, ehemals Charité, AG Medizinische Physik und Optische Diagnostik, 2009 emeritiert.
- Prof. Dr. rer. medic. Anja Bräuer, Charité, Centrum für Anatomie, Institut für Zell- und Neurobiologie.
- Prof. Dr. med. Matthias Endres, Charité, Direktor, Klinik und Poliklinik für Neurologie, Center for Stroke Research Berlin.

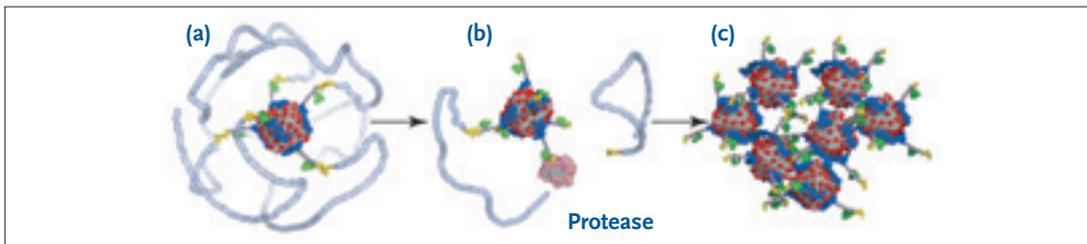


Abb. 8
Prinzip einer »smart probe« (intelligenten Sonde) auf der Basis der elektrostatisch stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikel (Schellenberger et al, Protease-Specific Nanosensors for Magnetic Resonance Imaging. Bioconjug Chem 19, 2440–2445 (2008)). In zahlreichen Pathologien sind Enzyme, die den Gewebeverband auflösen, vermehrt (z.B. Proteasen, Matrix-Metalloproteinasen (MMPs)). Wird das stabilisierende Hüllmaterial (a) über Molekülgruppen an den Kern gebunden, die von MMPs geschnitten werden können (b), so geht die stabilisierende Hülle verloren, die Partikel fallen am Ort hoher MMP-Konzentrationen aus und sind aufgrund der Aggregation besser nachweisbar (c).

3) Sekundäre Hüllmoleküle dienen als Transporter und sind von ihrem Aufbau so gestaltet, dass sie durch Enzyme, z.B. Proteasen abgespalten werden. Am Zielort aggregieren die Partikel und verstärken dadurch ihre magnetische Wirkung (Abb. 8).

Verschiedene Varianten der vorgenannten Partikel werden in den Teilprojekten der Klinischen Forschergruppe 213 eingesetzt. (siehe dazu nebenstehende Übersicht »Teilprojekte mit Teilprojektleitern«).

- Dr. med. Jana Glumm, Charité, Centrum für Anatomie, Institut für Zell- und Neurobiologie und Klinik für Neurochirurgie, Helios Klinikum Berlin-Buch.
- Dr. med. Christoph Harms, Charité, Klinik und Poliklinik für Neurologie, Center for Stroke Research Berlin.
- Dr. Carmen Infante-Duarte, Charité, Experimental & Clinical Research Center und Neurowissenschaftliches Forschungszentrum.
- Dr. rer. nat. Antje Ludwig, Charité, Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie, Angiologie.
- Prof. Dr. med. Robert Nitsch, vormals Charité, Centrum für Anatomie, Institut für Zell- und Neurobiologie, Ende 2009 nach Mainz berufen.
- Prof. Dr. med. Eyk Schellenberger, Charité, Institut für Radiologie, Experimentelle Radiologie.
- Dr. med. vet. Jörg Schnorr, Charité, Institut für Radiologie, Experimentelle Radiologie.
- Prof. Dr. med. Verena Stangl, Charité, Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie, Angiologie.
- Prof. Dr. med. Dipl.-Phys. Matthias Taupitz, Charité, Institut für Radiologie (Leiter der Klinischen Forschergruppe).
- Prof. Dr. rer. nat. Lutz Trahms, Direktor, Physikalisch-Technische Bundesanstalt.
- Dr. med. vet. Susanne Wagner, Charité, Institut für Radiologie, Experimentelle Radiologie.
- Dr. med. Jens Würfel, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Neuro-Cure Research Center, und Universität zu Lübeck, Institut für Radiologie.
- Prof. Dr. Frauke Zipp, vormals Charité, Cecilie Vogt Klinik, Anfang 2010 nach Mainz berufen.

Sprecher der Klinischen Forschergruppe
Prof. Dr. med. Bernd Hamm, Charité.



Prof. Dr. Matthias Taupitz
Jg. 1959, Stellvertretender Direktor der Klinik und Hochschulambulanz für Radiologie (Campus Benjamin Franklin), Leiter der AG Experimentelle Radiologie (Campus Charité Mitte), Leiter der Klinischen Forschergruppe 213.



Prof. Dr. Bernd Hamm
Jg. 1953, Direktor des Instituts für Radiologie (Campus Charité Mitte), Klinik für Strahlentherapie (Campus Virchow-Klinikum) und Klinik und Hochschulambulanz für Radiologie (Campus Benjamin Franklin), Centrusleiter des CharitéCentrum o6 für diagnostische und interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin. Sprecher der Klinischen Forschergruppe 213.

Charité – Universitätsmedizin Berlin
Charitéplatz 1 / D-10117 Berlin

Tel.: +49 30 450-566 122 / Fax: +49 30 450-566 922

E-Mail: matthias.taupitz@charite.de / bernd.hamm@charite.de