

## Stammzellbasierte Krankheitsmodelle

# Organoide: Boom der 3D-Minis

*Sie sind winzig wie Senfkörner, doch vielen Biomedizinern gelten sie als der nächste große Trend in der Gesundheitsforschung: die sogenannten Organoid. Mithilfe raffinierter 3D-Gewebekulturtechniken schaffen es Forscher immer besser, einen Mix aus Stammzellen und differenzierten Zellen zu intakten Miniversionen von Gehirnen, Därmen oder Mägen zu kombinieren. Auch in Deutschland begeistern sich immer mehr Stammzellforscher für das Thema. Denn Organoid kommen ihren großen Vorbildern in der Natur so nahe, dass sich an diesen Modellsystemen entwicklungsbiologische Grundlagen, aber auch die Entstehung von Krankheiten auf neue Weise erforschen lassen. Das macht die Mini-Organoid nicht nur zu Testkandidaten für Wirkstoffstudien. Auch für Diagnostik und regenerative Therapien bergen sie enormes Potenzial.*

**W**enn Sina Bartfeld ihre wenige Tage alten Mini-Mägen im Binokular betrachtet, ist sie regelmäßig entzückt. „Meine Organoid sind die allerschönsten“, freut sich die Biologin, die gerade an der Universität Würzburg eine eigene Arbeitsgruppe aufbaut. Kaum einen halben Millimeter messen die filigranen Hohlkugeln aus einer einlagigen Zellschicht, an ihren Rändern knospen kleinere Bläschen ab. „Hierin sitzen neben verschiedenen differenzierten Zelltypen die Stammzellen, die ständig für Nachschub an Zellen sorgen“, sagt Bartfeld. Bis zum Kleinst-Magen dauert es keine zwei Wochen. „Das Faszinierende ist, dass sich die Magen-Organoid selbstständig organisieren und weiter wachsen“, so Bartfeld.

Bartfeld gehört zu einer rasant wachsenden Schar von Wissenschaftlern, die dabei sind, mit den Organoiden die biomedizinische Forschung zu verändern. Ob winzige Därme, Brüste, Lungen oder Gehirne, in den Laboren der Zellzüchter weltweit gedeihen derzeit nahezu sämtliche Organe des menschlichen Körpers im Miniaturformat. Nicht nur äußerlich erinnern die In-vitro-Winzlinge an ihre leibhaftigen Vorbilder in der Natur. Auch komplexe biologische Prozesse laufen in den Organoiden erstaunlich realitätsnah ab. Im Herbst vergangenen Jahres ist Sina Bartfeld vom holländischen Utrecht nach Würzburg gewechselt. Als Postdoktorandin hat sie am Hubrecht-Institut für Entwicklungsbiologie in der Arbeitsgruppe von Hans Clevers gearbeitet – der niederländische Stammzellforscher gilt als Pionier und Auslöser des jüngsten Zellkultur-Booms. Von der Kaderschmiede Hubrecht-Institut aus erobert die Organoid-Technologie derzeit Forscherlabore in aller Welt.

### Adulte Stammzellen zurück ins Rampenlicht

Dreidimensionale Zellkulturen sind kein neuer Trend. Forscher, die sich mit der Differenzierung von pluripotenten Stammzellen beschäftigen, kennen die „Embryoid Bodies“ als räumliche Klumpen, in denen sich die Zellen viel eher so entwickeln, wie sie es im Körper tun würden. Auch Gewebeingenieure experimentieren seit vielen Jahren mit 3D-Aggregaten, die aus verschiedenen Zelltypen zusammengesetzt sind.

„Das Revolutionäre an der Technik von Hans Clevers ist, dass wir damit adulte Stammzellen aus Organen isolie-

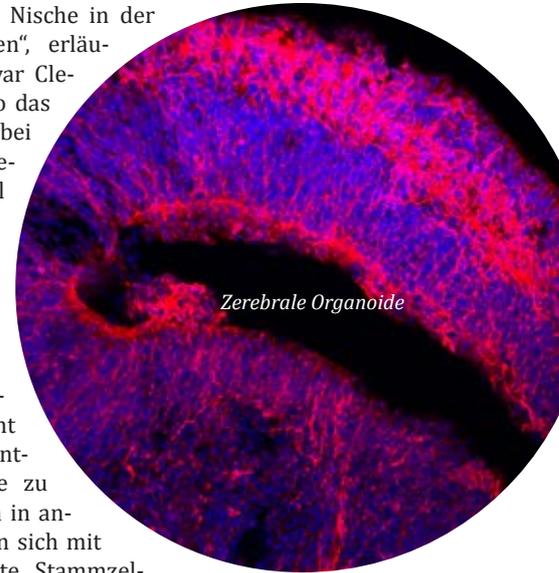
ren können und ihre Nische in der Petrischale nachbauen“, erläutert Bartfeld. 2009 war Clevers und Toshiro Sato das Kunststück erstmals bei Dünndarmgewebe gelungen. Ein Schlüssel zum Erfolg: Mit dem Protein Lgr-5 hatte das Team einen wichtigen Stammzellen-Oberflächenmarker gefunden, mit dessen Hilfe die adulten Stammzellen leicht aus bei Operationen entferntem Darmgewebe zu isolieren waren. Auch in anderen Geweben lassen sich mit diesem Marker adulte Stammzellen aufspüren. Einen weiteren Fortschritt brachten verfeinerte Zellkulturtechniken: Durch Zugabe von Matrigel, einem gelartigen Sekret von Tumorzellen der Maus, ließ sich die unmittelbare Umgebung der adulten Stammzellen – ihre Nische – sehr gut nachstellen. Eingebettet in diese extrazelluläre Matrix finden die Zellen hier ein behagliches Umfeld vor. Die Zugabe von Wachstumsfaktoren und einiger weiterer Zelltypen genügte – die adulten Stammzellen begannen in der Petrischale, das zu tun, was sie auch in einer echten Darmwand tun: sich selbst erneuern und gleichzeitig Strukturen wie Zotten oder Krypten hervorbringen. In der Petrischale wuchs ein sich selbst organisierendes, lebendes Darmsystem heran.

### Realitätsnahe Modellsysteme für Krankheiten

„Mit dieser Kulturtechnik gibt es eine unerschöpfliche Quelle von humanen Zellen eines bestimmten Gewebes“, sagt Bartfeld, „und noch dazu sind die Zellen nicht verändert.“ Die Organoid kämen der natürlichen In-vivo-Situation damit viel näher als Zellaggregate, die auf der Basis von pluripotenten Stammzellen gewonnen würden. Ein weiteres Plus: Die Gewinnung der Zellen und die Kulturtechnik sind leicht zu erlernen, noch dazu sind die Mini-Organoid leicht zu handhaben. „Einfrieren, auftauen, verschicken – alles kein Problem.“

Nach den 2009 in Nature veröffentlichten Entdeckungen sei das Feld explodiert, so Bartfeld. Die adulten Stammzellen, um die es im Zeitalter der iPS-Zellen ruhiger geworden war, rückten wieder zurück ins Rampenlicht. In Utrecht hätten sich fortan viele ihrer Kollegen jeweils ein eigenes Organsystem herausgepickt.

Organoid eignen sich als zellbasierte Modellsysteme nicht nur, um die Entwicklungsbiologie von Geweben und die Organogenese zu studieren. Sie eröffnen auch völlig neue Spielräume für die Erforschung von Krankheitsmechanismen. An ihren Mini-Mägen will Sina Bartfeld am Institut für Molekulare Infektionsbiologie in Würzburg die Ent-



stehung von Magengeschwüren nachstellen. Dazu infiziert sie die 3D-Gebilde mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* und beobachtet im Detail, wie die Keime die Entstehung von Krebs auslösen. „So können wir die Wechselwirkung der Erreger mit den humanen Wirtszellen simulieren und genauer ergründen.“ In ersten Experimenten hat sie bereits beobachtet, dass in den mit den Magenkeimen infizierten Organoiden zentrale Schritte der angeborenen Immunantwort korrekt ablaufen, wenn auch je nach Zelltyp nach einem unterschiedlichen Muster.

Weiteres Anwendungspotenzial gibt es für die Regenerative Medizin: Bartfeld ist es zum Beispiel gelungen, Mini-Mägen von Patienten herzustellen, denen der Magen aufgrund einer Krebserkrankung entfernt worden war. „An solchen Krebsorganoiden ließe sich zum Beispiel testen, welche Medikamente wirksam sind, und welche nicht“, sagt Bartfeld. Zudem sei es möglich, mithilfe der Organoiden gesundes und krankes Gewebe ein und desselben Patienten parallel zu kultivieren und zu vergleichen.

Mit Henner Farin, der am Frankfurter Georg-Speyer-Haus seit September 2015 eine Nachwuchsgruppe im Rahmen des Deutschen Konsortiums für Translationale Krebsforschung (DKTK) aufbaut, hat ein weiterer Schützling aus dem Clevers-Labor den Weg zurück nach Deutschland gefunden. In der Mainmetropole will Farin Darmtumor-Organoiden erzeugen und daran Krebsentstehungsmechanismen erforschen. Mithilfe patientenspezifischer Organoiden will er zudem chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen auf die Spur zu kommen.

### Neues aus den Organoid-Schmieden

Was die Arbeit mit Organoiden für die Gesundheitsforscher zusätzlich attraktiv macht: Sie lassen sich gut mit anderen Zelltechnologien kombinieren. So kann man sie mit induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS-Zellen) abgeleiteten Zelltypen bestücken. Noch dazu lassen sich einzelne Zellen in den Miniatur-Organen mittels Genome Editing bearbeiten oder umprogrammieren. Damit lassen sich die 3D-Gebilde für ein bestimmtes Krankheitsmodell maßschneidern.



Organoiden der Brustdrüse in der Petrischale

Wozu die 3D-Zellkultur-Tüftler mittlerweile fähig sind, ließ sich bei der GSCN-Jahreskonferenz im September 2015 besichtigen. Hans-Willem Snoeck von der Columbia University in New York berichtete über seine Versuche, die Entwicklung einer menschlichen Lunge so naturgetreu wie möglich in der Kulturschale nachzustellen. Mithilfe von iPS-Zellen und einem verfeinerten Protokoll hat sein Team dabei bemerkenswerte Fortschritte erzielt. „Wir haben es erstmals geschafft, die feine Verzweigung und die Reifung der Lungenbläschen in der Petrischale ablaufen zu lassen“, so Snoeck. Neben entwicklungsbiologischen Erkenntnissen lassen sich an den Modellen zahlreiche Lungenerkrankungen studieren, zum Beispiel Grippe, Mukoviszidose oder Lungenkrebs.

Einem Team um Christina Scheel vom Helmholtz-Zentrum in München wiederum ist es gelungen, die komplexe 3D-Struktur der Brustdrüse nachzubauen. Aus Gewebe, das bei ästhetischen Brustverkleinerungen anfällt, haben die Münchner Forscher Zellen isoliert, die Stammzellcharakter besitzen. In der 3D-Kultur beginnen die Zellen, komplexe Milchgänge zu bilden, die in bläschenartigen Strukturen münden. Die Mini-Brüste in der Petrischale wollen die Forscher nun dazu einsetzen, die Entstehung von Brustkrebs näher zu erforschen.

Foto: Helmholtz Zentrum München / Jelena Linnemann, Lisa Meixner

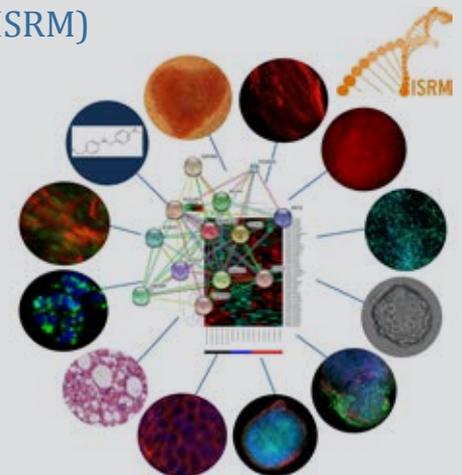
## Institut für Stammzellforschung und Regenerative Medizin (ISRM)

### Regenerative Medizin im Überblick

Am Institut für Stammzellforschung und Regenerative Medizin verfolgen wir einen systembiologischen Ansatz, um die normale Entwicklung (Hepato-genese und Neuro-genese), das Altern und Krankheitsmechanismen (Steatose/Nicht-alkoholische Fettleber, Alzheimer-Krankheit, Nijmegen-Breakage-Syndrom und Crigler-Najjar-Syndrom) besser zu verstehen. Wir sind aktiv in das EU/FP7 Projekt AgedBrainSYSBIO (<http://agedbrainsysbio.eu>) eingebunden, in dem wir die der Spätform der Alzheimer-Krankheit (LOAD) zugrundeliegenden Mechanismen erforschen. Grundlegende Mechanismen der Erzeugung und

Erhaltung von Pluripotenz und die Differenzierung von patientenspezifischen induzierten pluripotenten Stammzellen (iPSCs) in relevante Zelltypen (2D und 3D) stehen im Mittelpunkt dieser Aktivitäten. Omics-basierte Datensätze (Transkriptom, Proteom, Methylo-m und Sekretom), Bioinformatik, mathematische Modellierung, Pathway-Rekonstruktion und Datenmanagement sind essentiell für unsere Forschung.

Heinrich-Heine-Universität  
 Universitätsklinikum Düsseldorf · ISRM  
 Moorenstr. 5 · Geb. 14.80.01.002 · 40225 Düsseldorf  
[www.uniklinik-duesseldorf.de/ISRM](http://www.uniklinik-duesseldorf.de/ISRM)



### Mini-Gehirne umprogrammieren

Kein Organoid hat wohl in den vergangenen Jahren mehr Aufsehen erregt als die erbsengroßen Mini-Gehirne, die in den Laboren von Jürgen Knoblich vom Institut für molekulare Biotechnologie in Wien entstanden sind. Aus iPSC-Zellen gewonnene neuronale Vorläuferzellen begannen, sich wie von selbst zu sogenannten zerebralen Organoiden zusammenzuschließen. Die neuralen Gewebekügelchen ähneln sowohl äußerlich als auch molekularbiologisch den Strukturen eines jungen Embryonen-Gehirns.

„Diese Arbeiten waren 2013 sicher ein Augenöffner für das Feld und haben zu einer großen Aufbruchstimmung geführt“, sagt Benedikt Berninger vom Institut für Physiologische Chemie an der Universität Mainz. Seine Arbeitsgruppe ist eine von einer ganzen Reihe hierzulande, die inzwischen damit begonnen haben, sich mit zerebralen Organoiden zu beschäftigen. „Wir nutzen die Mini-Gehirne als Plattform, um die Umprogrammierung von Gliazellen in Nervenzellen zu studieren“, erläutert Berninger. Seine Kollegin Marisa Karow führt an den winzigen Gehirnen Zelltransplantationen durch – quasi eine offene „Hirn-OP“ in der Petrischale. Die Konsequenzen dieses Eingriffes lassen sich dann in Echtzeit verfolgen. Die Mini-Brains eröffnen den Neurowissenschaftlern

auch neue Zugänge, um die molekularen Programme zu entziffern, die bei Entwicklungsstörungen des Gehirns ablaufen.

Die derzeitige Euphoriewelle über die Organoiden hält Berninger für durchaus gerechtfertigt. „Aber wir stehen hier immer noch am Anfang.“ Die Forschung sei teuer und aufwendig, zentrale Fragen zum Langzeitüberleben der Zellkulturen noch ungeklärt. Auch an der optimalen Versorgung und Fütterung der Organoiden – über viele Monate hinweg – tüfteln die Zellkulturspezialisten noch. Berninger setzt sich dafür ein, das Know-how der wachsenden Forschergemeinschaft in Deutschland besser zu vernetzen. Julia Ladewig in Bonn, Frank Edenhofer in Würzburg oder Magdalena Götz in München – das sind nur einige der Stammzellforscher, deren Teams sich intensiv den lebenden 3D-Gehirnmodellen widmen.

„Die Fortschritte bei den Organoiden verfolgen auch wir mit Begeisterung und beteiligen uns daran“, sagt Hans Schöler, Direktor am Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin in Münster. Die Max-Planck-Forscher nutzen Gehirnanorganoiden als Testobjekt, um hierin gezielt Astrozyten in Vorläuferzellen umzuprogrammieren. „Wir wollen so neurodegenerative Alterungsprozesse besser verstehen“, sagt Schöler. „Die Organoiden sind momentan eine riesige Spielwiese.“

*Text: Philipp Graf*

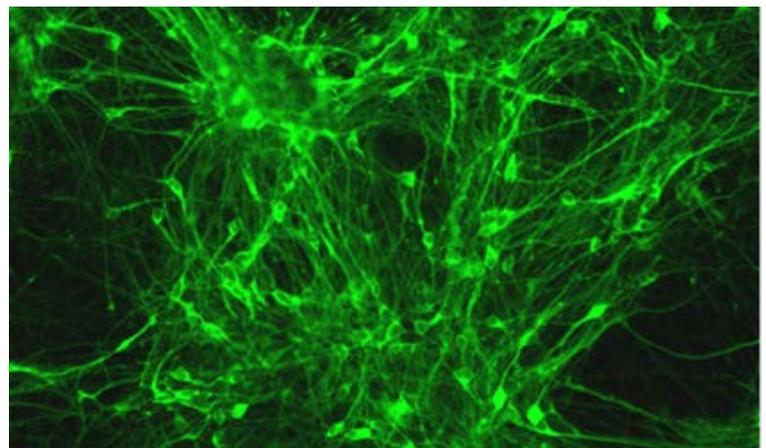
## New kits on the block...

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

„Rein, was heisst schon rein?!?!?“ grummelte Albert. „Es ist nunmal nicht so einfach, sogenannte reine dopaminerge Neuronen für Parkinson's Forscher zu generieren, weil die differenzierten Vorläuferzellen immer eine gewisse ‚Vorbelastung‘ für die Hirnregionen haben. Damit kann ich die Kollegen in unserem Institut leider nicht glücklich machen, denn ein Teil der dopaminergen Zellen, die ich aus iPSCs differenzieren, ist eben Vorder- oder Hinterhirnspezifisch und produziert Dopamin, aber hat mit der Substantia nigra eben nicht so viel zu tun. Das ist quasi wie eine Verunreinigung. Ist halt so, was soll ich denn da machen?“ klagte Albert seine Sorgen seiner Frau Josephine. Albert versuchte, seiner Frau, die mit Biologie nicht so viel am Hut hat, mehr Details zu erläutern: „Neulich hab ich ein neues Kit in den Händen gehabt, mit dem konnte ich ganz toll und effizient in Monolayer-Kultur iPSCs zu NSCs differenzieren und daraus auch Neuronen differenzieren, alle möglichen verschiedenen Arten sogar. Auch bei den dopaminergen Neuronen habe ich sehr gute Effizienz hin bekommen, aber diese Zellen waren eben nur nicht nur Mittelhirn-spezifisch, was für die Parkinson's Forscher wichtig ist, sondern hatten auch einen Anteil an Vorder-, und Hinterhirn- dopaminergen Neuronen, quasi eine Kontamination aus Sicht eines Parkinson's Forschers.“

„Ja, mein Schatz, aber wie kann ich dabei helfen?“ fragte Josephine ihn. „Ich kenne mich doch garnicht aus!“

„Du Papa“ stieg Madeleine, die Tochter von Albert und Josephine und Biologie-Doktorandin im zweiten Leidensjahr, in die Diskussion ein, „ich hab da von einem neuen Kit gehört, das würde genau für Dich passen. Mit dem neuen Kit können die Mittelhirn-spezifischen DA Neuronen differenziert werden, also genau das, was die PD-Forscher haben wollen. Und ich habe auch schon Daten gesehen. Einfaches, reproduzierbares Protokoll und noch dazu schneller als die sonstigen Protokolle. Du brauchst nicht mehr 45 Tage, sondern hast die vergleichbaren Ergebnisse in 38 Tagen“



fuhr Madeleine ganz euphorisch fort. „Ausserdem kannst Du zwischendrin Pause machen, weil Du die Vorläuferzellen wegfrösten kannst und Du kannst die Zellen richtig effizient expandieren! Dadurch kannst Du in Zukunft immer aus derselben Charge an Progenitorzellen deine DAs differenzieren und musst nicht den ganzen Weg von den iPSCs von neuem Angehen.“

„Das hört sich ja mal interessant an!“ meinte Albert. „Vielen Dank für den Hinweis. Weisst du noch, von welcher Firma das Kit ist?“ „Es ist von Thermo Fisher Scientific und heisst Dopaminergic Neuron Differentiation Kit oder so. Ich habe gestern erst den Link dafür bekommen:

[www.thermofisher.com/de/de/home/life-science/stem-cell-research/stem-cell-differentiation/psc-dopaminergic-neuron-differentiation.html](http://www.thermofisher.com/de/de/home/life-science/stem-cell-research/stem-cell-differentiation/psc-dopaminergic-neuron-differentiation.html)

Schau doch einfach mal auf der Homepage nach! Aber jetzt muss ich los, heute läuft der siebte Teil von „Narr Wars“ im Kino an!“ und schon war Madeleine weg.