

Bericht zur Studie „*in vitro*-Substanztestung in Deutschland und der Schweiz“¹

Ralf Pörtner¹, Ilka Wagner², Tamara Atanasova², Richa Gautam¹, Jasmin Gattlen³,
Markus Rimann³, Epifania Bono³, Ursula Graf-Hausner³, Uwe Marx²

1. Technische Universität Hamburg-Harburg, Deutschland
2. Technische Universität Berlin, Deutschland
3. TEDD, ZHAW Wädenswil, Schweiz

Motivation der Studie

Der Bedarf an Testsystemen für chemische und pharmakologisch aktive Substanzen ist aufgrund regulatorischer Vorgaben (EU-Chemikalienverordnung REACH, Kosmetikverordnung) immens gestiegen.

Anstelle der heute noch üblichen Tierversuche sollen künftig organotypische Gewebekulturen treten, deren Aussagekraft eine höhere Relevanz verspricht. Tierversuche werfen zur ethischen Problematik weitere Limitierungen wie die unzureichende Verfügbarkeit oder die häufig nicht gewährleistete Übertragbarkeit von Daten aus dem Tiermodell auf den Menschen auf. Es wird erwartet, dass durch organotypische Gewebekulturen die Medikamentenentwicklung und Wirkstoff-Testung sicherer und vorhersehbarer werden. Die neuen Testverfahren sind des Weiteren durch die Verwendung von patientenspezifischem Material als Ergänzung zu klinischen Studien zu sehen, da dadurch die genetische Vielfalt der Patienten besser berücksichtigt werden kann.

Im Jahr 2009 wurde unter Federführung der Fachgemeinschaft „Biotechnologie“ der DECHEMA eine Umfrage zu akademischen und industriellen Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet der Zell- und Gewebekulturtechnik für die regenerative Medizin und Substanzprüfungen in Deutschland durchgeführt, um den Status quo der organotypischen Gewebekultur in diesem Bereich zu ermitteln [1]. Die Studie identifizierte zum damaligen Zeitpunkt nur eine sehr begrenzte Anzahl von Forschungsak-

¹ Teile der Ergebnisse wurden in Biospektrum 4/14 veröffentlicht.

tivitäten zu organotypischen Gewebekulturen für die Testung von Arzneistoffen und kaum industrielle Anwendungen solcher Kultursysteme. Die identifizierten Zentren wurden in der Landkarte „Organoide Strukturen“ Deutschland zusammengefasst. Im Jahr 2013 wurde eine Neubewertung der Aktivitäten in diesem Bereich durchgeführt und um die Aktivitäten in der Schweiz erweitert. Die Umfrage wurde zudem stärker auf die *in vitro*-Substanztestung einschließlich der Nutzung systembiologischer Methoden ausgerichtet, um neue Trends und ggf. erforderlichen Handlungsbedarf zu identifizieren. Auf deutscher Seite wurde die Studie durch die Beiräte der Fachgruppen „Zellkulturtechnologie“ und „Medizinische Biotechnologie“ der DECHEMA e.V., auf schweizerischer Seite vom nationalen Kompetenzzentrum TEDD (Tissue Engineering for Drug Development and Substance Testing) getragen. Im Folgenden werden die erfassten Umfragedaten vorgestellt und anhand dieser die Entwicklungstendenzen in Deutschland in den letzten 5 Jahren und die Unterschiede zwischen Deutschland und der Schweiz diskutiert.

Methodik der Studie

Das Umfrage-Team nutzte die folgenden Strategien, um die wichtigsten deutschen und schweizerischen Gruppen in Akademie und Industrie auf dem Gebiet „Substanztestung / Regenerative Medizin“ zu identifizieren:

- Erhebungen in Online-Datenbanken zu Veröffentlichungen, Patenten, staatlichen Förderprogrammen nach vorgegebenen Stichwörtern (u.a. PubMed, G2C-Life Sciences (DECHEMA/VBU)), Keywords: *in vitro* toxicity test, *in vitro* cell assay, cell culture assay, tissue culture + tox + assay, organs on a chip, cell on a chip, tissue on a chip, Germany, 2009 - 2013;
- Erhebungen in den Datenbanken des nationalen thematischen Netzwerks Swiss Biotech (u.a. TEDD, Swiss Biotech Association, Biotechnet Switzerland „Pharma, Cosmetics, Cell Culture/Technologies“)
- Analyse von Kongressen (u.a. ALTEX 2012, EUSAAT 2012, ESCAT 2011, 3D Cell Culture Zürich 2012, Clinam 2013, World Medtech Forum Luzern 2012, TERMIS 2012), Messen (u.a. BIO Europe 2012, Biotechnica 2011) und anderen Quellen (u.a. Guide to German Biotech Companies 2012, spezielle toxikologische Studien (ALTEX, EUSAAT, KMU, G2C-Life Sciences (DECHEMA/VBU)), GTAI Guide to Contract Research Germany), Annual Re-

port 2012 (Institute for Surgical Technology and Biomechanics – ARTORG Center for Biomedical Engineering Research);

- Internet-Suche.

Es wurde ein Fragebogen entwickelt, um die Relevanz der identifizierten Institutionen zu überprüfen und um zu beurteilen, mit welcher Komplexität von Testsystemen in den jeweiligen Institutionen gearbeitet wird. Der Fragebogen umfasste die folgenden Aspekte:

- Werden *in vitro* Zellkultursysteme für die Substanztestung und / oder regenerative Medizin verwendet?
- Werden "omics"-Techniken (Genomics / Transkriptomics / Metabolomics / Proteomics / sonstige) für die Zellkultur-Analyse verwendet?
- Werden "omics"-Datensätze in der systembiologischen Auswertung zusammengeführt?
- Welche Arten von Zellquellen (primäre Zellen, Gewebe bzw. Organe / Zelllinien) werden genutzt?
- Werden in Testansätzen mehrere unterschiedliche organotypische Kulturen miteinander kombiniert, um Organwechselwirkungen nachzubilden?

Umfrage zu aktuellen Entwicklungstrends in der *in vitro* Substanztestung

Basisdaten:

Organisation	
Ansprechpartner	
Telefon/Mail	

Ihre Daten werden anonymisiert verarbeitet.

1. Arbeitet Ihre Arbeitsgruppe mit <i>in vitro</i> Zellkultursystemen für die	
a. In vitro Substanztestung	<input type="checkbox"/>
b. Regenerative Medizin	<input type="checkbox"/>
2. Nutzen Sie „- Omics“-Technologien für die Zellkulturanalyse	
a. ja	<input type="checkbox"/>
wenn ja, welche	
<input type="checkbox"/> Genomics, <input type="checkbox"/> Transkriptomics, <input type="checkbox"/> Metabolomics, <input type="checkbox"/> Proteomics,	
sonstige	<input type="text"/>
b. nein	<input type="checkbox"/>
3. Führen Sie „- Omics“-Datensätze in systembiologische Auswertung zusammen?	
a. ja	<input type="checkbox"/>
b. nein	<input type="checkbox"/>
Nur auszufüllen wenn 1a) angekreuzt wurde	
4. Arbeitet Ihre Arbeitsgruppe mit	
a. primären Zellen, Geweben bzw. Organen	<input type="checkbox"/>
b. Zelllinien	<input type="checkbox"/>
5. Kombinieren sie in einem Testansatz mehrere unterschiedliche organotypische Kulturen miteinander, um Organwechselwirkungen nachzubilden?	
a. ja	<input type="checkbox"/>
b. nein	<input type="checkbox"/>

Abbildung 1: Fragebogen zur *in vitro*-Substanztestung in Deutschland und der Schweiz

Auswertung

Für Deutschland ergab die Recherche nach akademischen Gruppen (universitäre, klinische und an Forschungsinstituten arbeitende) zunächst 4880 Treffer. Diese wurden durch Ausschluss von Mehrfachauführungen auf 1146 Kontakte reduziert (867 an Universitäten bzw. Universitätskliniken, 272 an Forschungsinstituten, 7 an anderen Institutionen), von denen 62 die zweimalige Email-Anfrage beantworteten. Bei der großen Anzahl von Kontakten war eine häufigere Kontaktierung bzw. eine direkte Kontaktaufnahme nicht möglich. Die Suche nach Firmen führte zu 141 Kontakten bei 103 positiven Antworten (Kontakt durch Emails, Fax und Telefon). Für die Schweiz wurden 104 akademische Gruppen und 228 Firmen identifiziert. Durch die Einrichtung eines Online-Fragebogens konnte ein Rücklauf von 56 bzw. 30 positiven Antworten erreicht werden. Dazu waren allerdings der Versand von mindestens 2 Emails und teilweise telefonische Nachfragen erforderlich. Vereinzelt wurde der Fragebogen direkt am Telefon ausgefüllt.

Für Deutschland ist bei der Anzahl der Veröffentlichungen von 2009 – 2012 fast eine Verdreifachung pro Jahr zu erkennen (Abb. 2). Da für 2013 nur die ersten Monate berücksichtigt wurden, ist zu erwarten, dass sich dieser Trend fortsetzt.

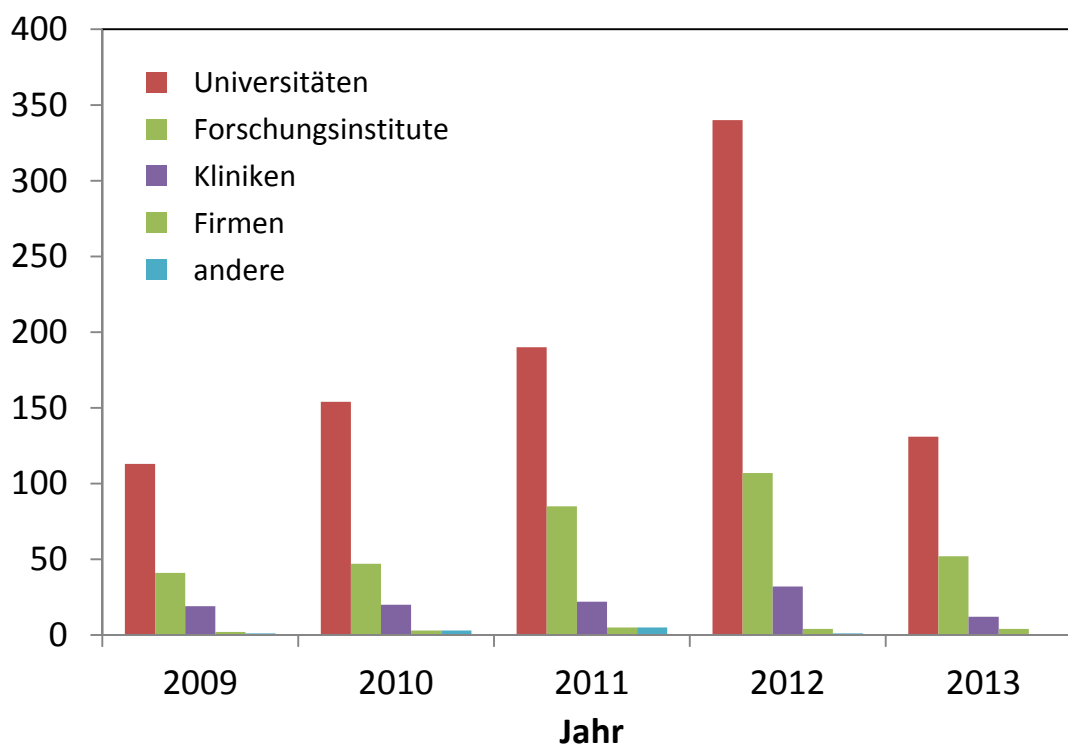


Abbildung 2: Verteilung der Treffer aus der Recherche in online-Datenbanken für Deutschland

Die regionale Verteilung der identifizierten akademischen Institutionen und Firmen ist in Abb. 3 dargestellt. Akademische Institutionen mit mehr als 30 Kontakten fielen auf die Regionen Aachen (38), Berlin (82), Dresden (37), Freiburg (39), Hannover (57), Heidelberg (70), Leipzig (35), München (85), Münster (31), Regensburg (30), Tübingen (44), Würzburg (34). Dies spiegelt im Wesentlichen die Standorte der großen klinischen Zentren wieder. Die meisten Firmen (mehr als 6 Nennungen) finden sich dagegen in den Räumen Berlin, Frankfurt, Hamburg und München.

Abbildung 3: Regionale Verteilung der identifizierten akademischen Institutionen und Firmen

Abb. 4 stellt die Verteilung der Institutionen nach Bundesländern dar, die sich an der Umfrage beteiligt haben. Für Deutschland finden sich die Firmen zum überwiegenden Teil in den Bundesländern Baden-Württemberg, Bayern, Berlin und Nordrhein-Westfalen. Für die Schweiz konzentrieren sich die akademischen Institutionen auf die Kantone Bern, Basel und Zürich, die Firmen auf die Kantone Basel, Ticino und Zürich.

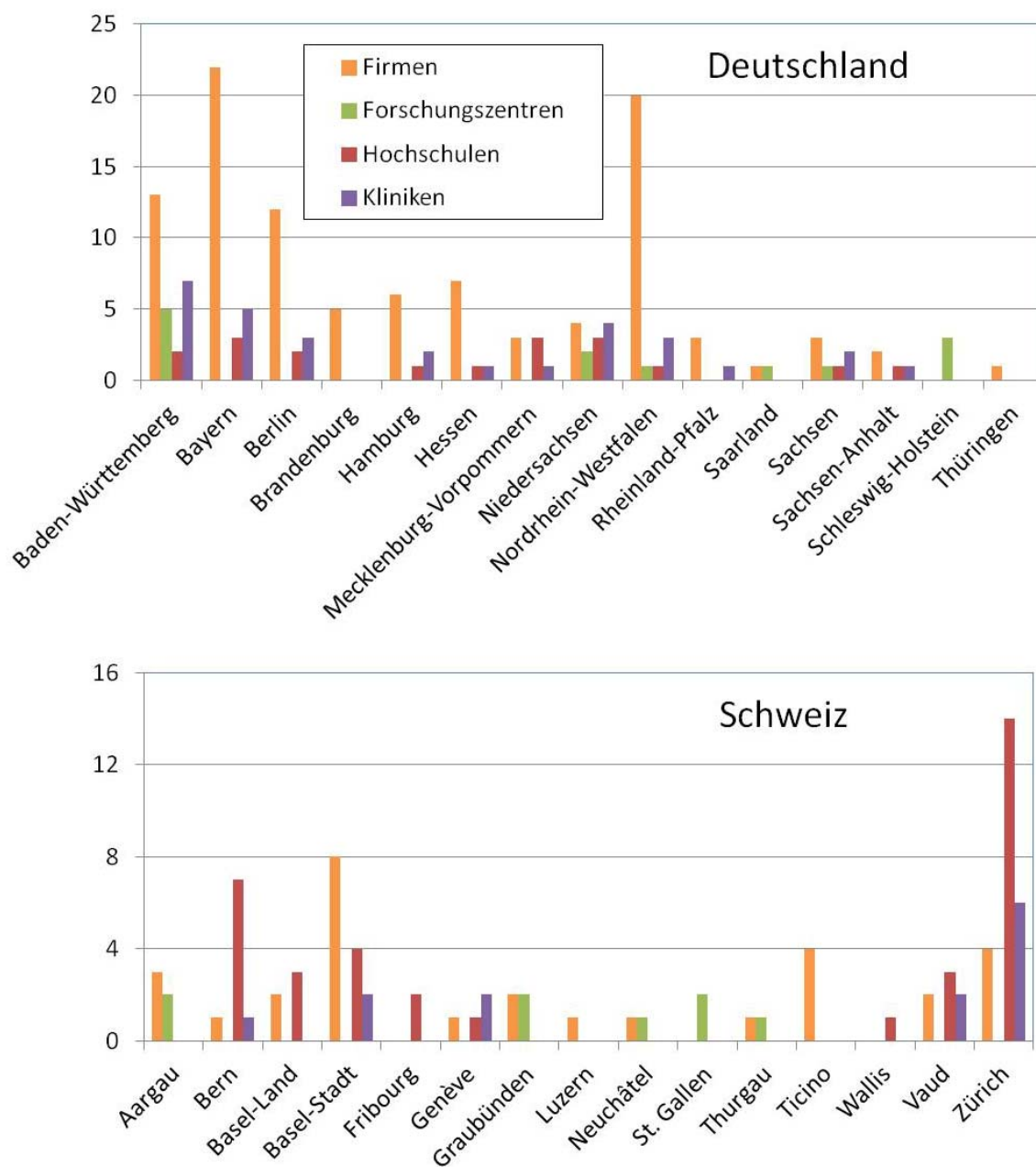


Abbildung 4: Verteilung der an der Umfrage teilgenommenen Institutionen nach Bundesländern (Deutschland) und Kantonen (Schweiz), nicht genannte Bundesländer bzw. Kantone ohne Antwort

Die Auswertung der Umfrage ist in Abb. 5 zusammengefasst. Für Deutschland lassen sich die folgenden Schlüsse ziehen:

- Mehr akademische Institutionen und Firmen sind in der "Substanztestung" aktiv als in der "Regenerativen Medizin". Hier ist allerdings zu berücksichtigen, dass die Rücklaufquote bei akademischen Institutionen gering war. Es ist nicht auszuschließen, dass viele der akademischen Institutionen, die nicht geantwortet haben, sich von „Substanztestung“ nicht angesprochen fühlten.
- Die relative Anzahl der Firmen, die in der "Substanztestung" **und** in der "Regenerativen Medizin" aktiv sind, ist gering.
- "Omics"-Techniken scheinen vor allem in akademischen Institutionen angewendet zu werden.
- Gleiches gilt für primäre Zellen, Gewebe und Organe sowie für organotypische Gewebekulturen.

Für die Schweiz ergibt sich folgendes:

- Im Vergleich zu Deutschland, sind relativ mehr akademische Institutionen und Firmen in "Regenerativer Medizin" aktiv.
- Die relative Anzahl der Firmen, die in der "Substanztestung" **und** in der "Regenerativen Medizin" aktiv sind, scheint höher zu sein als in Deutschland.
- "Omics"-Techniken scheinen gut in der Industrie etabliert zu sein, weniger in der Akademie.
- Primäre Zellen, Gewebe und Organe sowie organotypische Gewebekulturen scheinen in der Akademie und bei Firmen gut etabliert zu sein.

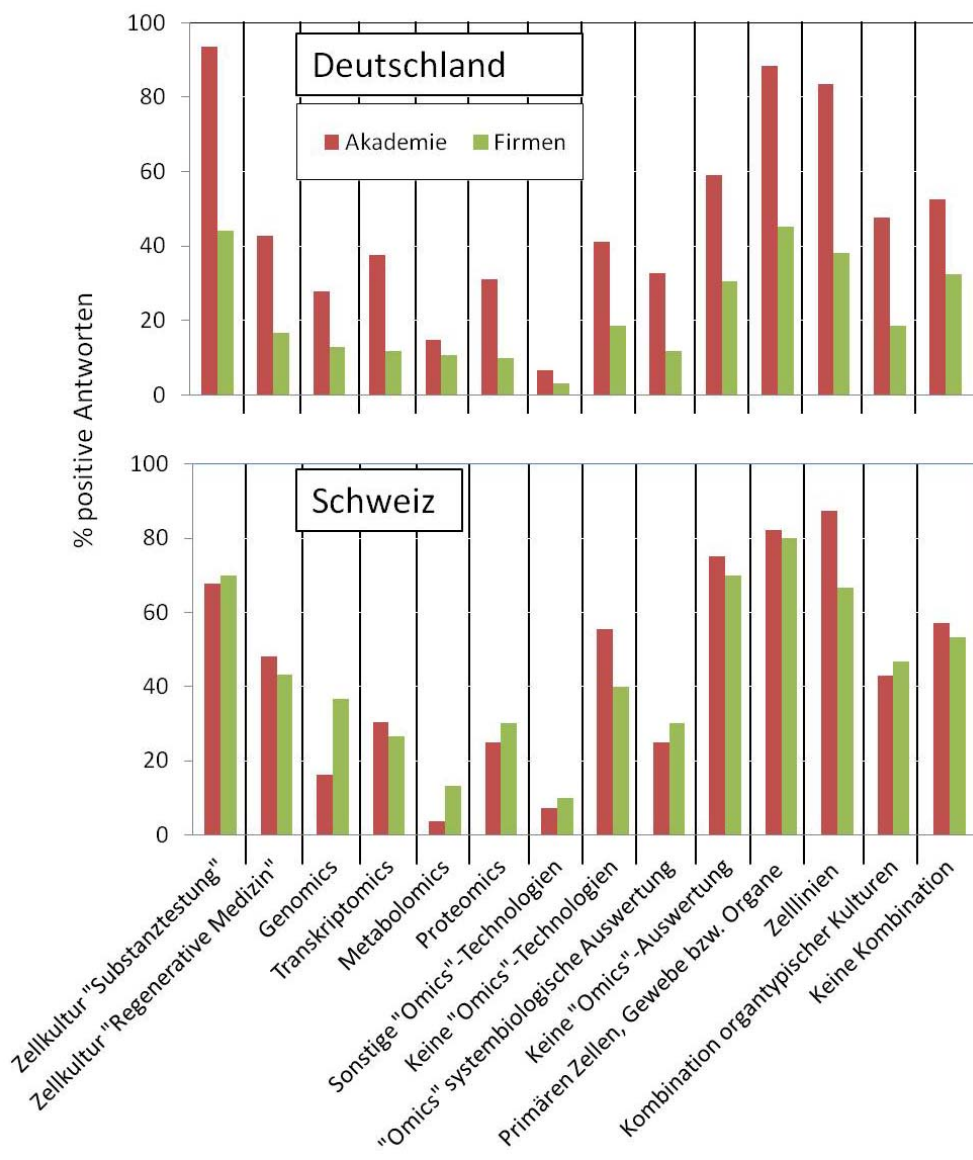


Abbildung 5: Einsatz von verschiedenen Methoden der *in vitro*-Substanztestung bei akademischen Institutionen und Firmen in Deutschland und in der Schweiz.

Schlussfolgerungen

Für Deutschland lässt sich aus den aktuellen Daten im Vergleich zur Umfrage 2009 grundsätzlich eine erhebliche Zunahme der Aktivitäten im Bereich „Regenerative Medizin/Substanztestung“ registrieren. So wurden damals nur 161 akademische Institutionen identifiziert, jetzt mehr als 1000. Bei den identifizierten Firmen hat sich die Anzahl etwa verdoppelt, der überwiegende Teil im Bereich der „Substanztestung“. 2009 wurden noch mehr Firmen im Bereich „Regenerative Medizin“ identifiziert. Die Daten legen den Schluss nahe, dass wenige Firmen in beiden Bereichen aktiv sind. Demzufolge hat die industrielle „Substanztestung“ erheblich an Bedeutung gewonnen. Allerdings wurde im industriellen Bereich ein erheblicher Nachholbedarf bzgl. moderner Methoden wie bei den „Omics“-Techniken oder bei der Nutzung von Ge-

weben oder organtypischen Strukturen festgestellt. Bislang werden diese Techniken vornehmlich im universitären Bereich eingesetzt.

Im Vergleich dazu konnte für die Schweiz kein wesentlicher Unterschied zwischen „Substanztestung“ und „Regenerativer Medizin“ gefunden werden, beide Bereiche scheinen gleich bedeutend zu sein. Auch in Bezug auf die Anwendung von „Omics“-Techniken zeigen sich Unterschiede. Für die Schweiz wurde ermittelt, dass diese Techniken sehr viel besser in der Industrie etabliert zu sein. Organotypische Gewebekulturen werden hier auch industriell eingesetzt.

Insgesamt unterstreicht die Studie die zunehmende Bedeutung von zellbasierter Substanztestung, auch im industriellen Umfeld. Dabei ist das Potential neuer Technologien („Omics“, organotypische Kulturen) bei weitem noch nicht ausgeschöpft. Wie die Daten aus der Schweiz und auch Vorträge auf der DECHEMA-Tagung 3DCC 2014 (Freiburg) zeigen, wird insbesondere von großen Firmen der Mehrwert dieser Technologien anerkannt und genutzt. Es gilt, in Zukunft auch kleineren und mittelständischen Firmen die Möglichkeit zu eröffnen, aussagekräftigere zellbasierte Tests zu etablieren. Da die Einführung von „Omics“-Technologien bzw. organotypischen Kulturen üblicherweise sehr zeit- und kostenintensiv ist und zudem eine enge Kooperation verschiedener Fachgebiete in Wissenschaft und Ingenieurwesen bedingt, sollten nationale und transnationale Fördermaßnahmen hier unterstützend eingesetzt werden. In Anbetracht der weit verbreiteten, grundsätzlichen Vorbehalte gegenüber (schwer)belastenden Tierversuchen kommt zudem der Förderung alternativer *in vitro* Testmethoden eine ausserordentlich wichtige, gesellschaftliche Bedeutung zu.

Danksagung

Wir bedanken uns herzlich für die finanzielle Unterstützung der Studie durch die DECHEMA und die Gebert RUF Stiftung.

Literatur

[1] Pörtner R, Burger Ch, Maier-Reif K, Goepfert Ch, Hoffmann S, Scriba A, Marx U (2010) Organotypic Tissue Cultures for Substance Testing – A Survey of Academic and Industrial Activities in Germany. BIOforum Europe 3: 21-23

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr.-Ing. habil. Ralf Pörtner
Technische Universität Hamburg-Harburg
Institut für Bioprozess- und Biosystemtechnik
Denickestr. 15
D-21073 Hamburg
Tel.: ++49 (0) 40 42878-2886
Fax: ++49 (0) 40 42878-2909
poertner@tuhh.de