Potentielle medizinische Anwendungen des Atomic Force Microscope

Marko Loparic[a], Marija Plodinec[a], Roderick Lim[a], Robert Sum[b]
[a] Biozentrum der Universität Basel
[b] Nanosurf AG, Liestal

In der Schweiz erkranken jährlich rund 5500 Frauen an Brustkrebs, der häufigsten Krebsart bei Frauen. Trotz bedeutender medizinischer Fortschritte ist die Diagnose von Brustkrebs immer noch schwierig. Die technikbedingten tagelangen Wartezeiten bis zur exakten Diagnose werden von den Patientinnen oft als sehr beunruhigend und unangenehm wahrgenommen. Gefährlich sind die fehlenden Kenntnisse darüber, ob sich der Tumor bereits ausgebreitet hat und Metastasen bildet. Auch die spezifischen strukturellen Veränderungen von Krebszellen und der sie umgebenden extrazellulären Matrix, die eng mit der der Entstehung von Metastasen verknüpft sind, bleiben häufig unentdeckt.

Das neue Analysegerät «ARTIDIS» (Automated and Reliable Tissue Diagnostics / Automatisierte und zuverlässige Gewebediagnostik; Name des Messgeräts) hat das Potential, mit Hilfe seiner hervorragenden nanomechanischen Sensitivität verschiedene Stadien von Weichteilerkrankungen des Menschen zu unterscheiden und zu klären, ob ein Tumor vorhanden ist und ob er gut- oder bösartig ist. Zudem kann mit ARTIDIS eine Gewebediagnostik aufgrund quantitativer Messungen – ergänzt mit statistischen Auswertungen – durchgeführt werden, anstatt wie bisher mit qualitativen histologischen Beurteilungen.

In den letzten Jahren wurden immer mehr Arbeiten im Bereich der nanomechanischen Eigenschaften von Zellen und der umgebenden Matrix publiziert [1]. Durch den Zugriff auf diese Eigenschaften mittels Rasterkraftmikroskopie (Atomic Force Microscope) wird ein neues Feld der Nanomechanik-Diagnostik eröffnet, das die mechanischen Eigenschaften von gesunden und kranken Zellen bzw. Gewebe untersucht. Das Team um Prof. Roderick Lim vom Biozentrum der Universität Basel hat auf der Basis eines Atomic Force Microscope ein Diagnostiktool entwickelt, mit dem die nanomechanischen Eigenschaften von Gewebebiopsien untersucht werden können. Das pathologische Institut des Universitätsspitals Basel verfügt bereits über ein ARTIDIS-System, mit dem zum ersten Mal Gewebeproben im Umfeld einer klinischen Einrichtung untersucht werden.

Abbbildung 1
Eine Atomic-Force-Microskope-Sonde, bestehend aus einer Siliziumblattfeder mit scharfer Siliziumspitze, tastet eine Brustgewebeprobe ab.

Der «nanomechanische Fingerabdruck» von Krebs

Die Häufigkeitsverteilung der Elastizitätsmodule spiegelt die sehr heterogene Struktur bösartiger Tumore wider. Bei gesundem Gewebe und gutartigen Tumoren ist diese Häufigkeitsverteilung sehr viel homogener. Kennzeichnend für bösartig entartetes Gewebe ist zudem das Auftreten einer sehr weichen Region, die Krebszellen charakterisiert, welche wiederum von einem steifen Mikroumfeld umgeben sind. Diese Erkenntnisse untermauern die Annahme, dass sich weiche Krebszellen leichter deformieren und dadurch besser durch das umliegende Gewebe hindurchzwängen können. Die Anwesenheit des gleichen Typus von weichen Zellen in Lungenmetastasen von Mäusen bekräftigt den Zusammenhang zwischen den physikalischen Eigenschaften von Krebszellen und ihrem Potenzial, den primären Brusttumor zu verlassen und zu metastasieren.

Die Entdeckung dieser so grundlegenden Eigenschaft von Krebszellen erlaubt es, dass «nanomechanische Fingerabdrücke» als quantitative Marker in der Krebsdiagnostik verwendet werden. Diese Marker haben das Potenzial, die Gefahr der Bildung von Metastasen abzuschätzen. Der Zeitaufwand von Tagen für eine Diagnose mit herkömmlichen Verfahren verringert sich mit ARTIDIS zudem auf Stunden.

Methodik

Die Atomic-Force-Mikroskopie ist in Forschungslabors eine etablierte Methode, um Strukturen im Nanometerbereich abzubilden. Dazu wird eine Sonde über die Oberfläche der Biopsie gerastert; die Sonde besteht aus einer feinen Siliziumblattfeder, an deren Ende eine mikrofabrizierte Spitze angebracht ist. Die Wechselwirkungskräfte zwischen der Probe und der Sonde liegen

im Nano-Newton-Bereich und verbiegen die Blattfeder, was durch einen Lichtzeiger gemessen wird. Damit kann mit dem Rastermechanismus mit winzigen Kräften in die Biopsie gedrückt werden. Da die Wechselwirkungskräfte mit dem Atomic Force Microscope im Nano-Newton-Bereich gemessen werden können, kann die Sonde benutzt werden, um die Elastizität von Materialien zu untersuchen, zum Beispiel von menschlichem Gewebe. Dazu wird die Sonde in die Oberfläche gedrückt und deren Verbiegung gemessen. Mit Hilfe von kontaktmechanischen Modellen können aus einer solchen Kraft-Distanz-Kurve das Elastizitätsmodul der Biopsie und die Adhäsionskraft zwischen Sonde und Biopsie gemessen werden (Abb. 1 📷).

Das Diagnosegerät ARTIDIS beruht auf der Technik eines Atomic Force Microscope. Mit ihr können einzelne Zellen und extrazelluläre Strukturen einer Gewebeprobe abgetastet werden. Die Erstellung eines «nanomechanischen Fingerabdrucks» erfolgt durch ein systematisches Abtasten der ganzen Biopsie mit über 10 000 Kraft-Distanz-Messungen. Um die Analysezeit weiter zu reduzieren, sollen das verwendete Mikroskop, seine Geschwindigkeit und seine Sensitivität im molekularen Grössenbereich gezielt an die klinischen Bedürfnisse angepasst werden.

Wichtigste Ergebnisse

Die Vermessung von über 100 Gewebeproben von Brustkrebspatientinnen mittels ARTIDIS zeigte, dass sich die nanomechanischen Fingerabdrücke von bösartigen

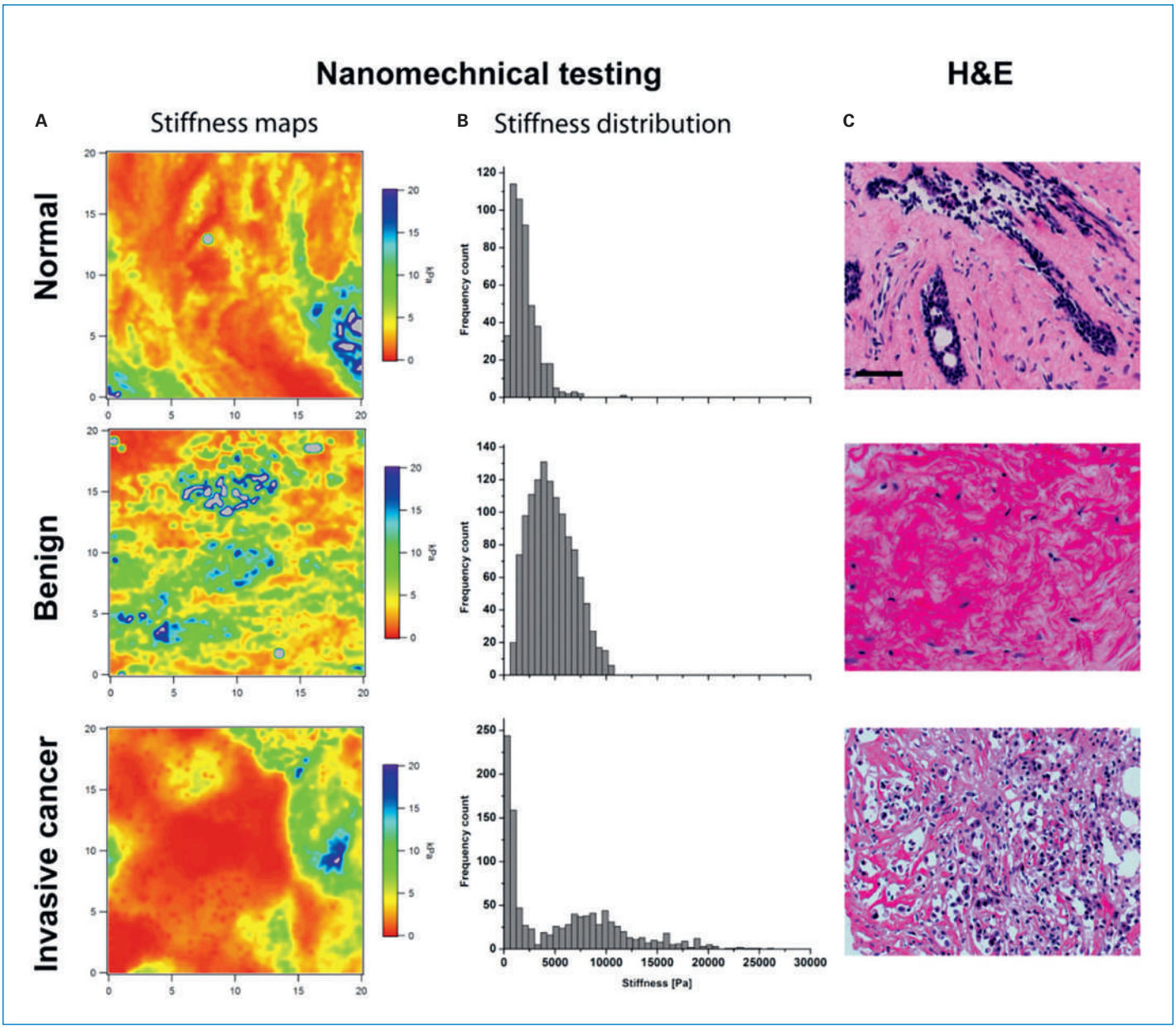

Abbildung 2
A Steifigkeitskarten über 20 µm von gesundem Gewebe, gutartigem und invasivem Tumor.
B Typische Steifigkeitsverteilungen entsprechender Gewebeproben.
C Dazugehörige histologische Schnitte.

Brusttumoren deutlich von denen gesunden Gewebes und gutartiger Tumore unterscheiden (Abb. 2 📷) [2]. Die am Universitätsspital Basel durchgeführten histologischen Gewebeuntersuchungen (H&E) bestätigten diese Ergebnisse. Zudem zeigte eine in Zusammenarbeit mit dem Friedrich Miescher Institut durchgeführte Studie am Tier, dass hier die Brusttumore dasselbe nanomechanische Profil aufweisen und auch in den Lungenmetastasen dieselben weichen Zellen zu finden sind.

Weitere Anwendungsmöglichkeiten

Die Anwendung von ARTIDIS ist nicht auf die Diagnostik von Brustkrebs begrenzt. Im Prinzip kann eine Vielzahl von verschiedenen Gewebearten (Brustgewebe, Knorpel, Haut, Retina, Blutgefässe, Blasengewebe) und deren Erkrankungen mit ARTIDIS untersucht werden. Im Vergleich zu konventionellen Methoden, mit denen beispielsweise frühe Stadien von Arthrose nicht erkannt werden können, hat das Atomic Force Microscope das Potenzial, bereits die Entstehungsphase dieser Krankheit zu erkennen [3, 4]. Für Menschen mit Knieproblemen eröffnet diese Früherkennung bessere Behandlungsmöglichkeiten mit besseren Heilungschancen.

Neben der präzisen und raschen Diagnose vereinfacht ARTIDIS auch den Prozess der Biopsie-Entnahme für die Behandlung von Knorpelgewebe. Für konventionelle diagnostische Methoden werden dem Patienten mehrere Biopsieproben entnommen und anschliessend im Labor untersucht; mit ARTIDIS kann die Qualität der Probe bestimmt werden, und es wird nur noch eine einzige kleine Menge für die Analyse benötigt, was ebenfalls die Erfolgsrate einer späteren Therapie erhöht.

ARTIDIS könnte auch in Laboratorien für Gewebeherstellung bald zur Standardausrüstung gehören, da es Gewebeschädigungen erkennen und bewerten kann. Durch seine nicht gewebeschädigende Art der Untersuchung kann bestimmt werden, ob ein im Labor hergestelltes Gewebe strukturell und mechanisch für die Implantation in den Patienten geeignet ist oder nicht.

ARTIDIS ist das erste Atomic Force Microscope, das geeignet ist für Anwendungen im klinischen Bereich. Dies insbesondere dadurch, dass es einfach zu handhaben ist und auch im nanomechanischen Grössenbereich die Genauigkeit hat, um Diagnosen für verschiedenste Erkrankungen zu stellen.

Verdankung
Die Autoren danken der Kommission für Technologie und Innovation (KTI) für die Unterstützung des Projekts. Forschungs-Grant-Nr.: KTI 11977.2 & 14540.2 PFNM-NM.

Korrespondenz:
Marko Loparic
Klingelbergstrasse 70
CH-4056 Basel
marko.loparic[at]unibas.ch

Literatur

1 Jonietz E, et al. Nature. 2012;491:56.
2 Plodinec M, et al. Nature Nanotechnology. 2012;7:757–65.
3 Loparic M, et al. Biophysical Journal. 2010;98:2731–40.
4 Stolz M, et al. Nature Nanotechnology. 2009;4:186–92.