

Tracerentwicklung zur Darstellung von Leberfibrose mittels PET

B. Kühle¹, U. Biber², Y.O. Kim², D. Schuppan², T.L. Ross¹

¹Institut für Kernchemie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Germany; ²Molekulare und Translationale Medizin, I. Medizinische Klinik und Poliklinik, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Germany

Einleitung: Leberfibrose ist ein weitverbreitetes Krankheitsbild, welches sich aufgrund von verschiedenen Auslösern entwickeln kann. 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. Als „Goldstandard“ bezüglich Sensitivität und Selektivität gilt die Leberbiopsie mit anschließender histologischer Untersuchung. Diese (invasive) Methode ist zur korrekten Klassifizierung der mittleren Schweregrade (und dem Fortschritt der Krankheit) allerdings auch nur sehr bedingt geeignet. Fibrose verteilt sich sehr heterogen über das Organ und die Biopsie-Proben repräsentieren nur etwa 1/50.000 der Leber. So zeigen manche Biopsien von zwei unterschiedlichen Punktionen desselben Organs gravierende Unterschiede im Schweregrad.^[2]

Im Rahmen dieses Projekts sollen Tracer entwickelt werden, die es ermöglichen, den Prozess der Fibrose mittels Positronen-Emissions-Tomographie zu untersuchen. Diese Bildgebungs-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 $\alpha_5\beta_6$ wird in der Leber ausschließlich 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 den Antagonisten EMD527040 sind Affinitäten im unteren nanomolaren Bereich bekannt. Dieser 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.

Experimentelles: EMD527040 konnte mittels Standard-Peptidkopplungsmethoden in acht Stufen erfolgreich dargestellt werden. Dazu wurde von 3,5-Dichlorobenzaldehyd, *L*-Boc-*O*-Benzyl-Serin, 2-Aminopyridin und 5-Bromo-ethylvalerat ausgegangen. Anschließend wurde EMD527040 in zwei verschiedenen Weisen mit dem Chelator DO3A-^tBu-*N*-(2-aminoethyl)ethanamid gekoppelt und anschließend im sauren Milieu entschützt. Es wurden über zwei bzw. vier weitere Stufen zwei Markierungsvorläufer erhalten, die sich durch einen Tetraethylenglykol-Spacer zwischen Chelator und

Targeting-Vektor unterscheiden. Zur sauberen Darstellung der Markierungsvorläufer wurden diese per HPLC aufgereinigt.

Zur Markierung wurden für beide Tracer 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 (kationentauscherbasiertes *post-processing*^[4]) für zehn Minuten bei 95 °C radiomarkiert. Die Abtrennung der Produkte konnte jeweils durch ihre Fixierung auf einer C18-Festphasen-Kartusche, Waschen mit Wasser und Elution mit 0,5 mL Ethanol erreicht werden.

Ergebnisse und Diskussion: Die per *Radio-DC* (SiO_2 , Citrat-Puffer pH 4) bestimmte Ausbeute zeigte, dass ab einer Vorläufermenge von 20 nmol keine signifikante Verbesserung der Markierungsausbeute mehr zu erreichen war. Allerdings war ein Zusatz von 200 μL Ethanol zur Reaktionsmischung nötig, um bei der Verwendung von höheren Aktivitäten (500 vs. 50 MBq) die gleichen Ausbeuten zu erzielen.

Der Tracer zeigte sich sowohl in PBS als auch in PBS + Transferrin (jeweils bei 37 °C) für mindestens 160 min stabil. Die neuen ⁶⁸Ga-markierten Derivate des EMD527040 sind also vielversprechende Kandidaten für weitergehende μPET -Studien, die in Zukunft an fibrotischen Mausmodellen durchgeführt werden sollen.

Dazu werden aktuell *in vitro*-Studien an HT-29 sowie 603B Zellen durchgeführt sowie Vorversuche für Studien an dem isolierten Integrin $\alpha_5\beta_6$ vorbereitet.

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).
- [4] K. P. Zhernosekov et al., *J. Nucl. Med.* 48, 1741-1748 (2007).