

## Forschungsschwerpunkte – Würzburger Initiative 3R (WI3R)

---

### **PD Dr. Marco Metzger**

PD Dr. Marco Metzger ist Biotechnologe, er leitet seit 2018 das Fraunhofer-Translationszentrum für Regenerative Therapien TLZ-RT in Würzburg und ist zugleich stellvertretender Leiter des Lehrstuhls Tissue Engineering und Regenerative Medizin (TERM) am Uniklinikum Würzburg. Unter seiner Führung arbeiten sechs Teams und ca. 50 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter mit Fokus auf In-vitro-Testsystemen der sogenannten Barriereorgane, also der Haut, des Auges, des Gastrointestinaltraktes, der leitenden Atemwege, der Blut-Hirn-Schranke und verschiedener onkologischer Modelle. Diese menschlichen In-vitro-Modellsysteme werden für die pharmakologische Forschung, aber auch für die Grundlagenforschung beispielsweise in der Untersuchung der Geweberegeneration, der Onkologie oder der Infektionsforschung eingesetzt. Sein eigener Forschungsschwerpunkt liegt im Bereich der enterischen und intestinalen Stammzellen, aus denen Modellsysteme des Magen-Darm-Traktes ausgebildet werden. Ein spezielles Kulturverfahren in der intestinalen 3-D-Gewebekultur stellt die Organoid-technologie dar. In intestinalen Organoidkultur-Systemen beispielsweise rekapitulieren die intestinalen Stammzellen neben der Selbstregeneration auch die Differenzierungshierarchien, welche auch in vivo beobachtet werden. Zudem exprimieren diese Organoide alle bekannten Zelltypen des intestinalen Epitheliums, zeigen eine Krypten-Zotten-Anordnung, eine epitheliale Polarisation und ein funktionelles Lumen.

### **Dr. Florian Groeber-Becker**

Dr. rer. nat. Florian Kai Groeber-Becker studierte Biologie an der Universität Würzburg. Zu Beginn seiner wissenschaftlichen Laufbahn arbeitete er intensiv an der Etablierung biophysikalischer und technologisch optimierter Protokolle für die Kryokonservierung menschlicher embryonaler Stammzellen am Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT). Im Rahmen seiner Promotion am Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik (IGB) entwickelte er ein vaskularisiertes und perfundierbares Hautmodell in speziell dafür konzipierten Bioreaktoren. In seiner jetzigen Funktion am Fraunhofer-Translationszentrum leitet er den Geschäftsbereich „In-vitro-Testsysteme“ und erwarb sich hier einen international anerkannten Ruf für die Entwicklung und Validierung von In-vitro-Modellen und Anwendungen im Bereich dermatologischer Fragestellungen. Er koordiniert mehrere Projekte an der Schnittstelle zwischen Medizin, Biologie und Ingenieurwissenschaften. Die Arbeiten seiner

Gruppe umfassen neben dem Aufbau von Gewebemodellen im Bereich der Dermatologie, Ophthalmologie und Onkologie auch die Etablierung von neuen Bio-Sensoren zur Erfassung des Gewebezustandes und die kundenspezifische Entwicklung von Testverfahren für verschiedenste wissenschaftliche Fragestellungen.

### **Dr. Daniela Zdzieblo**

Dr. Daniela Zdzieblo ist Biologin und erforscht Erkrankungen des gastrointestinalen Systems wie z. B. chronisch-entzündliche Darmerkrankungen oder Diabetes mellitus, die eine stetig zunehmende Inzidenz aufweisen, wodurch globale Gesundheitssysteme zukünftig einer erheblichen Belastung ausgesetzt sein werden. Sowohl die pathophysiologische Komplexität gastrointestinaler Erkrankungen als auch ihre ätiologische Heterogenität sind ausschlaggebend dafür, dass gängige Modellsysteme (z. B. zelllinienbasierte Systeme oder Tiermodelle) zahlreiche Krankheiten nicht adäquat rekapitulieren können. Dies erfordert innovative Konzepte, um nicht nur pathologische Grundlagen besser verstehen zu können, sondern auch effektive Behandlungskonzepte (z. B. die Entwicklung neuartiger Medikamente oder zellbasierter Therapien) unter Berücksichtigung des 3R-Prinzips (Reduction, Refinement, Replacement) zu ermöglichen.

Daniela Zdzieblo kombiniert grundlagenwissenschaftliche Erkenntnisse mit modernen Ansätzen des Tissue Engineerings, um funktionale Modelle des humanen gastrointestinalen Systems (Darm und Bauchspeicheldrüse) zu generieren. Die Schwierigkeit liegt dabei darin, die Modelle so komplex wie nötig, aber auch so einfach wie möglich zu designen, damit diese zwar in-vivo-ähnliche biologische Eigenschaften (z. B. Multizellularität) in vitro abbilden, jedoch auch ein standardisierbares Handling für angewandte Forschungszwecke erlauben.

Als Zellquellen dienen primäre Zellisolate oder humane induziert pluripotente Stammzellen und deren Zellerivate, da diese den Vorteil aufweisen (epi-)genetische Phänotypen und pathologische Eigenschaften in vitro abbilden zu können. Kombiniert mit biologischen und/oder synthetischen Trägerstrukturen können gastrointestinale Systeme so in 3-D-ähnlichen Konstrukten in vitro modelliert werden, damit auch regulatorische Prozesse der Zellen in vitro mit abgebildet werden. Das Team beschäftigt sich zusätzlich damit, neuartige bioaktive Materialien zu erforschen, die sowohl die Kultivierung von primären Zellen des gastrointestinalen Systems als auch von humanen induziert pluripotenten Stammzellen bei hoher Standardisierbarkeit erlauben. Somit ist ein zeit- und kosteneffektives Tissue Engineering funktionaler gastrointestinaler Organe zukünftig ermöglicht.

**Dr. Christian Lotz**

Dr. Christian Lotz ist Biomediziner und entwickelt als Nachwuchsgruppenleiter am Fraunhofer-Translationszentrum In-vitro-Testsysteme der humanen Cornea als Alternative zum Tierversuch. Christian Lotz entwickelte zudem Augenirritationstests zur Erfassung der sogenannten GHS-Kategorien für den toxikologischen Endpunkt Augenreizung. Seine Forschungsschwerpunkte liegen somit in der Entwicklung von In-vitro-Augen-Modellen mittels Tissue Engineerings und deren Untersuchung durch nicht invasive Analyseverfahren. Das Verständnis der Augenentwicklung in vitro hilft nicht nur bei medizinischen Fragestellungen wie z. B. der Wundheilung, sondern auch in der Risikobewertung von Chemikalien. Zurzeit arbeitet er zusammen mit den regulatorischen Behörden und der Industrie an der Validierung und Implementierung einer Alternative zum sogenannten Draize eye test im Tiermodell. Christian Lotz ist es sehr wichtig, die neuen Erkenntnisse zu verbreiten und an die nächste Generation weiterzugeben. Er setzt sich daher besonders intensiv in der Lehre und Ausbildung für das Thema 3R „Tissue Engineering als Alternative zum Tierversuch“ ein.

**Dr. Maria Steinke**

Dr. Maria Steinke ist Biologin und promovierte als Stipendiatin der Graduate School of Life Sciences der Julius-Maximilians-Universität Würzburg am Institut für Anatomie und Zellbiologie. Ihre Dissertation wurde mit dem „Gemeinsamen Promotionspreis der Universität Würzburg und der Unterfränkischen Gedenkjahrstiftung für Wissenschaft“ ausgezeichnet. Sie ist seit 2015 als Gruppenleiterin im Forschungsbereich „Tissue Engineering der Atemwege“ tätig. Seit 2016 ist Maria Steinke Principal Investigator im von der DFG geförderten Graduiertenkolleg 2157 (3D-Infect), in dem Interaktionen human obligater Pathogene mit humanen 3-D-in-vitro-Gewebemodellen erforscht werden. Mit ihren klinischen Partnern entwickelte sie außerdem ein pathologisches Modellsystem für die Primäre Ziliendyskinesie, eine seltene, angeborene Erkrankung der Atemwege, bei der die Bewegung der Flimmerhärchen, auch Zilien genannt, gestört ist. Neben Modellen der oberen Atemwege wurden auch humane Nasenschleimhautmodelle entwickelt, um die chemische Prozessierung olfaktorischer Reize analysieren zu können.

**Dr. Gudrun Dandekar**

Dr. Gudrun Dandekar ist Biologin, die sich mit ihrem Team auf die Entwicklung vorhersagekräftiger 3-D-Tumormodelle mit humanen Zellen spezialisiert hat. Eine große Herausforderung in der Onkologie ist die Entwicklung von präklinischen Testsystemen, die die Wirkung von Medikamenten in Krebspatienten vorhersagen können. Mit Methoden des Tissue

Engineering entwickeln sie 3-D-Tumortestsysteme, die Eigenschaften des lebenden Organismus *in vitro* abbilden und so die Anzahl von Tierversuchen vermindern oder diese sogar ersetzen können. Zu diesen Eigenschaften zählen die Darstellung der Invasion von Tumorzellen über die Barriere der Basalmembran und das Wachstum von Tumorzellen in der Knochenmetastasen-Nische. Für diesen Zweck wird eine Gewebematrix aus Schweinedarm verwendet, die nach Entfernung der porzinen Zellen als Grundlage für das Wachstum humaner Zellen dient. In dieser Matrix ist die Gewebearchitektur einschließlich der Basalmembran und verschiedener Nischen für das Zellwachstum *in vitro* erhalten. Interessant an dem Ansatz ist, dass eine Art Gewebemöiostase entsteht, wodurch die Zellen über mehrere Wochen in Kultur gehalten werden können. Dies ermöglicht Testungen, die der Situation im lebenden Organismus nahekommen. Weiterhin können durch Co-Kulturen mit weiteren Zelltypen der Tumorumgebung zusätzliche Barrieren in die Modelle integriert werden, um immuntherapeutische Ansätze realistischer auszutesten. Bei CAR-(Chimärer Antigen Rezeptor)-T-Zellen handelt es sich z. B. um Immunzellen, die gentechnisch im Labor für die Erkennung und Abtötung von Tumorzellen verändert werden. Bisher wurden hier vor allem bei Leukämien große Erfolge erzielt. Die Modellsysteme der Arbeitsgruppe können dazu beitragen, diesen und andere immuntherapeutische Ansätze für solide Tumore wie z. B. Lungen-, Darm-, Brust- oder Pankreaskrebs zu optimieren.

Ein weiterer Fokus ihrer Arbeit ist das systemische Verständnis von Signalwegen in Tumorzellen durch die Kombination mit *in silico* Modellen, um Patienten besser nach Biomarker-Profilen für personalisierte Therapien unterteilen zu können. Dies ist auch für das Verständnis wichtig, wie Tumorzellen dem Angriff von Immunzellen entgehen. Die Gruppe verspricht sich durch die fokussierte Vortestung *in vitro*, eine große Anzahl von Tierversuchen einzusparen.

### **Dr. Antje Appelt-Menzel**

Dr. Antje Appelt-Menzel ist pharmazeutische Biotechnologin und Expertin für die *In-vitro*-Modellierung der humanen Blut-Hirn-Schranke (BHS) und Neurovaskulären Einheit. Die Blut-Hirn-Schranke (BHS) stellt eine der dichtesten und wichtigsten Barrieren zwischen der Blutzirkulation und dem Zentralnervensystem (ZNS) dar. Hauptsächlich dient sie zur Aufrechterhaltung der Gewebezustände des ZNS und neuronalen Funktion sowie dem Schutz vor neurotoxischen Substanzen und Pathogenen. Die BHS hindert aber in gleicher Weise den Transport von Wirkstoffen, die zur Behandlung von neurologischen oder neurodegenerativen Erkrankungen eingesetzt werden sollen. In der Entwicklung von Medikamenten stellt die effektive Bereitstellung von Wirkstoffen zur Behandlung von ZNS-Erkrankungen immer noch ein großes Problem dar. Valide und reproduzierbare humane *In-vitro*-Modelle der BHS

könnten die effektive Testung von Wirkstoffkandidaten in frühen Phasen der Arzneimittelentwicklung erleichtern.

Die Etablierung und Validierung von prädiktiven, humanen In-vitro-Testsystemen ist essentiell für deren erfolgreichen Einsatz zur Testung von ZNS-Wirkstoffen. Unter reproduzierbaren Bedingungen werden humane induziert pluripotente Stammzellen (hiPSC) in vitro nach etablierten Methoden in gewebespezifische Zelltypen differenziert und zum Aufbau der Modelle eingesetzt. Die BHS-Testsysteme zeichnen sich durch physiologische Eigenschaften wie das Vorhandensein einer hohen Barrieredichtigkeit und wichtiger Wirkstofftransporter aus.

Die Modelle werden außerdem eingesetzt, um ein besseres Verständnis über die genauen Infektionsmechanismen von human-pathogenen Erregern zu erlangen. Hierzu zählen beispielsweise Bakterien wie *Neisseria meningitidis* oder Viren wie der Herpes simplex-Virus Typ 1 und SARS-CoV-2. Im Umkehrschluss können diese Erkenntnisse wiederum genutzt werden, um effektive Mechanismen für den Transport von Wirkstoffen über die BHS zu entwickeln.

Nicht nur Veränderungen der BHS können zur Entstehung von ZNS-Erkrankungen führen, sondern auch die Erkrankungen selbst werden als Ausgangspunkt für eine gestörte BHS-Barriere diskutiert. Mithilfe von patientenspezifischen und pathologisch veränderten Zelltypen baut das Team um Antje Appelt-Menzel auch Krankheitsmodelle der BHS auf und untersucht pathologische Gewebezustände. Die Erkenntnisse helfen, die Entstehung und Pathogenese von ZNS-Erkrankungen wie Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, ADHS oder Gehirntumore zu verstehen.