

Zellverkapselung in der Diabetologie

Inselzellen vor dem Immunangriff schützen

Über 18 Millionen Menschen leiden an Typ-1-Diabetes (T1D) und sind auf regelmäßige Insulininjektionen angewiesen, um zu überleben. Selbst trotz genauer Befolgung aller Dosierungsrichtlinien sind T1D Patienten ständig in Gefahr, lebensbedrohliche Attacken von Unterzucker zu erleiden und langfristig Organschäden zu entwickeln.

Das T1D zugrundeliegende Absterben der Betazellen ist irreversibel. Die derzeit einzige Chance für T1D Patienten, zu einem beschwerdefreien und unbeschwernten Lebensalltag zurückzukehren, ist eine Pankreas- oder Betazelltransplantation. Aber wie mit allen Organtransplantationen erfordert auch eine Pankreas- oder Betazelltransplantation die Anwendung von Immunsuppressiva, die aufgrund ihrer schwerwiegenden Nebenwirkungen den Preis für ein solches Transplantat sehr hoch erscheinen lassen.

Schutz vor Immunzellen

Deshalb gibt es intensive Bestrebungen, die transplantierten Betazellen auf mechanischem Wege vor einem Immunangriff zu schützen und so die Risiko/Nutzen Rechnung zu Gunsten der Betazelltransplantation zu beeinflussen. Dies kann durch eine Verkapselung von Betazellen mit semipermeablen Membranen erzielt werden. Deren Poren sind zwar groß genug, um Nährstoffe, Sauerstoff und Glukose zu den Zellen vordringen zu lassen und Insulin sowie Stoffwechselprodukte auszuschleusen, aber doch klein genug, um Zellen des Immunsystems den Zugang

zu verwehren (Abb. 1A). Es gibt verschiedene Konzepte von sogenannten bioartificialen Pankreaten. Je nach Form und Größe unterscheidet man intra- und extravaskuläre Systeme, und letztere unterteilen sich in Mikro- und Makrokapseln. Nach ursprünglichen Erfolgen im Tiermodell [1, 2] stellte sich heraus, dass intravaskuläre Systeme gravierende Sicherheitsmängel aufweisen, die sie für den klinischen Gebrauch ungeeignet machen. Extravaskuläre Makrokapseln gibt es als röhrenförmige und flache Diffusionskammern, die den Vorteil haben, dass sie leicht wiederauffindbar sind. Röhrenförmige Diffusionskammern zeichnen sich durch gute Biokompatibilität und Langlebigkeit der Transplantate aus [3]. Allerdings sind sie fragil und benötigen große Mengen von Beta- bzw. Inselzellen [4]. Flache Diffusionskammern sind stabiler, rufen aber starke Fremdkörperreaktionen hervor, die ein Absterben des Transplantates zur Folge haben [5]. Eine Technologie namens TheraCyteTM zeigte vielversprechende Ergebnisse in Tierstudien [6], wird sich aber in klinischen Versuchen erst beweisen müssen.

Die meist beforschte und wohl vielversprechendste Strategie zur Immunprotektion von Betazelltransplantaten sind Mikrokapseln (Abb. 1B, C). Die Gründe dafür liegen unter anderem in ihrer mechanischen Stabilität, ihrem vorteilhaften Verhältnis von Oberfläche zu Masse, der relativ unkomplizierten Herstellung und in der Tatsache, dass sie ohne großen operativen Eingriff in den Körper implantiert werden können.

Erste Schlagzeilen 1994

Mikroverkapselte Inselzellen haben 1994 erstmals Schlagzeilen gemacht, als der erste T1D Patient für 9 Monate nach der Transplantation Insulin unabhängig blieb [7]. Dieser Patient hatte zuvor eine Spenderniere erhalten und war deshalb unter Immunsuppression.

18 Jahre und zahlreiche klinische Studien später gibt es bis heute keine Berichte von Langzeit-Insulinabhängigkeit in nicht-immunsupprimierten Patienten. Klinische Studien von verschiedenen Forschungsgruppen führten zu ähnlichen Ergebnissen [8 - 10]: In den ersten Tagen nach Transplantation von Alginat-verkapselten Inselzellen konnte C-Peptid nachgewiesen werden, aber die Verbesserung des Patientenzustandes war bescheiden, und die Insulintherapie musste fortgesetzt werden. Die Tatsache, dass derselbe Ansatz, der bei immunsupprimierten Patienten so ausgezeichnet funktioniert hatte, in immunkompetenten Patienten versagte, war ein erster Hinweis, dass die Alginat-verkapselten Inselzellen eine Immunreaktion hervorrufen.

Alginat-verkapselte Inselzellen

Trotzdem wurde und wird auch heute noch für die überwiegende Zahl von Studien Alginat als Material für Betazellverkapselung benutzt, weil es gut etabliert, leicht zugänglich und nicht als solches durch ein weitreichendes Patent geschützt ist. Die mangelnde Biokompatibilität von Alginat führt zu heftigen Fremdkörperreaktion und dem Überwachsen der Kapseln mit Bindegewebe (pericapsular fibrotic overgrowth) [11]. Diese Bindegewebsablagerungen sind arm an Blutgefäßen und führen zu einem Absterben der verkapselten Zellen. Trotz vieler Bemühungen, die Zusammensetzung und Reinheit von Alginat und dadurch seine Bio-

Zur Person



Dr. Eva Maria Brandtner

Vorarlberg Institute for Vascular Investigation and Treatment (VIVIT)
Akademisches Lehrkrankenhaus Feldkirch
Carinagasse 47
6807 Feldkirch
LKHF.Vivit@lkhf.at

¹ Vorarlberg Institute for Vascular Investigation and Treatment (VIVIT), LKH Feldkirch
² Austrianova Singapore

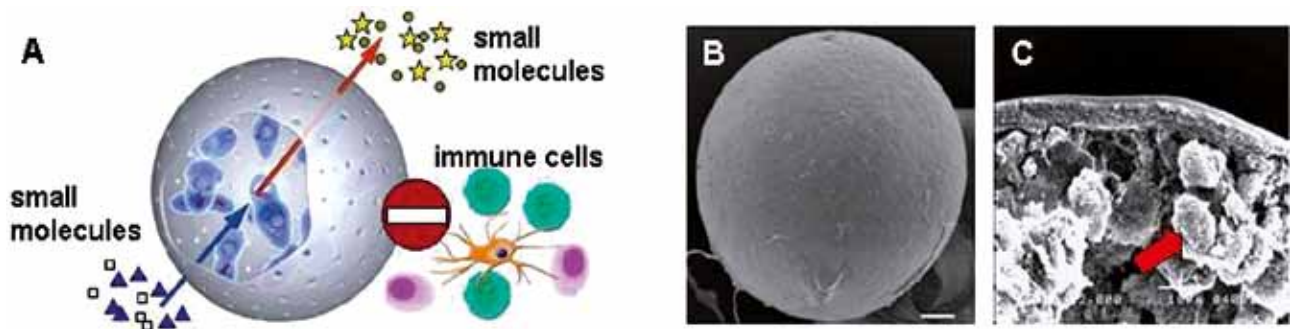


Abb. 1: (A) Schematische Darstellung von verkapselten Zellen und dem Transit von Molekülen durch die Kapselmembran. (B) Elektronenmikroskopische Aufnahme von der Oberfläche einer Cellulose Sulphat Kapsel. (C) Elektronenmikroskopische Aufnahme des Kapselquerschnittes mit einzelnen Zellen (roter Pfeil); Referenzbalken = 100 μm

kompatibilität zu verbessern [12–15], bleibt das Problem bis heute bestehen [16, 17].

Klinische Studien mit Alginate-verkapselten porcinen Inselzellen zeigten, dass zwar eine Reduktion der Insulindosis sowie eine Verringerung der Häufigkeit von Unterzucker-Attacken erreicht werden konnte, nicht aber die Möglichkeit, auf Insulininjektionen gänzlich zu verzichten [18].

Einkapselung in Zellulose Sulphat

Die Anzeichen häufen sich, dass das Feld zu voreilig war, sich auf Alginate als Verkapselungsmaterial festzulegen.

Eine interessante Alternative stellt die Verwendung von Zellulose Sulphat für die Verkapselung von Betazellen dar [19]. Zellulose Sulphat wurde als Material zur Zellverkapselung bereits in klinischen Studien an Krebspatienten erprobt und hat neben hervorragenden Therapieerfolgen auch ausgezeichnete Biokompatibilität und Unbedenklichkeit bewiesen [20, 21]. Weiters wurde gezeigt, dass die GLP-Produktion von in Zellulose Sulphat verkapselten Zellen durchführbar ist [22] und dass die so verkapselten Zellen im gefrorenen Zustand gelagert und transportiert werden können, was für die Entwicklung eines klinischen Produktes einen wesentlichen Vorteil gegenüber Alginate darstellt [22].

In Kombination mit einem geeigneten Typ von Insulin produzierenden Zellen stellt die Zellulose Sulphat Verkapselung eine vielversprechende Strategie dar, um das bioartifizielle Pankreas einen wesentlichen Schritt näher zur lang erwarteten klinischen Anwendung zu bringen. ■

LITERATUR

- Sun AM, Parisius W, Healy GM, Vacek I, and Macmorine HG. (1977). The use, in diabetic rats and monkeys, of artificial capillary units containing cultured islets of Langerhans (artificial endocrine pancreas). *Diabetes* 26:1136-1139.
- Maki T, Lodge JP, Carretta M, Ohzato H, Borland KM, Sullivan SJ, Staruk J, Muller TE, Solomon BA, Chick WL (1993) Treatment of severe diabetes mellitus for more than one year using a vascularized hybrid artificial pancreas. *Transplantation* 55:713-717.
- Scharp, DW, Swanson CJ, Olack BJ, Latta PP, Hegre OD, Doherty EJ, Gentile FT, Flavin KS, Ansara MF, and Lacy PE (1994) Protection of encapsulated human islets implanted without immunosuppression in patients with type I or type II diabetes and in nondiabetic control subjects. *Diabetes* 43:1167-1170.
- Colton CK (1995) Implantable biohybrid artificial organs. *Cell Transplant.* 4:415-436.
- Brauker J, Martinson LA, Young SK and Johnson RC (1996) Local inflammatory response around diffusion chambers containing xenografts. Nonspecific destruction of tissues and decreased local vascularization. *Transplantation* 61:1671-1677.
- Sweet IR, Yanay O, Waldron L, Gilbert M, Fuller JM, Tupling T, Lernmark A, and Osborne WR (2008) Treatment of diabetic rats with encapsulated islets. *J. Cell Mol Med.* 12:2644-2650.
- Soon-Shiong P, Heintz RE, Merideth N, Yao QX, Yao Z, Zheng T, Murphy M, Moloney MK, Schmehl M, Harris M, and (1994) Insulin independence in a type 1 diabetic patient after encapsulated islet transplantation. *Lancet* 343:950-951.
- Calafiore R, Basta G, Luca G, Lemmi A, Montanucci MP, Calabrese G, Racanicchi L, Mancuso F, and Brunetti P (2006) Microencapsulated pancreatic islet allografts into nonimmunosuppressed patients with type 1 diabetes: first two cases. *Diabetes Care* 29:137-138.
- Basta G, Montanucci P, Luca G, Boselli C, Noya G, Barbaro B, Qi M, Kinzer KP, Oberholzer J, and Calafiore R (2011) Long-term metabolic and immunological follow-up of nonimmunosuppressed patients with type 1 diabetes treated with microencapsulated islet allografts: four cases. *Diabetes Care* 34:2406-2409.
- Tuch, BE, Hughes TC, and Evans MD. (2011) Encapsulated pancreatic progenitors derived from human embryonic stem cells as a therapy for insulin-dependent diabetes. *Diabetes Metab Res. Rev.* 27:928-932.
- Tuch, BE, Keogh, GW, Williams LJ, Wu W, Foster JL, Vaithilingam V, and Phillips R (2009) Safety and viability of microencapsulated human islets transplanted into diabetic humans. *Diabetes Care* 32:1887-1889.
- de Vos, P, De Haan B, and van Schilf-gaarde R (1997) Effect of the alginate composition on the biocompatibility of alginate-polylysine microcapsules. *Biomaterials* 18:273-278.
- Otterlei, M, Ostgaard K, Skjak-Braek G, Smidsrod O, Soon-Shiong P, and Espevik, T (1991) Induction of cytokine production from human monocytes stimulated with alginate. *J. Immunother.* 10:286-291.
- Menard, M, Dusseault J, Langlois G, Baille WE, Tam SK, Yahia L, Zhu XX, and Halle JP (2010) Role of protein contaminants in the immunogenicity of alginates. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 93:333-340.
- Liu, XY, Nothias JM, Scavone A, Garfinkel M, and Millis JM (2010) Biocompatibility investigation of polyethylene glycol and alginate-poly-L-lysine for islet encapsulation. *ASAIO J.* 56:241-245.
- Tam SK, Dusseault J, Bilodeau S, Langlois G, Halle JP, and Yahia L (2011) Factors influencing alginate gel biocompatibility. *J. Biomed. Mater. Res. A* 98:40-52.
- de Vos P, Spasojevic M, de Haan BJ, and Faas MM (2012) The association between in vivo physicochemical changes and inflammatory responses against alginate based microcapsules. *Biomaterials* 33:5552-5559.
- Elliot RB Microencapsulated Neonatal Porcine Islet Implants Alleviate Unaware Hypoglycaemia without Immune Suppression. IPITA World Congress. 6-6-2011. Abstract
- Schaffellner S, Stadlbauer V, Stiegler P, Hauser O, Halwachs G, Lackner C, Iberer F, and Tscheliessnigg KH (2005) Porcine islet cells microencapsulated in sodium cellulose sulfate. *Transplant. Proc.* 37:248-252.
- Lohr M, Hoffmeyer A, Kroger J, Freund M, Hain J, Holle A, Karle P, Knofel WT, Liebe S, Muller P, Nizze H, Renner M, Saller RM, Wagner T, Hauenstein K, Gunzburg WH, and Salmoms B (2001) Microencapsulated cell-mediated treatment of inoperable pancreatic carcinoma. *Lancet* 357:1591-1592.
- Lohr M, Kroger, J, Hoffmeyer A, Freund M, Hain J, Holle, A, Karle, P, Knofel WT, Liebe S, Muller P, Nizze H, Renner M, Saller RM, Müller P, Wagner T, Hauenstein K, Salmoms B and Günzburg WH (2003) Safety, feasibility and clinical benefit of localized chemotherapy using microencapsulated cells for inoperable pancreatic carcinoma in a phase I/II trial. *Cancer Therapy* 1:121-131.
- Salmoms, B, Hauser O, Günzburg WH and Tabotta W (2007) GMP Production of an Encapsulated Cell Therapy Product: Issues and Considerations. *Bioprocessing Journal* 6:37-44.