

## Biomaterialien

# Synthetische Hydrogele als 3D-Matrix für definierte Gewebemodelle

ULRICH BLACHE<sup>1</sup>, MARTIN EHRBAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup> INSTITUT FÜR BIOMECHANIK, ETH ZÜRICH; ORTHOPÄDISCHE BIOMECHANIK, UNIVERSITÄTSKLINIK BALGRIST/ZÜRICH, SCHWEIZ

<sup>2</sup> KLINIK FÜR GEBURTSHILFE, UNIVERSITÄT UND UNIVERSITÄTSSPITAL ZÜRICH, SCHWEIZ

**Hydrogels are water-swollen polymer networks that are widely used as scaffold materials in 3D cell biology and tissue engineering. Biologists have commonly used hydrogels generated from natural extracellular matrix (ECM) polymers, which present challenges for biomedical applications due to their natural origin. Synthetic hydrogels are fabricated with fully defined material properties and can be modified to mimic the ECM. In this article, we discuss the design, recent applications and power of synthetic hydrogels for 3D tissue models.**

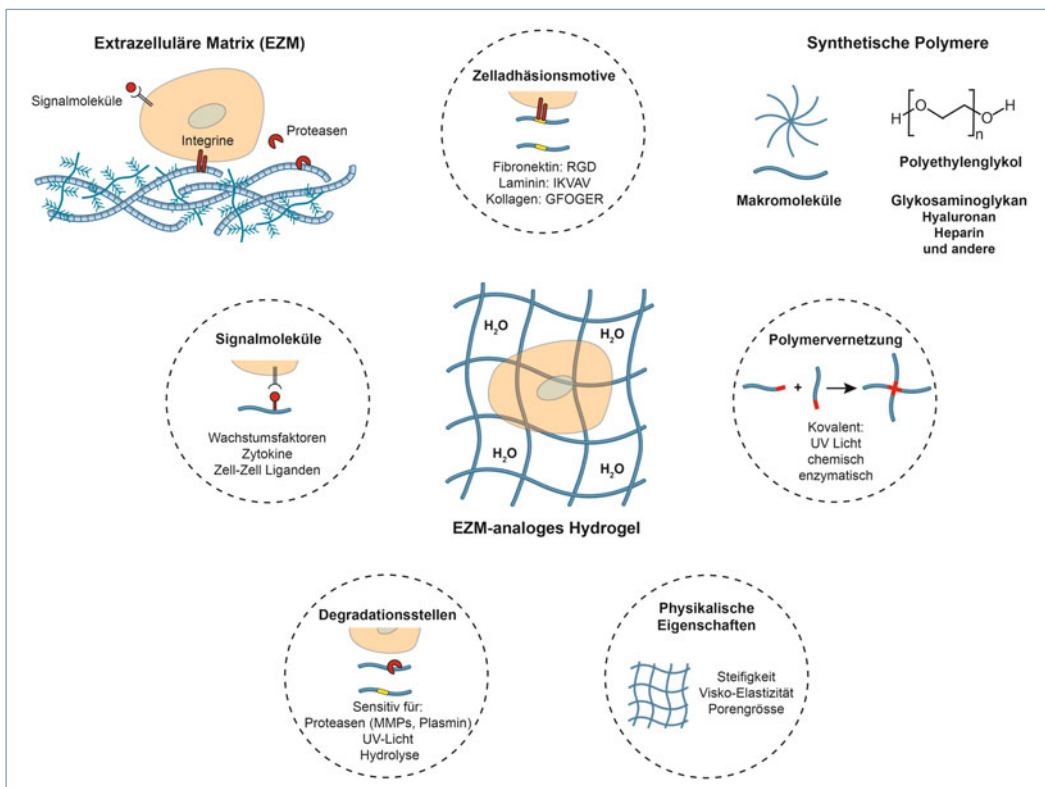
DOI: 10.1007/s12268-020-1409-z  
© Springer-Verlag GmbH 2020

Das Züchten von künstlichen Ersatzgeweben mittels Hydrogelen ist zu einem wichtigen Bestandteil der biomedizinischen Forschung geworden. Heute spielen besonders

miniaturisierte Gewebemodelle eine immer größere Rolle, um grundlegende Mechanismen der Molekular-, Zell- und Entwicklungsbiologie zu erforschen. Darüber hinaus wer-

den Gewebemodelle entwickelt, um zelluläre Krankheitsmechanismen zu untersuchen oder vorklinische Medikamententests, teils mit patientenspezifischen Zellen, durchzuführen. Um morphologisch und funktional relevante Gewebemodelle *in vitro* herstellen zu können, müssen menschliche Zellen unter geeigneten Bedingungen und in einer vorgegebenen räumlichen Anordnung kultiviert werden. Dabei kommt dem formgebenden Gerüstmaterial, auch Matrix genannt, eine Schlüsselrolle zu.

Gewebe bestehen aus verschiedenartigen Zelltypen, die weitgehend in eine extrazelluläre Matrix (EZM) eingebettet sind. Die von den Zellen selbst hergestellte EZM ist ein viskoelastisches, stark hydratisiertes Polymergeflecht aus Strukturproteinen und Polysacchariden. Durch ihre physikalischen und biochemischen Eigenschaften kommt der EZM eine wichtige Bedeutung bei der Steuerung vieler zellulärer Prozesse, wie z. B. Differenzierung, Wachstum und Migration, zu.



◀ **Abb. 1:** EZM-analoge Hydrogele. Biologische Eigenschaften der nativen extrazellulären Matrix (EZM), wie Zelladhäsionsmotive (abgeleitet von EZM-Proteinen), Signalmoleküle und Degradation (z. B. proteolytisch), werden in synthetische Polymergerüste integriert. Synthetische Makromoleküle wie Polyethylenglykol (PEG) oder Glykosaminoglykane (GAGs) lassen sich in Gegenwart von Wasser durch verschiedene Mechanismen (z. B. UV-Licht) zu Hydrogelen vernetzen. Die physikalischen Eigenschaften von synthetischen Hydrogelen können exakt definiert werden. MMP: Matrix-Metalloprotease.

Die EZM trägt damit entscheidend zur Entstehung und Erhaltung von Geweben mit ihren typischen Morphologien und Funktionen bei. Es ist deshalb nicht überraschend, dass aus tierischen Geweben oder Zellkulturen gewonnene EZM-Proteine seit über 40 Jahren erfolgreich als Hydrogelmatrix für das Züchten von künstlichen Geweben *in vitro* verwendet werden. Aus natürlichen Quellen generierte EZM-Hydrogele sind zwar biokompatibel, weisen aber meist nur eine geringe und kaum kontrollierbare Stabilität, eine ungenügend definierte Zusammensetzung und Schwankungen zwischen Produktionschargen auf. Sie sind deshalb für die reproduzierbare Herstellung von Geweben und Gewebemodellen nur beschränkt nutzbar.

#### Gewebemodelle in synthetischen, EZM-analogen Hydrogelen

Als Alternative zu EZM-Hydrogelen stellen Materialwissenschaftler/innen schon seit längerer Zeit synthetische Biomaterialien her, die nun auch in zellbiologischen Anwendungen Beachtung finden. Der Vorteil von

synthetischen Hydrogelen liegt darin, dass sie mit exakt definierten mechanischen, chemischen und biologischen Eigenschaften hergestellt werden.

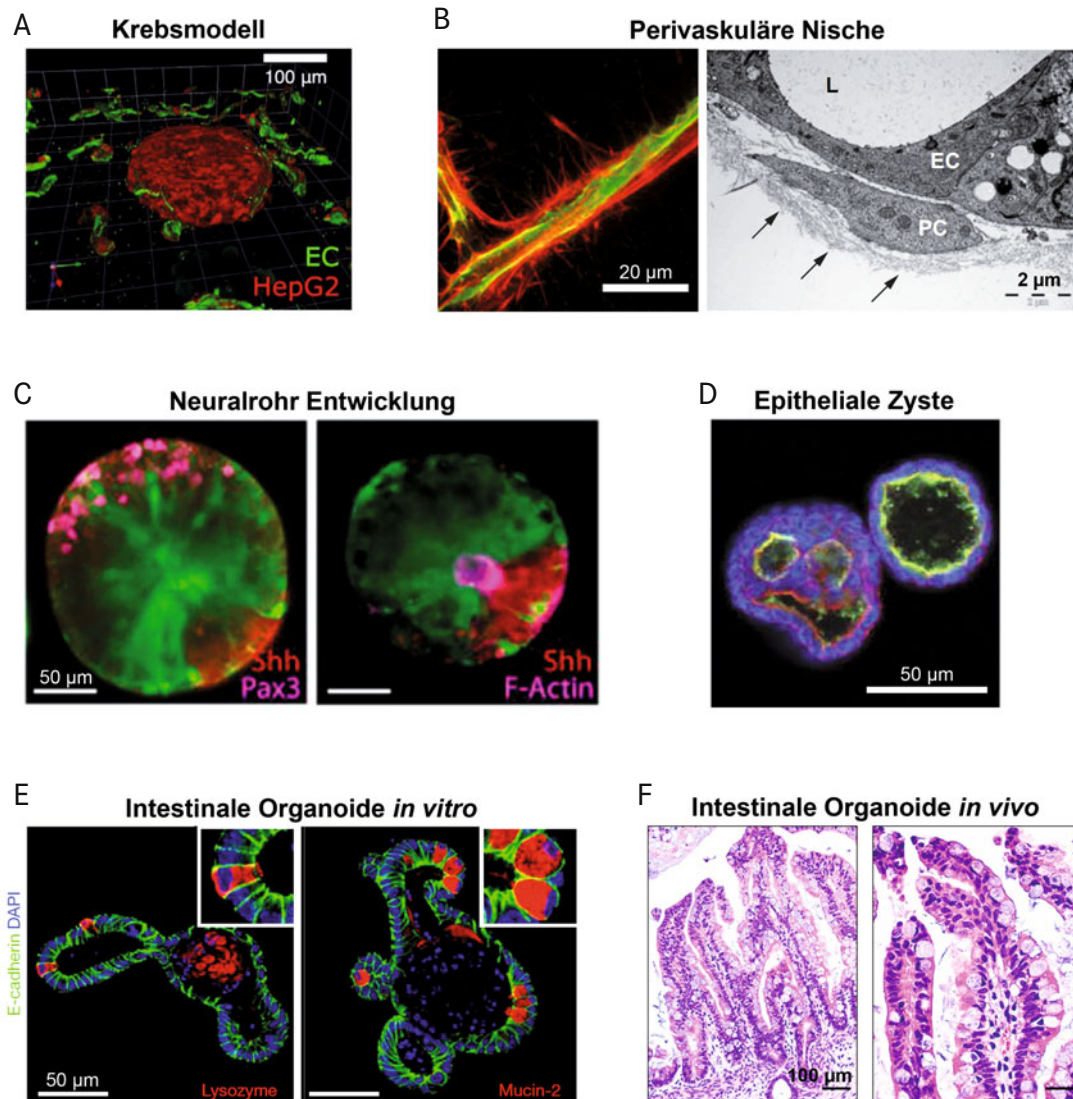
Synthetische Hydrogele entstehen durch eine licht-, chemikalien- oder enzymvermittelte Vernetzung von gleichartigen (oder einigen wenigen unterschiedlichen) Polymeren zu einem Materialgerüst. Durch die gezielte Wahl des Polymertyps, den Mechanismus der Vernetzung und die Vernetzungsdichte können die physikalischen Eigenschaften von Hydrogelen wie Viskoelelastizität, Steifigkeit und Porengröße kontrolliert und verändert werden. Die biologisch zunächst inaktiven Hydrogele werden in einem zweiten Schritt gezielt mit verschiedenen biologischen Eigenschaften funktionalisiert (**Abb. 1**). Dazu werden Schlüsseleigenschaften der nativen EZM, wie proteolytische Degradationsstellen, Zelladhäsionsmotive und Signalmoleküle (z. B. Rezeptorliganden), in das Materialgerüst eingebaut oder daran gekoppelt. Diese im Baukastenprinzip gestalteten EZM-analogen Biomaterialien erlau-

ben deshalb die einfache Kombination von Eigenschaften, die exakt auf die biologische Anwendung maßgeschneidert werden können. Für die dreidimensionale Zell- und Gewebekultur sind bis dato besonders Glykosaminoglykan(GAG)- oder Polyethylenglykol (PEG)-basierte Hydrogele erfolgreich zum Einsatz gekommen.

GAGs sind in der nativen EZM vorkommende Polysaccharide, die mit reproduzierbarer Qualität in Bakterienkulturen hergestellt werden können. Sie lassen sich einfach chemisch modifizieren und dadurch mit Anknüpfungspunkten für die Vernetzung und das Einbinden von biologischen Eigenschaften ausstatten, sodass semisynthetische Hydrogele entstehen. Das GAG Hyaluronan wurde z. B. für die Zelladhäsion und proteolytische Degradation optimiert, indem die von Fibronectin abgeleitete Peptidsequenz RGD (für die Zelladhäsion) und eine von Kollagen abgeleitete Matrix-Metalloprotease (MMP)-sensitive Sequenz (für die Degradation) integriert wurden. Anschließend ließ sich die Differenzierung von mesenchymalen

# Hier steht eine Anzeige.

 Springer



▲ **Abb. 2:** In synthetischen EZM-analogen Hydrogelen etablierte 3D-Modelle verschiedener Gewebe. **A,** Krebsmodell aus Blutgefäßendothelzellen (grün: EC) und Leberkrebszellen (rot: HepG2) [2]. **B,** Modell der Interaktion von lumenisierten Blutgefäßen (grün: EC) mit perivaskulären Stammzellen (PC). Grün: CD31/EC, rot: F-Aktin. Elektronenmikroskopie (rechts): L: endotheliales Lumen; EC: Endothelzelle; PC: perivaskuläre Zelle; Pfeile zeigen die extrazelluläre Matrix (EZM) [6]. **C,** Modell der Neuralrohrbildung aus embryonalen Stammzellen in neuroepithelialen Zysten. Grün: Sox1-GFP (neuronaler Marker), rot: Shh (ventraler Polarisierungsmarker), pink: Pax3 (dorsaler Polarisierungsmarker) [5]. **D,** Zysten- und Lumenformation von Nierenepithelzellen. Blau: DNA, grün: Podocalyxin (apikaler Polarisierungsmarker), rot: F-Aktin [4]. **E,** *In vitro*-Bildung von Organoiden aus intestinalen Stammzellen [7]. **F,** Darmschleimhaut mit typischer Zottenstruktur, gebildet aus *in vivo* implantierten Organoiden. Färbung: Hämatoxylin und Eosin [8].

Stammzellen in Knochenzellen oder Fettzellen über die Degradation steuern [1]. GAG-basierte Hydrogele können auch aus dem Polysaccharid Heparin in Kombination mit PEG-Molekülen gebildet werden. So wurden in einer hybriden Heparin-PEG-Hydrogelmatrix *in vitro* erfolgreich dreidimensionale Blutgefäß- und Krebsmodelle entwickelt [2, 3].

Vollsynthetische Hydrogele lassen sich aus PEG herstellen. PEGs kommen in der Natur nicht vor und werden chemisch als lineare oder sternförmige Moleküle mit verschiedenen „Armlängen“ synthetisiert. PEG-Hydrogele werden aber nach den gleichen

Prinzipien (Zelladhäsion, Degradation, Signalmoleküle) in EZM-analoge Biomaterialien verwandelt. Trotz ihres ursprünglich völlig inerten Charakters sind PEG-Hydrogele inzwischen sehr gut optimiert, sodass sie die Genese von Gewebemodellen erlauben und für Fragen der Molekular- oder Entwicklungsbiologie dienen können. Dazu zählen Modelle der epithelialen [4] und neuralen [5] Morphogenese oder der Zell-Zell-Interaktion in der perivaskulären Nische [6]. Darüber hinaus konnten PEG-Hydrogele erfolgreich für die Kultur von intestinalen Organoiden aus murinen und humanen Stammzellen

angewendet werden [7, 8] und in *Organ-on-a-chip*-Plattformen integriert werden [9].

Wie in **Abbildung 2** gezeigt, sind Modelle verschiedener Gewebe in synthetischen EZM-analogen Hydrogelen herstellbar. Entscheidend ist dabei auch, dass Zellen die Hydrogele zu ihrem Nutzen umgestalten und adaptieren. Die Rolle des Abbaus (Degradation) der synthetischen Matrix ist diesbezüglich gut charakterisiert. Im Gegensatz dazu steht die Forschung weiterhin vor der Frage, inwiefern die von den Zellen selbst produzierte EZM zum Gelingen von Gewebemodellen beiträgt [10].

## Möglichkeiten und nächste Schritte

Der Einsatz synthetischer Hydrogele eröffnet neue Möglichkeiten für die dreidimensionale Zell- und Gewebekultur. Durch ihren modularen Aufbau und die Vielzahl von existierenden biologischen Liganden und Systemen für deren Immobilisierung lassen sich individuell gewünschte zelluläre 3D-Mikroumgebungen erschaffen. Solche Ligandensysteme können darüber hinaus mittels lichtkontrollierter Aktivierung zeitlich aufgelöst werden, sodass Forscher/innen zukünftig 4D-Gewebemodelle zur Verfügung stehen [11]. Um die Bedeutung von EZM-Eigenschaften in Gewebemodellen isoliert zu untersuchen, können biochemische und physikalische Matrixeigenschaften in synthetischen Hydrogelen entkoppelt voneinander variiert werden [3, 4]. Des Weiteren vereinfacht die definierte Zusammensetzung von Hydrogelen die Analyse von Gewebemodellen, wovon auch diagnostische Ansätze profitieren könnten. Dazu kommt, dass synthetische Biomaterialien frei von tierischen Bestandteilen sind, was mit den gestiegenen gesellschaftlichen Ansprüchen im Einklang ist, Tiere nur dort für die Forschung einzusetzen, wo dies unumgänglich ist.

Für die vielseitigen und vielversprechenden Einsatzmöglichkeiten von synthetischen Hydrogelen existieren gute Protokolle, noch sind aber nur wenige Systeme frei erhältlich [12]. Somit stellt die kommerzielle Verfügbarkeit ein nächstes wichtiges Ziel dar, um synthetische Hydrogele einem weiten Anwenderspektrum zugänglich zu machen. ■

## Literatur

- [1] Khetan S, Guvendiren M, Legant WR et al. (2013) Degradation-mediated cellular traction directs stem cell fate in covalently crosslinked three-dimensional hydrogels. *Nat Mater* 12:458–465
- [2] Chwalek K, Tsurkan MV, Freudenberg U et al. (2014) Glycosaminoglycan-based hydrogels to modulate heterocellular communication in in vitro angiogenesis models. *Sci Rep* 4:4414
- [3] Taubenberger AV, Bray LJ, Haller B et al. (2016) 3D extracellular matrix interactions modulate tumour cell growth, invasion and angiogenesis in engineered tumour microenvironments. *Acta Biomater* 36:73–85
- [4] Enemchukwu NO, Cruz-Acuña R, Bongiorno T et al. (2016) Synthetic matrices reveal contributions of ECM biophysical and biochemical properties to epithelial morphogenesis. *J Cell Biol* 212:113–124
- [5] Ranga A, Girgin M, Meinhardt A et al. (2016) Neural tube morphogenesis in synthetic 3D microenvironments. *Proc Natl Acad Sci USA* 113:E6831–E6839
- [6] Blache U, Vallmajo-Martin O, Horton ER et al. (2018) Notch-inducing hydrogels reveal a perivascular switch of mesenchymal stem cell fate. *EMBO Rep* 19:e45964
- [7] Gjorevski N, Sachs N, Manfrin A et al. (2016) Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture. *Nature* 539:560–564
- [8] Cruz-Acuña R, Quirós M, Farkas AE et al. (2017) Synthetic hydrogels for human intestinal organoid generation and colonic wound repair. *Nat Cell Biol* 19:1326–1335
- [9] Occhetta P, Mainardi A, Votta E et al. (2019) Hyperphysiological compression of articular cartilage induces an osteoarthritic phenotype in a cartilage-on-a-chip model. *Nat Biomed Eng* 3:545–557
- [10] Blache U, Stevens MM, Gentleman E (2020) Harnessing the secreted extracellular matrix to engineer tissues. *Nat Biomed Eng* 4:357–363
- [11] Shadish JA, Benuska GM, DeForest CA (2019) Bioactive site-specifically modified proteins for 4D patterning of gel biomaterials. *Nat Mater* 18:1005–1014
- [12] Calliari SR, Burdick JA (2016) A practical guide to hydrogels for cell culture. *Nat Methods* 13:405–414

## Korrespondenzadresse:

Dr. Ulrich Blache  
Institut für Biomechanik  
ETH Zürich  
Orthopädische Biomechanik  
Universitätsklinik Balgrist/Zürich  
Balgrist Campus  
Lengghalde 5  
CH-8008 Zürich  
ulrich.blache@hest.ethz.ch

## AUTOREN



### Ulrich Blache

2008–2012 Biologiestudium an der Universität Leipzig, Auslandssemester am Biocentrum der Universität Basel, Schweiz. 2014–2018 Marie-Curie-Stipendium und Promotion im Bereich Biomaterialien an der ETH Zürich, Schweiz. Seit 2018 Postdoktorand an der Universitätsklinik Balgrist und der ETH Zürich.



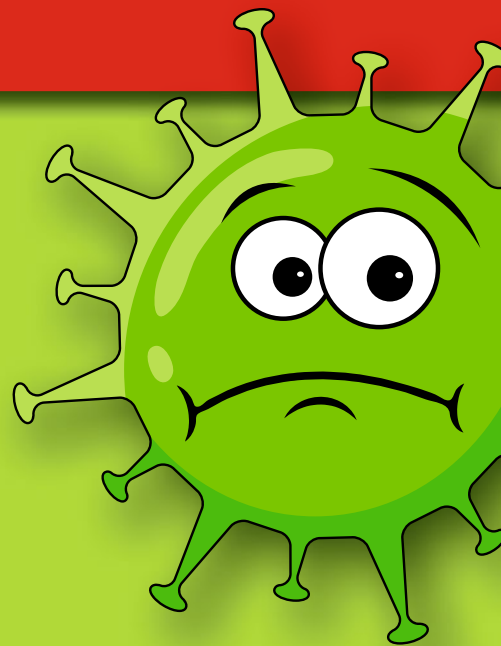
### Martin Ehrbar

1993–1998 Biologiestudium und 2000–2004 Promotion im Bereich Biomedizin an der ETH Zürich, Schweiz. Ab 2004 Postdoktorand und ab 2007 Gruppenleiter in der Gesichts- und Kieferchirurgie der Universität Zürich. Seit 2009 Forschungsleiter in der Abteilung Geburtshilfe der Universität Zürich.

Unser  
Produkt des Monats

COVIDSafe™

Das Inaktivierungs-Medium  
von HiMedia



Vor-Ort-Inaktivierung  
der viralen Virulenz

Risiko-freie  
Probenverarbeitung

Biosafety Level III  
nicht erforderlich

Kühlkette während des  
Transports nicht erforderlich

HIMEDIA® gibt's in Deutschland  
exklusiv bei

NEOFROXX  
Solutions for Science

www.neofroxx.com

Tel. +49 6251 989 24-0