

Tracerentwicklung zur Darstellung von (Leber-)Fibrogenese mittels PET

B. Kühle¹, Y. O. Kim², F. Rösch¹, D. Schuppan², T. L. Ross¹

¹Institut für Kernchemie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz

²Molekulare und Translationale Medizin, I. Medizinische Klinik und Poliklinik, Universitätsmedizin Mainz

Einleitung: Leberfibrose ist ein weitverbreitetes Krankheitsbild, welches sich aufgrund von verschiedenen Auslösern entwickeln kann. Dazu zählen sowohl chronische Hepatitis-Formen (B und C), als auch Alkoholkonsum oder eine nicht-alkoholische Fettleberhepatitis. Die Behandlung erfolgt in der Regel kausativ, was jedoch in vielen Fällen nicht ausreichend ist um das Fortschreiten der Krankheit zu verhindern. Daher stellt eine Lebertransplantation häufig die letzte Therapieoption dar.^[1] Die Diagnostik des fibrotischen Geschehens gestaltet sich zurzeit noch schwierig, vor allem bezüglich der mittleren Schweregrade. Elastographische Methoden (MRI/US) sowie Serummarker können zur Diagnostik herangezogen werden. Als „Goldstandard“ bezüglich Sensitivität und Selektivität gilt jedoch immer noch die Leberbiopsie mit anschließender histologischer Untersuchung. Allerdings versagt selbst diese (invasive!) Methode bei der korrekten Klassifizierung der mittleren Schweregrade (und dem Fortschritt der Krankheit). Fibrose verteilt sich sehr inhomogen über das Organ und die Biopsie-Proben repräsentieren nur etwa 1/50.000 der Leber. So zeigen manche Biopsien von zwei unterschiedlichen Punctionen desselben Organs gravierende Unterschiede im Schweregrad.^[2]

Im Rahmen dieses Projekts sollen Tracer entwickelt werden, die es ermöglichen, den Prozess der Fibrogenese mittels Positronen Emissions Tomographie zu untersuchen. Diese Imaging Modalität ermöglicht (bei gegebenem Radiotracer) eine Quantifizierbarkeit, sowie die Einbeziehung des gesamten Organs und stellt als nicht-invasive Methode daher einen vielversprechenden Ansatz für die Fibrosediagnostik dar.

Das Integrin $\alpha_v\beta_6$ wird in der Leber von Cholangiozyten exprimiert und korreliert mit der fibrogenetischen Aktivität der aktivierten Myofibroblasten, den ECM-produzierenden Zellen.^[3] Daher eignet es sich besonders als Target für die Tracerentwicklung. Für das Tripeptid EMD527040 sind Affinitäten im unteren nanomolaren Bereich bekannt. Dieses soll derart derivatisiert werden, dass es die Einführung von Radionukliden, die für die PET geeignet sind, erlaubt.

Aufgrund seiner guten Verfügbarkeit soll hierbei zunächst ⁶⁸Ga verwendet werden. Hierzu wurde EMD527040 mittels Standard-Peptidkopplungsmethoden an den Chelator DO3A-^tBu-N-(2-aminoethyl)ethanamid gekoppelt und anschließend im sauren Milieu entschützt. Zur sauberen Darstellung des Markierungsvorläufers wurde dieser zweifach per HPLC aufgereinigt.

Experimentelles: Zur Markierung wurden je 10, 20 und 30 nmol aus einer wässrigen Stammlösung ($c = 1 \text{ mg/mL}$)

verwendet und in 400 μL 0,13M HEPES-Puffer durch Zugabe von 400 μL Generator-Eluat (kationenaustauscherbasiertes *post-processing*) für zehn Minuten bei 95 °C radiomarkiert. Nach Abtrennung des Produkts mittels einer C18-Festphasen-Kartusche wurde dieses für Stabilitäts- und Affinitätsstudien sowie erste *in vitro* Zellversuche verwendet.

Ergebnisse und Diskussion: Abbildung 1 zeigt die per *Radio-DC* (SiO_2 , Citrat-Puffer pH 4) erhaltene Kinetik der Radiomarkierung in Abhängigkeit der Reaktionszeit und Vorläuferkonzentration. Es lässt sich ab einer Vorläufermenge von 20 nmol keine signifikante Verbesserung der Markierungsausbeute erkennen.

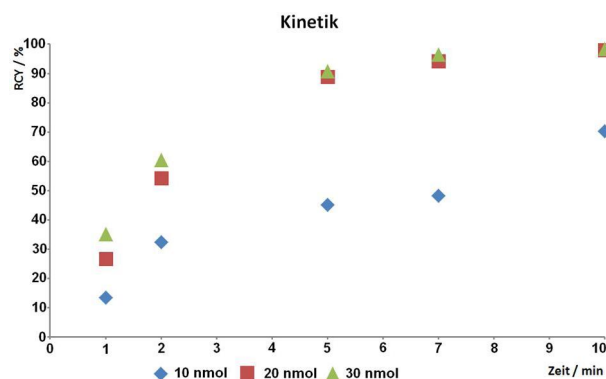


Abbildung 1: Kinetik der Radiomarkierung.

Der Tracer zeigte sich sowohl in PBS als auch in PBS + Transferrin (jeweils bei 37 °C) für mindestens 160 min stabil. Erste Affinitätsstudien an HT-29 und 603B Zellen werden zurzeit durchgeführt.

Der neue Radioligand ⁶⁸Ga-EMD527040 ist also ein vielversprechender Kandidat für weitergehende μPET -Studien, die in Zukunft an fibrotischen Mausmodellen durchgeführt werden sollen.

Acknowledgements: Das Projekt wird unterstützt durch das Max Planck Graduate Center Mainz sowie das European Research Council (ERC Advanced Grant, Projekt 294856).

Referenzen

- [1] D. Schuppan, N. H. Afdhal, *Lancet* 371, 838-851 (2008).
- [2] A. Regev et al., *Am. J. Gastroenterol.* 97, 2614-2618 (2002).
- [3] B. Wang et al., *Hepatology* 46, 1404-1412 (2007).