

Mikroraketen mit Eigenantrieb zum Einfangen und Isolieren zirkulierender Tumorzellen

Weiwei Gao und Omid C. Farokhzad*

Krebs · Mikromaschinen · Nanoroboter ·
Nanotechnologie · Tumorzellen

Der erste Bericht über zirkulierende Tumorzellen (CTCs) kann bis 1869 zurückverfolgt werden, als Thomas Ashworth, ein australischer Arzt, Tumorzellen im Blut eines Patienten bemerkte, der einem fortgeschrittenen metastasierenden Krebsgeschwür erlag.^[1] Seitdem hat die Krebsforschung die wesentliche Rolle bestätigt, die CTCs bei der Metastasenausbreitung von Karzinoma spielen. Außerdem enthalten CTCs Schlüsselinformationen darüber, wie Tumor-Genotypen während der Krebsentwicklung entstehen. Deshalb bieten Techniken, mit denen reinere CTC-Populationen aus Blutproben erhalten werden können, wirksame Mittel für die frühe und nichtinvasive Krebserkennung, zusammen mit der Prognose von Therapieerfolgen und Tumorentwicklung. Ungeachtet ihrer Bedeutung sind CTCs in Wirklichkeit sehr selten. Einige CTCs, die sich von metastasierenden Tumoren abgelöst haben, vermischen sich mit ungefähr 10 Millionen Leukozyten und 5 Billionen Erythrozyten in 1 mL Blut, was ihre Detektion und Isolierung zu einer anspruchsvollen technischen Aufgabe macht.^[2]

Wegen der geringen Häufigkeit zirkulierender CTCs beruhen die Methoden für ihre Detektion auf zwei Schritten: der Anreicherung der CTCs aus dem Blut, gefolgt vom Nachweis der CTCs in der aufgereinigten Probe. Ansätze, die die Anreicherung oder den Nachweis der CTCs verbessern, sind ein sehr vielversprechendes Forschungsgebiet. CellSearch ist bis heute der einzige von der FDA (U.S. Food and Drug Administration) genehmigte Assay und steht für die Detektion von CTCs aus dem Blut von Patienten mit Brust-, Prostata- und Darmkrebs zur Verfügung. Der Assay beruht auf der immunmagnetischen Abtrennung von Zellen, die epitheliale Zelladhäsionsmoleküle (EpCAM) aufweisen, aus dem Vollblut, gefolgt von der Analyse von infrage kommenden immunmarkierten CTCs. AndoTest, der sich immer noch in der Entwicklung befindet, basiert auf immunmagnetischer Abtrennung von CTCs, gefolgt von Multiplex-RT-PCR (RT-PCR = Echtzeit-Polymerasekettenreaktion) zur Quantifizierung von tumorassoziierten RNA-Transkripten. Der zweite Ansatz ist zwar theoretisch empfindlicher, hat aber den Nachteil, dass er keine quantitativen oder morphologischen

Information über die CTCs liefert; er kann jedoch eine ergänzende Rolle bei CTC-Nachweisen spielen.

Die Nanotechnologie hat eine Vielzahl von immer empfindlicheren und besser reproduzierbaren Techniken zum Nachweis von menschlichen CTCs aus Blutproben ermöglicht.^[3] Zum Beispiel wurde zur Isolierung von CTCs eine Reihe von Strategien entwickelt, die auf den unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften von zirkulierenden Erythrozyten und Leukozyten (wie Größe, Dichte, Ladung, Migrationsverhalten) und spezifischen zelltypischen Merkmalen (wie melanozytäre Granula in Melanomzellen) beruhen. Indes bleiben tumorassoziierte Antigene und Immunseparation mit Durchflusszytometrie oder immunmagnetische Techniken die präziseren Methoden, um CTCs von anderen Zellen im Kreislauf zu unterscheiden. Kürzlich wurden EpCAM-funktionalisierte Mikroposts innerhalb von Mikrofluidikkänen entwickelt, um CTCs unter genau kontrollierten Sterilbank-Bedingungen einzufangen, womit möglicherweise die Zahl von CTC-Verlusten und falsch-negativen Ergebnissen reduziert wird.^[4]

Kürzlich berichtete eine Forschergruppe um Zhang und Wang an der University of California, San Diego, (UCSD) von einem neuartigen Ansatz zur Erfassung von CTCs.^[5] In ihrer Arbeit wurde eine „Mikrorakete“ mit Eigenantrieb entwickelt, die während der Durchquerung einer Zellmischung selektiv CTCs einsammelte und anschließend die eingefangenen Zellen zum gewünschten Zielort transportierte. Einen neuerlichen Fortschritt in der Nanotechnologie bieten Ladungstransport-Plattformen mit Eigenantrieb.^[6] Wie durch die von der UCSD-Gruppe entwickelte Mikrorakete gezeigt wurde, eröffnen die Mikroraketen wahrscheinlich viele neue Möglichkeiten für eine einfache, schnelle und effektive Erfassung und Isolierung von biologischen Zielstrukturen aus komplexem Medium.

Die Mikrorakete der UCSD-Gruppe ist ein neues Beispiel dafür, wie Nanotechnologie den Zusammenbau verschiedener Funktionalitäten zu Nano- und Mikrobaulementen ermöglicht, die dann bei der Bewältigung biomedizinischer Probleme zum Einsatz kommen können. Hier ist es die geschickte und komplexe Kombination von Energienutzung und -erzeugung, Bewegungskontrolle sowie biologischer Funktionalisierung, die schließlich zu einer Anwendung der Mikroraketen bei der CTC-Isolierung führt.

Die Mikrorakete von Wang, Zhang et al. besteht aus einer aufgerollten Metallplatte, die sich von innen nach außen aus

[*] Dr. W. Gao, Prof. Dr. O. C. Farokhzad
Laboratory of Nanomedicine and Biomaterials
Department of Anesthesiology, Brigham and Women's Hospital
Harvard Medical School, 75 Francis Street, Boston, MA 02115 (USA)
E-Mail: ofarokhzad@zeus.bwh.harvard.edu

Platin, Eisen und Gold zusammensetzt. Die innere Platinschicht wandelt Peroxide in Sauerstoff und Wasser um. Da das hohle Zentrum der Mikrorakete kegelförmig ist, bewegen sich die Sauerstoffbläschen nur durch eine Öffnung und produzieren so eine Antriebskraft in eine Richtung. Die mittlere Eisenschicht ermöglicht Forschern die Steuerung der Mikrorakete durch ein externes magnetisches Feld. Die äußere Goldschicht kann mit Antikörpermolekülen dekoriert werden, die das in Darm-, Magen und Pankreaskrebs überexprimierte karzinoembryonische Antigen (CEA) als Zielstruktur aufweisen. Die Spezifität des Antikörpers erlaubt Mikroraketen, die interessierenden Zellen aufzuspüren und einzufangen und die Zellen, die nicht zur Zielgruppe gehören, zu verschonen. Mithilfe eines externen magnetischen Feldes können Mikroraketen die eingefangenen Zellen zu einem bestimmten Zielort transportieren.

Um eine erfolgreiche CTC-Isolierung durch Mikroraketen zu erreichen, meisterten Wang, Zhang und Mitarbeiter viele Hindernisse. Zum Beispiel ist im Allgemeinen ein ausreichender Energieantrieb für mikroskopische Maschinen mit Eigenantrieb eine anspruchsvolle Aufgabe, da sich Flüssigkeiten in mikroskopischen Maßstäben stark viskos verhalten. Eine enorme Schwierigkeit besteht darin, dass die Mikrorakete in biologischen Flüssigkeiten arbeiten und CTCs von beachtlicher Größe aufladen muss. Um diese Hürde zu bewältigen, verwendete das Team einen zuvor entwickelten, katalytischen mikrotubulären „Düsenmotor“.^[7] Die hohle Struktur des Motors minimiert das Mikroraketengewicht, und das aufgerollte Design erweitert beim Motor das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen. Dadurch erlangt die Mikrorakete genug Energie, um sich mit einer relativ hohen Geschwindigkeit zu bewegen (ca. $85 \mu\text{m s}^{-1}$ in einem verdünnten Serum-haltigen Medium). Bemerkenswerterweise verringerte sich die Geschwindigkeit im gleichen Medium nach CTC-Beladung nur unwesentlich von 85 auf $80 \mu\text{m s}^{-1}$. Wang, Zhang und Mitarbeiter widmeten sich auch einem anderen Problem, indem sie bioaktive Antikörper einbauten, ohne das „Energiesystem“ der Mikrorakete zu beeinträchtigen. Die Autoren profitierten wiederum vom mikrotubulären Düsenmotor, der die katalytischen Zentren ausschließlich auf seine innere Oberfläche begrenzte. So wurde die äußere Oberfläche für chemische Modifikationen freigehalten, was es den Autoren ermöglichte, eine Schicht aus Gold anzufertigen und daran durch gewöhnliche Konjugationsreaktionen Anti-CEA-Antikörper zu binden. Eine zusätzliche Hürde, der die Autoren begegneten, bestand darin, dass die Mikrorakete leicht zu steuern sein muss, besonders wenn sie eingefangene CTCs transportiert. Um die Mikrorakete in komplexem Medium besser manövrieren zu können, erhöhten die Autoren die Dicke der Eisenschicht, was zu einer größeren Magnetkraft führte. Insgesamt haben Wang, Zhang und Mitarbeiter mit ihrer Mikrorakete demonstriert, dass die mikroskopischen Maschinen, die von Miniaturmotoren angetrieben werden, biologisch funktionalisiert werden und trotz der hohen Ionenstärke und Viskosität eine große zelluläre Ladung in biologischen Flüssigkeiten transportieren können.

Wie die an der UCSD entwickelte Mikrorakete belegt, können Lasten transportierende mikroskopische Maschinen

eine Vielzahl biologischer In-vitro-Anwendungen finden, z. B. dynamischer Materialzusammenbau, gesteuerter Wirkstofftransport und bewegungsgesteuerte Molekülerfassung. Vor dem Einsatz dieser Maschinen im Mikro- und Nanomaßstab bei In-vivo-Anwendungen (z. B. effizienteres Wirkstoff-Targeting, Stammzellen-Rekrutierung und In-situ-Wundheilung) sind jedoch noch große Hindernisse zu überwinden. Besondere Aufmerksamkeit erfordert die effiziente und biokompatible Energiegewinnung. Die Mikrorakete der UCSD-Gruppe nutzt die Energie von H_2O_2 , das dem Medium zugegeben wird. Für zukünftige In-vivo-Anwendungen müssen eindeutig alternative Energiequellen aufgetan werden. Ein Ansatz ist, Treibstoff-freie Nanomotoren zu bauen, indem ein Antrieb durch externe elektromagnetische Felder entwickelt wird. Zum Beispiel berichtete die gleiche Gruppe kürzlich über „Treibstoff-freie“, magnetisch gesteuerte Metallnanokabel und erzielte eine genaue und einstellbare Vorwärts („Drücken“) und Rückwärtsbewegung („Ziehen“).^[8] Inspiriert von den komplexen mechanischen Aufgaben, die Motorproteine in lebenden Systemen vollbringen, haben Forscher währenddessen Proteinbausteine dazu verwendet, biologische Motoren zur Energieversorgung und Manipulation von Nanokomponenten zusammenzusetzen.^[9] Diese Erfindungen eröffnen viele Möglichkeiten für zukünftige In-vivo-Anwendungen, die noch auf ihre Erforschung warten. Wenn diese Entwicklung anhält, dürften mikroskopische, selbstangetriebene Maschinen Fortschritte in einem weiten Bereich biomedizinischer Anwendungen beim Wirkstofftransport und in der Gewebekonstruktion erleichtern.^[10,11]

Eingegangen am 9. Mai 2011

Online veröffentlicht am 4. Juli 2011

- [1] T. R. Ashworth, *Aust. Med. J.* **1869**, 14, 146.
- [2] T. A. Yap, S. K. Sandhu, P. Workman, J. S. de Bono, *Nat. Rev. Cancer* **2010**, 10, 514.
- [3] M. Yu, S. Stott, M. Toner, S. Maheswaran, D. A. Haber, *J. Cell Biol.* **2011**, 192, 373.
- [4] S. Maheswaran, L. V. Sequist, S. Nagrath, L. Ulkus, B. Brannigan, C. V. Collura, E. Inserra, S. Diederichs, A. J. Iafrate, D. W. Bell, S. Digumarthy, A. Muzikansky, D. Irimia, J. Settlement, R. G. Tompkins, T. J. Lynch, M. Toner, D. A. Haber, *N. Engl. J. Med.* **2008**, 359, 366.
- [5] S. Balasubramanian, D. Kagan, C. J. Hu, S. Campuzano, M. J. Lobo-Castanon, N. Lim, D. Y. Kang, M. Zimmerman, L. Zhang, J. Wang, *Angew. Chem.* **2011**, 123, 4247; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 4161.
- [6] a) Y. Mei, G. Huang, A. A. Solovov, E. B. Ureña, I. Mönch, F. Ding, T. Reindl, R. K. Y. Fu, P. K. Chu, O. G. Schmidt, *Adv. Mater.* **2008**, 20, 4085; b) A. A. Solovov, S. Sanchez, M. Pumera, Y. F. Mei, O. G. Schmidt, *Adv. Funct. Mater.* **2010**, 20, 2430; c) S. Sanchez, A. A. Solovov, S. Schulze, O. G. Schmidt, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 698.
- [7] A. A. Solovov, Y. Mei, E. B. Ureña, G. Huang, O. G. Schmidt, *Small* **2009**, 5, 1688.
- [8] W. Gao, S. Sattayasamitsathit, K. M. Manesh, D. Weihs, J. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 14403.
- [9] M. G. L. van den Heuvel, C. Dekker, *Science* **2007**, 317, 333.
- [10] W. Gao, J. M. Chan, O. C. Farokhzad, *Mol. Pharm.* **2010**, 7, 1913.
- [11] T. Dvir, B. P. Timko, D. S. Kohane, R. Langer, *Nat. Nanotechnol.* **2011**, 6, 13.