Ein Quantum **Hoffnung**

Neurochirurgen sind bei einer Krebsoperation nicht zu beneiden: Entfernen sie zu wenig Gewebe, können aus den zurückgebliebenen Krebszellen neue Tumoren entstehen. Entfernen sie zu viel, droht dem Patienten die Gefahr von Hirnschäden. Krebsoperationen am Gehirn sind eine Gratwanderung – zu ungenau sind bislang die Möglichkeiten, Krebszellen von gesunden Zellen abzugrenzen. **Donna Arndt-Jovin** und ihre Kollegen vom **Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie** in Göttingen wollen deshalb kranke und gesunde Zellen leichter voneinander unterscheidbar machen. Dazu markieren sie Krebszellen mit fluoreszierenden Nanopartikeln.

TEXT **INGA RICHTER**

Die Abbildungen, auf die Donna Arndt-Jovin zeigt, könnten farbenfroher kaum sein: rote und grüne Wolken, leuchtende Punkte auf schwarzem Hintergrund. Donna Arndt-Jovin bewundert aber keine abstrakte Kunst, es sind Fragmente von Hirntumoren, die da funkeln und schimmern, sogenannte Grad-II-Oligodendrogliome. Das Außergewöhnliche an den Aufnahmen ist auch nicht ihr künstlerischer Wert, sondern dass sie etwas zeigen, was bislang fast unsichtbar war: Die Zellwucherungen fallen im Magnetresonanzbild wegen ihres schwachen Kontrasts zu dem umgebenden Gewebe kaum auf: Grau auf Grau – extrem schwer abzugrenzen für den Chirurgen, der im Operationssaal darüber entscheidet, wie viel Gehirngewebe er entfernen muss.

Bei der Magnetresonanztomografie (MRT) nutzen Mediziner die Tatsache, dass sich die Durchblutung und damit die magnetischen Eigenschaften von krankem und gesundem Gewebe unterscheiden. Kontrastmittel wie Gadolinium verbessern die optische Darstellung. Sie können sich in den Tumoren anreichern und lassen die ursprünglichen Grautöne des Tumors besonders hell erstrahlen.

DIE OPERATION GLEICHT EINEM BLINDFLUG

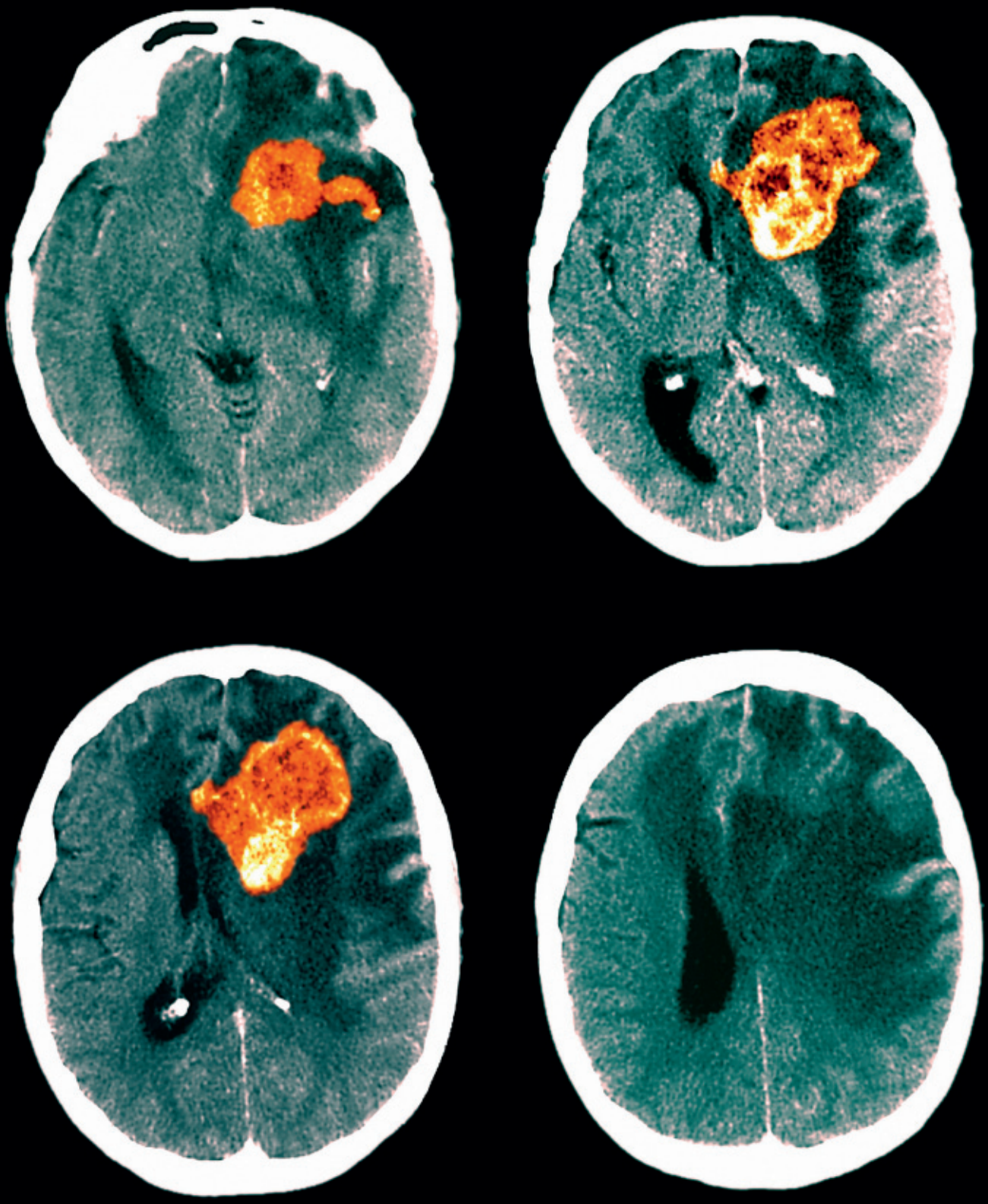
Aber das Gehirn stellt dieser Methode eine Hürde in den Weg – die Blut-Hirnschranke. Sie ist eine natürliche Schutzbarriere gegen das Eindringen von Krankheitserregern oder unerwünschten Substanzen. Wie eben Gadolinium. Nur die von der Weltgesundheitsorganisation als „sehr bösartig“ eingestuften Grad-IV-Glioblastome und das ebenfalls sehr bösartige Grad-III-Gliom lassen sich durch das Kontrastmittel vom umgebenden Gewebe differenzieren. „Bei Grad-III- und -IV-Tumoren funktioniert die Blut-Hirnschranke nicht richtig“, erklärt Arndt-Jovin. Gadolinium kann also ungehindert einströmen und den Tumorzellen Kontrast verleihen.

Doch Glioblastome gehören zu den aggressivsten Tumoren, sie wachsen schnell und infiltrieren das Gewebe. Zum Zeitpunkt der Diagnose ist das Umfeld des Tumors bereits von bösartigen Zellen durchseucht. Ohne Therapie überleben die Betroffenen die Diagnose um etwa drei Monate. Sehr spät für eine wirkungsvolle Behandlung – oft schon zu spät. Selbst bei optimaler Behandlung mit Operation und begleitender Bestrahlung und/oder Chemotherapie leben die Patienten im Schnitt lediglich ein Jahr länger.

Anders verhält es sich bei den „noch gutartigen“ Grad-II-Tumoren. Sie wachsen langsam, bilden weniger Tochtergeschwülste und könnten besser behandelt werden – theoretisch. Denn bei diesen Tumoren ist die Blut-Hirnschranke intakt und verwehrt Gadolinium den Zutritt. Im MRT sind Ödeme oder Entzündungen bestenfalls zu erahnen, die Randbereiche verschmelzen optisch mit dem gesunden Gewebe, die Operation gleicht einem Blindflug.

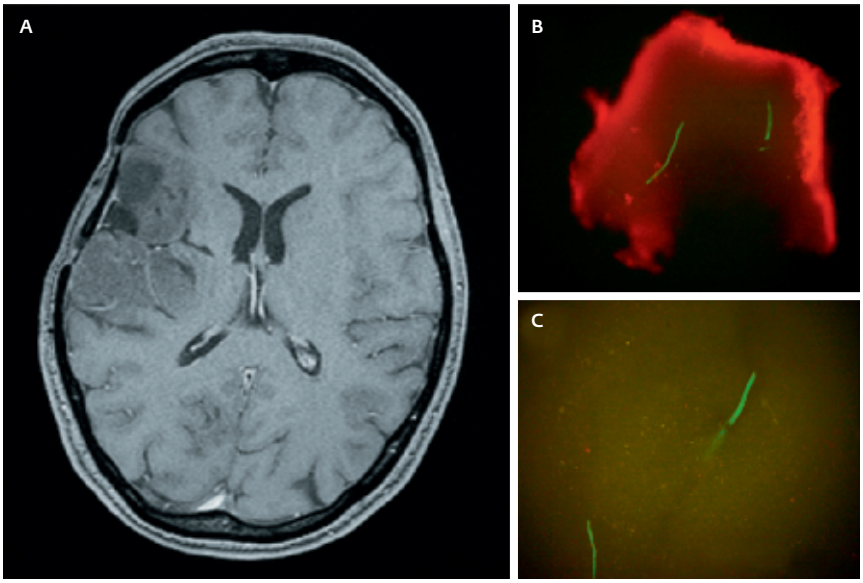
Ein Dilemma, vor allem im Gehirn: „Ein Darmtumor kann mit einem gewissen Sicherheitsabstand entfernt werden“, sagt Arndt-Jovin. Der Darm eines

Foto: SPL - Agentur Focus



Zu aggressiv für eine wirkungsvolle Behandlung: Ein Glioblastom ist in den verschiedenen Schnitten einer Kernspinaufnahme zwar sehr gut zu erkennen, seine Behandlung ist dennoch schwierig. Die Forscher um Donna Arndt-Jovin machen die Tumoren daher in einem früheren Stadium mit Quantenpunkten sichtbar und verbessern damit die Aussichten für die Behandlung.

» Die Methode kann Tumoren erstmals in ihrer gesamten Ausdehnung bis in den Randbereich hinein erfassen – dort, wo sich die bösartigen Zellen zwischen ihren gesunden Geschwistern verstecken.



An den Grenzen des Tumors: Im MRT-Bild (A) sind als dunkle Schatten im linken oberen Bildteil Ödeme zu sehen, die ein Grad-II-Oligodendroglioma verursacht. Die Umrisse des Tumors lassen sich aber nur klar erkennen, nachdem die Krebszellen mit Quantenpunkten gefärbt wurden (B). Fehlen den Quantenpunkten Antikörper für einen tumorspezifischen Rezeptor, sieht das Tumorgewebe aus wie gesundes Gewebe (C).

erwachsenen Menschen ist etwa acht Meter lang, ein halber Meter weniger schadet dem Patienten nicht. Schneiden die Ärzte aber im Gehirn bis an den diffusen Rand des Tumors und ziehen dadurch gesunde Bereiche in Mitleidenschaft, drohen dem Patienten verheerende Schäden. Gewebeteile könnten verletzt werden, die für Sprache zuständig sind oder für Bewegungsabläufe. Der Betroffene lebt zwar länger, doch um welchen Preis! Nehmen die Chirurgen hingegen zu wenig Tumormasse heraus, bleiben Krebszellen übrig. Nach sechs bis acht Jahren bilden verbliebene Tumorzellen eines Grad-II-Tumors im Schnitt einen neuen Krebsherd.

Deshalb gehören Hirntumore zu den häufigsten Krebs-bedingten Todesursachen, obwohl sie nur zwei Prozent der jährlichen Neuerkrankungen ausmachen. Einer, der tagtäglich mit den Patienten zu tun hat, ist Sven Kantelhardt: „Die Lebenserwartung dieser Patienten würde sich deutlich verbessern, wenn Hirntumore so früh und so vollständig wie möglich entfernt werden, ohne dass dabei gesundes Gewebe beschädigt wird“, sagt er.

DIE LÖSUNG: FLUORESZIERENDE QUANTENPUNKTE

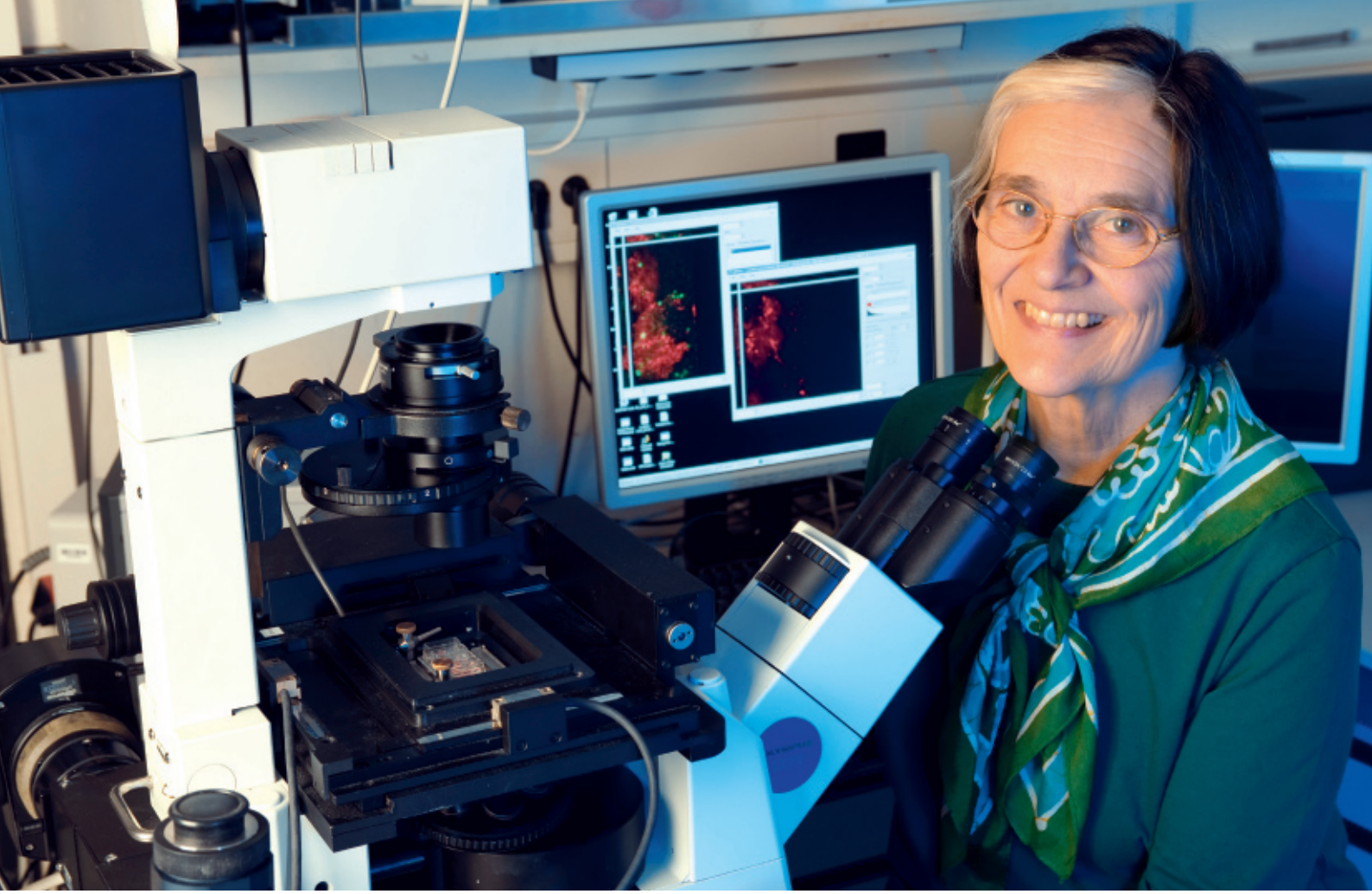
Als ihm vor Jahren ein Zeitungsartikel über die Forschung des Max-Planck-Instituts für biophysikalische Chemie in die Hände fiel, ahnte der Göttinger Universitätsmediziner sofort: Die darin beschriebene Methode der Max-Planck-Forschergruppe könnte die Tumoren erstmals in ihrer gesamten Ausdehnung bis in den Randbereich hinein erfassen – dort, wo sich die bösartigen Zellen zwischen ihren gesunden Geschwistern verstecken. Mehr noch: Vielleicht würden selbst kleine Gruppen von Tumorzellen in dem umliegenden Gewebe leuchten.

Der Zeitungsartikel enthielt erste Ergebnisse aus jener Zeit, als Donna Arndt-Jovin das international angelegte EU-Projekt FLUOROMAG koordinierte. Ein Ziel des Projekts war es, Nanopartikel für die medizinische Diagnostik von Tumoren zu entwickeln. Den Lösungsansatz hielt die Wissenschaftlerin schon vor dem Projektstart in den Händen: stark fluoreszierende Quantenpunkte, Halbleiterkristalle von nur wenigen millionstel Millimetern Größe, die je nach Größe eine spezifische Farbe ausstrahlen. „Als die erste Publikation über wasserlösliche Quantenpunkte veröffentlicht wurde, haben wir die Autoren gleich besucht. Wir waren eines der ersten Labore, die damit experimentiert haben“, erzählt sie.

Die Welt des Winzigen faszinierte die gebürtige Amerikanerin von Anfang an. Auf das Chemiestudium folgte die Promotion in Biochemie an der Yale University. Anschließend ging sie als Postdoktorandin nach Stanford und erforschte gemeinsam mit dem späteren Chemie-Nobelpreisträger Paul Berg zellbiologische Themen: „Ich glaube, dass man komplexe Themen besser mit einer breiten Ausbildung angehen kann.“ Und an komplexen Fragen mangelt es wahrlich nicht: Wodurch unterscheiden sich Krebszellen von gesunden Zellen? Welche Substanzen eignen sich, um sie ausfindig zu machen? Wie färbt man die Tumorzellen an, sodass sie für den Zeitraum einer Operation ausreichend lange sichtbar bleiben?

Auf den ersten Blick klingt die Antwort ganz einfach. Um „böse“ Zellen von „guten“ zu unterscheiden, ist ein Marker erforderlich, der auf den einen vorkommt und auf den anderen nicht. Der sogenannte Epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor (Her1), ein Protein in der Zellmembran teilungswilliger Zellen, schien als ein solcher Marker für Glioblastome geeignet. Wie bei Rezeptoren üblich passt zu Her1 nur ein einziges, im Blut schwimmendes Partnermolekül – wie ein bestimmter Schlüssel zu einem Schloss.

Abbildungen aus: doi:10.1371/journal.pone.0011323



Donna Arndt-Jovin trägt dazu bei, die Therapie von Hirntumoren zu verbessern: An dem eigens entwickelten *Progammable Array Microscope* (PAM) justiert sie eine Probe, in der Krebszellen sich mit funktionellen Nanopartikeln von gesundem Gewebe abgrenzen lassen.

Foto: MPI für biophysikalische Chemie

In diesem Fall heißt der Schlüssel Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF). Bindet nun EGF an seinen Rezeptor, kommt es im Inneren der Zelle zu einer Kaskade an chemischen Reaktionen: Die Zelle wächst, teilt sich, verlässt ihren Zellverbund. Ohne Her1 könnten Haare nicht wachsen, Darmzellen sich nicht regenerieren und Hautverletzungen nicht heilen. Doch bei Tumorzellen ist der aktivierte Rezeptor auch verantwortlich für jene tödlichen Zellteilungen, die im biologischen Bauplan eigentlich gar nicht vorgesehen sind.

Wenn es nun gelänge, fluoreszierende Quantenpunkte an Her1 zu heften, dann würden die Tumorzellen aufleuchten, als hätte man ihnen einen Lichtschalter verpasst. Das Kalkül der Wissenschaftler ging schließlich auf: Die Forscher koppelten Quantenpunkte mit EGF oder einem Antikörper gegen Her1 und erhielten so äußerst spezifische Quantenpunkt-Komplexe.

An sich sind Markierungen von Zellstrukturen durch Fluoreszenzfarbstoffe natürlich nichts Neues. Doch bleichen die klassischen Farbstoffe unter dem Mikroskop rasch aus. Was bei zellbiologischen Untersuchungen höchstens ärgerlich ist, wäre im Verlauf einer Operation ähnlich katastrophal wie ein Stromausfall. Seit Jahren fahnden Zellbiologen deshalb nach Alternativen.

EINE MARKIERUNG FÜR GRAD-II-TUMOREN

Quantenpunkte sind herkömmlichen Farbstoff-Molekülen in vielerlei Hinsicht überlegen: Sie bleichen nicht aus und ermöglichen so Zellbeobachtungen über Minuten oder gar Stunden hinweg. „Die markierten Zellen strahlen 200- bis 1000-mal mehr Photonen zurück als die gesunden Zellen. Die Quantenpunkte bilden die Grenze des Tumors dadurch außerordentlich scharf ab“, sagt Arndt-Jovin.

Kein Wunder, dass solche Nachrichten die Neurochirurgen der Universität Göttingen aufhorchen ließen. Schon länger hatten sie nach einer geeigneten Alternative für eine chemische Substanz namens 5-ALA (5-Aminolävulinsäure) gesucht, die bei der operativen Entfernung von Tumoren eingesetzt wird. 5-ALA reichert sich in Krebszellen stärker an als in gesunden Zellen und verwandelt sich dort in einen fluoreszierenden Farbstoff. Studien zufolge kann Krebsgewebe mit 5-ALA besser entfernt werden. Der Nachteil: Die Zellen eines Grad-II-Glioms sind gesunden Zellen schlichtweg noch zu ähnlich, um 5-ALA aufnehmen zu können. Der Randbereich eines Tumors bleibt weiterhin unscharf. Auch diese Methode eignet sich daher nur für sehr aggressive Tumoren.

Die beiden Zelltypen unterscheiden sich in den Wachstumsrezeptoren auf ihrer Oberfläche. „Gehirnzellen hören in den ersten Lebensjahren auf, sich durch Teilung zu vermehren“, erläutert Kantelhardt. Sie brauchen deshalb kaum oder gar kein Her1 – es sei denn, es handelt sich um teilungswillige Tumorzellen. Rasch setzten sich die Neurochirurgen mit Donna Arndt-Jovin zusammen. Eine Kooperation, die nun schon fünf Jahre dauert. Seitdem wird nicht nur fachliches Know-how ausgetauscht, auch Proben mit lebendigem

Biopsie-Material und Tumorzelllinien reisen aus dem Operationssaal ins Labor. Und tatsächlich, die Untersuchungen an echtem Tumorgewebe bestätigten sämtliche Hoffnungen: Krebszellen mit Komplexen aus Quantenpunkten und EGF zu markieren funktioniert sogar bei Grad-II-Tumoren!

AUF DER SUCHE NACH DEM URSPRUNG DER GLIOME

Doch der Weg vom gelungenen Laborversuch zur praktischen Anwendung ist weit. Denn der Kern der Quantenpunkte besteht aus Cadmiumselenid. „Würde Cadmiumselenid freigesetzt, könnte es für den Körper giftig sein“, sagt Arndt-Jovin. Die Forscher stellten zwar bei Untersuchungen an Mäusen über Monate hinweg keine negativen Auswirkungen fest, dennoch bleiben Bedenken für einen Einsatz am Menschen. Und noch etwas spricht gegen die Verwendung außerhalb des Labors: Aufgrund ihrer Größe erreicht die Quantenpunkt-Sonde nur drei bis vier Zellschichten in den Tumoren. „Im nächsten Schritt wollen wir daher noch kleinere Nanopartikel mit denselben Eigenschaften entwickeln, die tiefer in Krebsgewebe eindringen können und gleichzeitig ungiftig sind“, sagt Arndt-Jovin.

Auch die Suche nach Krebsmarkern ist längst noch nicht beendet. Lange Zeit setzten Wissenschaftler und Ärzte große Hoffnungen darauf, für jede Krebsart eine charakteristische Substanz zu finden. Diese Erwartung hat sich bislang nicht erfüllt.

Aber Her1 ist nicht das einzige Oberflächenmolekül, durch das sich Krebszellen von anderen unterscheiden. Wachstumsrezeptoren wie Her2 und Her3 oder andere Rezeptoren-Familien wie der Platelet-Derived-Wachstumsrezeptor sind häufig in Brust-, Leber- oder Lungenkrebszellen überaktiv – attraktive Ziele für die Krebsforschung: Da Gliome von unterschiedlichen Gehirnzellen abstammen, haben die Tumoren verschiedene Rezeptoren auf ihren Oberflächen. „Wenn wir Antikörper gegen verschiedene Rezeptoren mit Quantenpunkten unterschiedlicher Farbe verbinden, könnten wir den Ursprung eines Tumors ausfindig machen“, sagt Arndt-Jovin.

Und damit wandert der Blick bereits über den Tellerrand der Diagnostik hinaus: „Wir wollen solche Bindungsmechanismen nicht nur nutzen, um Tumorzellen von gesunden zu unterscheiden, sondern auch, um Chemotherapeutika einzuschleusen, die ausschließlich Tumorzellen angreifen“, sagt Sven Kantelhardt. Bisher spielt die Chemotherapie bei Hirntumoren nur eine untergeordnete Rolle, denn die meisten Medikamente scheitern an der Blut-Hirnschranke.

Pionier für eine lokale Behandlung ist das Chemotherapeutikum Gliadel® (Carmustin), das nach der Operation an Ort und Stelle des entfernten Tumors eingebracht wird. Diese Therapie verlängert zwar nachweislich die Überlebenszeit der Patienten und verzögert die Bildung neuer Tumoren. Allerdings wirkt Carmustin nicht so lokal wie erwünscht. Oftmals leiden die Patienten unter starken Nebenwirkungen: Hirnschwellungen, neurologische Ausfallerscheinungen oder epileptische Anfälle. Zudem ist das Medikament nur für Grad-III- und Grad-IV-Tumoren zugelassen. Mit den hochspezifischen Wirk-

Rot leuchtend hebt sich das Tumorgewebe von den gesunden Zellen ab. Die gelben und grünen Fluoreszenz-Signale sind für die Behandlung unerheblich (links). Sven Kantelhardt möchte die Methode nutzen, um Hirntumoren künftig in einem frühen Stadium gezielt operieren zu können.

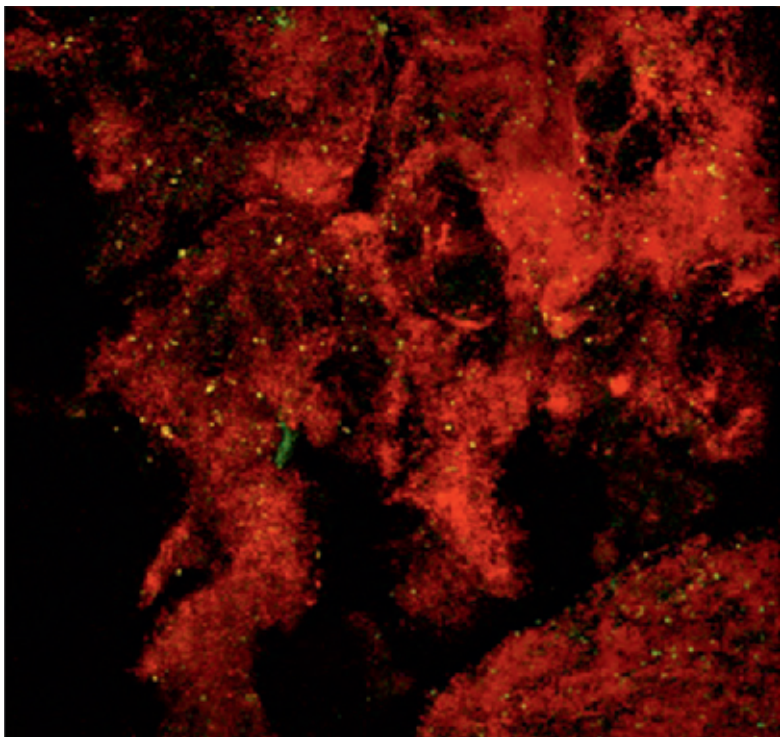
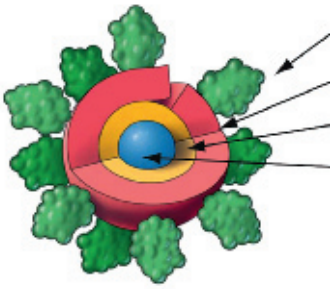
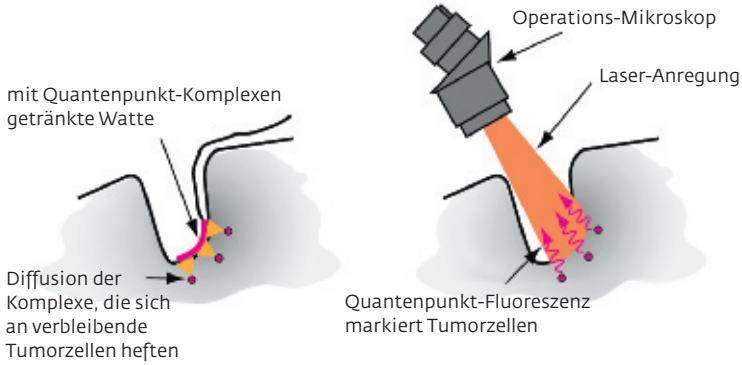


Abbildung aus: doi:10.1371/journal.pone.0011323; Foto: Neurochirurgische Klinik und Poliklinik, Mainz





links: Ein Nanopartikel, der Tumoren ans Licht bringt. Der Halbleiter-Nanokristall im Inneren besteht aus Cadmiumselenid (CdSe), die passivierende Hülle aus Zinksulfid (ZnS).

rechts: Ob ein Tumor bei einer Operation restlos entfernt wurde, soll sich künftig schon während des Eingriffs prüfen lassen: Der Chirurg legt ein mit funktionellen Nanopartikeln getränktes Gewebe (rot) in die Operationshöhle. Die Quantenpunkte lagern sich an die verbliebenen Krebszellen und werden durch einen Laserstrahl zum Leuchten angeregt.

stoff-Transportern auf Nanobasis ließe sich das Medikament nicht nur zielgenau zu den entarteten Zellen befördern, sondern darüber hinaus auch bei Grad-II-Tumoren anwenden.

EIN SCHNELLES MIKROSKOP, DAS DEN GANZEN TUMOR ZEIGT

Ein möglicher Kandidat ist das superparamagnetische Nanopartikel Eisenoxid. Schon heute arbeiten Krebsforscher mit Eisenoxid. „Im magnetischen Feld lagern sich die Partikel auf der Zelloberfläche zusammen, aktivieren den Rezeptor und werden anschließend von den Zellen aufgenommen“, sagt Arndt-Jovin. Das magnetische Feld erzeugt so viel Wärme, dass die Tumorzellen entweder irreparabel geschädigt oder für eine begleitende Radio- oder Chemotherapie sensibilisiert werden. Ein nächster Schritt wäre es, die Eisenoxid-Partikel mit krebswirksamen Wirkstoffen zu beladen.

Die Max-Planck-Forscher entwickeln aber nicht nur die Leuchtmarkierungen für das, was sie unter dem Mikroskop erkennen wollen, sondern sie entwerfen das geeignete Hochleistungsmikroskop gleich mit: ein sogenanntes *Programmable Array Microscope* (PAM). „Mit den herkömmlichen Mikroskopen können wir die Randbereiche des Tumors nicht genau genug erkennen“, sagt Thomas Jovin, Leiter des Labors für Zelluläre Dynamik. Schließlich geht es darum, möglichst keine Tumorzelle zu übersehen. Außerdem arbeiten die gebräuchlichen Raster-Scan-Laser-Mikroskope zu langsam. Der Laserstrahl tastet nur ein Bild pro Sekunde ab. Doch spätestens, wenn der Patient narkotisiert und mit geöffneter Schädeldecke auf dem Operationstisch liegt, geht es um jede Sekunde. „Das PAM tastet die gesamte Fläche auf einmal ab“, so Jovin, „Tausende Punkte gleichzeitig.“

Der emeritierte Direktor der Abteilung Molekulare Biologie leitet das PAM-Projekt seit zehn Jahren. Durch kontrollierte Lichtabgabe können Zellen, ja sogar Moleküle auf deren Oberfläche, über einen langen Zeitraum beobachtet werden, ohne die Zellen durch das Laserlicht zu schädigen. Mit dem neuen Mikroskop können die Wissenschaftler Tumoren dreidimensional aufnehmen und ihre Größe vermessen. Bald schon soll die industrielle Produktion des PAM3-Prototyps beginnen.

Schritt für Schritt nähern sich die Göttinger Wissenschaftler so dem Tag, an dem die Therapie eines Hirntumors folgendermaßen ablaufen könnte: Zunächst entfernen Operateure große Teile des Tumors, dann tränken sie sogenannte Hirnwatte mit einem Gemisch aus Nano-Farbstoff und dem entsprechenden Biomolekül und kleiden die Operationshöhle damit aus. Nach zehn bis 15 Minuten waschen sie ungebundene Nano-Komplexe aus – und dann, endlich, der große Moment: Die Neurochirurgen blicken durch das PAM3-Operationsmikroskop und erkennen haargenau, wo die beleuchteten Tumorzellen sich verstecken und welche sie davon risikolos entfernen können. Vielleicht enthalten jene Nano-Komplexe auch schon örtlich wirksame Chemotherapeutika. Auf diese Weise könnten einige der bösartigen Zellen eliminiert werden, die – unerreichbar für das Operationsbesteck – im gesunden Gewebe gerade ihr Nest bauen. ◂

GLOSSAR

Quantenpunkte

Ein bis fünf Nanometer große Halbleiterkristalle. Eine Hülle umgibt einen Kern aus Cadmiumselenid und schützt das Metall vor Oxidation. Eine weitere Hülle trägt ihn durch wässrige Flüssigkeiten. Die Elektronen des Quantenpunkts werden von den Photonen des Lichts angeregt, sodass sie Licht zurückstrahlen (fluoreszieren). Die Farbe des fluoreszierenden Lichts ist von der Kerngröße der Quantenpunkte abhängig.

WHO-Klassifizierung von Tumoren

WHO-Grad I
gutartig, langsames Tumorwachstum, sehr gute Prognose.
WHO-Grad II
noch gutartig, aber erhöhte Neigung zur Rezidivbildung, Übergang in bösartige Tumoren möglich.
WHO-Grad III
bereits bösartig, nach der Operation sind Strahlen- und/oder Chemotherapie notwendig.
WHO-Grad IV
sehr bösartig, rasches Tumorwachstum, nach der Operation sind Strahlen- und/oder Chemotherapie notwendig, schlechte Prognose.

Grafik: MPI für biophysikalische Chemie