

## **Abschlussbericht Teil II: Eingehende Darstellung**

### Individualisierte Herzmuskulatur für die Behandlung bei Herzinsuffizienz (IndiHeart)

Zuwendungsempfänger: A: Universitätsmedizin Göttingen

B: Leibniz-Institut für Primatenforschung

C: Max-Planck-Institut für Dynamik und Selbstorganisation

D: Leibniz Universität Hannover, IMES

Projektleiter: Teilprojekt A: Prof. Wolfram-Hubertus Zimmermann

Teilprojekt B: Prof. Rabea Hinkel

Teilprojekt C: Prof. Eberhard Bodenschatz

Teilprojekt D: Prof. Dr.-Ing. Thomas Seel

Projekttitel: Individualisierte Herzmuskulatur für die Behandlung bei Herzinsuffizienz (IndiHeart)

Projektkategorie: Rahmenprogramm Gesundheitsforschung  
Organersatz aus dem Labor

Förderkennzeichen: **161L0250A-D**

Laufzeit: 2021-2024

Berichtszeitraum: **2021-2025**

---

## **1. Aufgabenstellung und Vorarbeiten**

Ziel des IndiHEART-Projektes war es, ein hypoinmunogenes und individualisiertes Herzmuskelgewebe (hiEHM) für die personalisierte Anwendung in Patienten mit Herzmuskelschwäche zu entwickeln. Das Projektziel soll durch eine Kooperation der Antragsteller mit komplementären Expertisen im Bereich des Tissue Engineerings (UMG: Zimmermann), der späten präklinischen Testung im Großtiermodell (DPZ: Hinkel), der Simulation biologischer Prozesse (MPI: Bodenschatz) und der Prozessautomatisierung (IMES: Seel) erreicht werden. Das Projekt basierte maßgeblich auf Vorarbeiten der UMG zur Entwicklung von künstlichem Herzgewebe und des DPZ zur präklinischen Testung künstlicher Herzgewebe im Rhesus Makaken Modell.

Basierend auf den aus den Vorarbeiten abgeleiteten Erkenntnissen wurden folgende übergeordnete Projektziele und Verantwortlichkeiten definiert:

- 1) Charakterisierung von Multischicht-hiEHM (Projektleitung: Zimmermann)
- 2) Prüfung von hiEHM Überleben im Rattenmodell (Projektleitung: Zimmermann)
- 3) Testung von allogenen hiEHM im Rhesus Makakenmodell (Projektleitung: Hinkel)
- 4) Simulation der Herzfunktion und Herzreparatur mit hiEHM (Projektleitung: Bodenschatz)
- 5) Automatisierte Herstellung individualisier hiEHM (Projektleitung: Seel)

Im Folgenden sind die spezifischen Arbeitspakete (AP) und Meilensteine/Deliverables (M/D) sowie der abgeschlossenen Arbeiten hierzu dargestellt.

## 2. Ablauf

### **AP1: Charakterisierung von Multischicht-hiEHM (1.1.2022-31.12.2022)**

Im ersten Arbeitspaket wurde zunächst eine hypo-immunogene induzierter pluripotenter Stammzellen nach Gornalusse (Gornalusse et al., 2017) erzeugt. Bei der weiteren Charakterisierung wurde eine nicht erwartete Aktivierung von NK-Zellen beobachtet, vermutlich aufgrund der Expressionsstärke des B2M-HLA-E-Trimer Fusionsproteins. Über eine Neuentwicklung des hypo-immunogenen Modells durch eine Kombination von B2M knock-out und B2M-HLA-E Fusion knock-in in den AAVS1 Locus konnten wir eine neue hi-iPSC Linie mit reduzierter Expressionsstärke des B2M-HLA-E-Trimer Fusionsproteins herstellen. Entsprechend unserer Arbeitshypothese konnten wir in diesem modifizierten hypoimmunogenen Modell eine Reduktion der NK (CD107a) Aktivierung beobachten (M/D 1.1). Die Herstellung neuer hi-iPSC-Linien war mit einem zeitlichen wie auch finanziellen Mehraufwand verbunden. Dieser wurde kostenneutral durch Reduktion des Arbeitsprogramms in AP1 und AP2 kompensiert.

hi-iPS Zellen wurden expandiert und erfolgreich zu Herzmuskelzellen und Stromazellen differenziert. Aus den gewonnenen Zellen wurden EHM hergestellt und deren Kontraktilität nach Reifung quantifiziert. Dabei wurden keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen festgestellt. Die Charakterisierung der hiEHM Funktion wurde mit der funktionellen Charakterisierung abgeschlossen (M/D 1.2).

Basierend auf neuen, bei Projekterstellung nicht vorliegenden Erkenntnissen (Jebran et al., 2025) sind mehrschichtige EHM auch nach Implantation weitgehend resistent gegenüber transienten hypoxischen Zuständen. Aufgrund dieser Beobachtung haben wir von den initial geplanten Hypoxie-Studien abgesehen (M/D 1.3).

Die für den Abschluss der Studie notwendigen Herzmuskelzellen und Stromazellen wurden aus den hypoimmunogenen iPSCs hergestellt. Die so erhaltenen Herzmuskelzellen konnten gemäß bereits im Menschen etablierten Protokollen kryokonserviert werden. Bis 4/2024 wurden hypoimmunogene-Mehrschicht-EHM für fünf von initial acht geplanten Implantationen bereitgestellt. Die für den Abschluss der Studie notwendigen Herzmuskelzellen und Stromazellen wurden aus den hypoimmunogenen iPSCs hergestellt und kryokonserviert.

### **AP2: Prüfung von hiEHM Überleben im Rattenmodell**

Dank eines neuen, umfangreichen Datensatzes zur Implantation von EHM im Nacktratten- und Affenmodell (Jebran et al., 2025) sowie vor dem Hintergrund des Mehraufwandes in AP1 und die Notwendigkeit der Prüfung im allogenen Großtiermodell wurde auf eine Untersuchung im Kleintiermodell verzichtet.

### **AP3: Testung von allogenen hiEHM im Rhesus Makaken Modell**

Die neu entwickelten hypo-immunogenen hiEHM Implantate (5x EHM aus 200 Millionen hiPSC-abgeleiteten Herzmuskelzellen und Stromazellen) wurden allogenen in fünf Rhesus Makaken unter unterschiedlichen Immunsuppressionsprotokollen gemäß Versuchsprotokoll (LAVES: 33.9-42502-04-21/3758) implantiert. Die Implantation erfolgte drei Monate nach

durch Ischämie/Reperfusion induziertem Herzinfarkt auf die individuellen Infarktfolgen der Versuchstiere. Aufgrund bisher nicht eindeutiger histopathologischer Ergebnisse mit Nachweis von implantierten Herzmuskelzellen in nur einem Versuchstier wurde entschieden, zunächst zwei weitere Versuchstiere zu implantieren. Die Freigabe dafür durch das zuständige Niedersächsische Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES) ist erst nach Abschluss des IndiHeart Projekts in 2025 erfolgt. Die Arbeiten zur Prüfung des Überlebens von hiEHM wird nach Abschluss des IndiHeart Projekts fortgeführt.

#### **AP4: Simulationen der Herzfunktion und Herzreparatur mittels individuell entwickelten hiEHM**

Es wurde ein SGST (second generalized structure tensor) Modell zur Simulation und quantitativen Analyse von Ventrikeln verschiedener Geometrien sowie Narbengewebe in EHM entwickelt und validiert. Der Strukturtensor bildet die Gewebeanisotropie detailliert ab und erlaubt es Auswurffraktion und Schlagvolumen in Abhängigkeit von Narben-Position, EHM-Position und EHM-Orientierung quantitativ vorherzusagen. Das Modell (**GöHeart**) bildet die Basis für rationales Design und iterative Anpassung und Optimierung von individualisierten Herzpflastern. (M/D 4.1) Das GöHeart-Modell wird aktuell mit einem KI-Ansatz weiterentwickelt (**GöHeart-AI**). Das entwickelte Einkammer-Modell mit expliziter Berücksichtigung der Faserorientierung wurde auf ein 2-Kammer-Modell erweitert. Die simulierten Stressvektoren können automatisch in druckbaren g-Code umgewandelt für eine weitere Bearbeitung an das IMES übertragen werden. (M/D 4.2)

MPI und IMES haben in 4.2 eine Schnittstelle zum Datenaustausch entwickelt. Die vom DPZ bereitgestellten prä- und post-Infarkt MRT-Daten (AP 3.2) wurden vom MPI importiert und zur Einspeisung in die GöHeart Simulationen verarbeitet. Simulationen zur Berechnung der linksventrikulären Auswurffraktion (LV-EF) in gesunden und herzkranken Versuchstieren wurden im 1- und 2-Kammermodell durchgeführt und mit den experimentellen Daten abgeglichen. Der Effekt von EHM mit unterschiedlicher Faserorientierung wurde quantitativ simuliert, um die best-mögliche EHM-Implantat-Orientierung zu ermitteln. (M/D 4.3)

Darauf aufbauend untersuchten wir die Auswirkungen verschiedener Faserverteilungen (kontinuierlich und geschichtet), auf die Pumpleistung des linken Ventrikels und schufen damit eine theoretische Grundlage für EHM-Design, -Implantation und Auswirkungen auf den Herzkammerdruck. Die zeitaufwändige Finite-Elemente-Simulationen sollen durch weiterführende Arbeiten über physikalisch-fundierte neuronale Netzwerke (PINN) ersetzt werden (GöHeart-AI), um die Simulation im klinischen Kontext anwendbar zu machen.

#### **AP5: (Teilprojekt D) Entwicklung eines automatisierten Verfahrens für die Herstellung individualisierter hiEHM basierend auf Simulationsdaten**

Ein 6-Achs-Roboter für die Entwicklungsarbeit im Rahmen der Herstellung von Mehrschichtgeweben wurde am IMES installiert. Zur Standardisierung des Datenaustausches von Simulation zum Drucker wurde ein individualisierter G-Code-Dialekt eingeführt. Dieser ermöglicht das Einstellen relevanter Druckerparameter der Hardware und die Übermittlung des zu extrudierenden Pfades. Die Erstellung kann entweder händisch oder automatisch im Rahmen der Simulation erfolgen. Zusätzlich wurde eine Pfadoptimierung eingeführt, die mit

den Ergebnissen aus Meilenstein 5.1 und Kenntnis der Roboterparameter einen in Hinblick auf Ausführbarkeit und Resultat optimierten Pfad berechnet. Die Parameter für die automatisierte Herstellung von EHM als core-sheath Fasern wurden in Zusammenarbeit mit der AG Bodenschatz im wet-spinning Verfahren optimiert und über die Herstellung von Gewebefasern aus Fibroblasten validiert. Die daraus resultierenden gewebe-technologisch hergestellten Fasern, bestehend aus humanen pluripotenten Stammzellen abgeleiteten Kardiomyozyten und humanen Fibroblasten, zeigten eine homogene Zellverteilung entlang des Faserkerns. Die verfeinerten Prozessbedingungen gewährleisteten nicht nur eine gleichmäßige zelluläre Integration, sondern unterstützten auch das Auftreten spontaner und koordinierter Kontraktionen entlang der gesamten Fasern. Diese funktionellen Ergebnisse weisen auf eine synchronisierte rhythmische Aktivität und funktionelle Reifung der Kardiomyozyten hin. Insgesamt zeigen diese Befunde, dass die optimierte Core-Sheath-Faserherstellungsstrategie sowohl die strukturelle Organisation als auch die funktionelle Leistungsfähigkeit des erzeugten Herzgewebes effektiv fördert. In der Folge (M/D 5.2) wurden die 3D-Druckverfahren für die Herstellung individualisierter Mehrschicht-EHM adaptiert und getestet. Die Extrusion von Gewebefasern im wet-spinning und 3D Druckverfahren wurde weiter verfeinert und die Zellausbeute im Bindegewebsmodell (ECT) verbessert. In Zusammenarbeit mit dem MPI wurde abschließend die Ausführung in Simulation berechneter individualisierter Geometrien validiert (M/D 5.3).

### 3. Aufzählung wesentlicher Ergebnisse

Die Projektziele wurden im Sinne des Antrages erreicht. M/D 2.1-2.3 wurden ausgesetzt, da nach erfolgreicher Testung der mehrschichtigen Allografts im NHP-Modell (Jebran et al., 2025) die Testung im Nagetiermodell als nicht mehr zwingend erforderlich angesehen wurde. Die einzelnen Ergebnisse gemäß Arbeitsprogramm sind im Folgenden zusammengefasst:

- M/D 1.1 (31.12.2022): Zellulären Zusammensetzung von hiEHM definiert
- M/D 1.2 (31.12.2022): Charakterisierung hiEHM Funktion abgeschlossen
- M/D 1.3a (31.12.2023): Nicht durchgeführt (s.o.)
- M/D 1.3b (31.12.2023): Bereitstellung von hiEHM für die *in vivo* Testung abgeschlossen
  
- M/D 2.1-2.3 (31.12.2023): Nicht durchgeführt (s.o.)
  
- M/D 3.1 (31.12.2022): Entwicklung von hiEHM aus iPSC des Rhesusaffen
- M/D 3.2 (31.12.2024): Herzreparatur mit hiEHM im Rhesusaffenmodell geprüft
- M/D 3.3 (31.12.2024): Herzreparatur mit hiEHM im Rhesusaffenmodell geprüft
  
- M/D 4.1 (31. 12.2021): Modell für die Simulation der Herzfunktion und Herzreparatur validiert und Schnittstelle zur Steuerung der automatisierten Herstellung von individualisierten hiEHM bereitgestellt.
- M/D 4.2 (31.12.2022): Modell für die Simulation der Herzfunktion und Herzreparatur im Patienten mit Herzinfarkt validiert und Schnittstelle zur Steuerung der automatisierten Herstellung von individualisierten hiEHM optimiert.
- M/D 4.3 (31.12.2023): Modell für die Simulation der Herzfunktion und Herzreparatur im spezifischen Patienten mit Herzinfarkt validiert und bereitgestellt. Schnittstelle zur Steuerung der automatisierten Herstellung von individualisierten hiEHM abgeschlossen.
  
- M/D 5.1 (31.12.2021): Automatisierung der Mehrschicht-Gewebe Herstellung validiert.
- M/D 5.2 (31.12.2022): Automatisierung der Mehrschicht-EHM von Muskelfasern validiert.
- M/D 5.3 (31.12.2023): Individualisierte Steuerung der Gewebeherstellungsplattform abgeschlossen.

### 4. Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Der zahlenmäßige Nachweis erfolgt separat durch die jeweilig für die Partner zuständigen Geschäftsbereiche für Drittmittelbewirtschaftung.

## **5. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten**

Die Entwicklung einer hypoimmunogenen Rhesus iPSC Zelllinie (AG Zimmermann) Teilprojekt A) war zwingend notwendig um Strategien zur Reduktion von Immunsuppressive bei kardialer Anwendung von EHM allografts in einem relevanten Großtiermodell zu testen (AG Hinkel mit AG Zimmermann). Die Ergebnisse sind die Grundlage für eine klinische Testung der hypoimmunogenen Herzreparaturstrategie; weiterführende Prüfungen sind allerdings notwendig, um die Anwendbarkeit (im Sinne der Hypoimmunogenität), Sicherheit und Wirksamkeit von hiEHM zu prüfen. Dabei wird insbesondere die *in-silico* Vorhersage der Wirksamkeit von EHM eine wichtige Rolle bei der Patientenselektion und gegebenenfalls auch EHM-Herstellung spielen (AG Bodenschatz mit AG Zimmermann). Die Umsetzung geometrischer Vorgaben über einem automatisierten Prozess wird darüber hinaus dazu beitragen die Skalierbarkeit des Herstellungsprozesses für eine klinische Regelanwendung zu optimieren und andererseits die Perspektive für eine individualisierte Herstellung von EHM eröffnen (AG Seel, AG Bodenschatz und AG Zimmermann). Vor dem Hintergrund der klinischen Unterversorgung von Patienten insbesondere mit fortgeschrittener Herzmuskelschwäche (~200,000 in Deutschland und 6 Millionen weltweit; davon >99% unter palliativer Behandlung mit einer Sterblichkeit zwischen 25-75% pro Jahr) sehen wir die Angemessenheit und Notwendigkeit der geleisteten Projektarbeiten als gegeben an.

## **6. Verwertbarkeit der Ergebnisse**

### **6.1 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten**

Wir schätzen die wirtschaftlichen Erfolgsaussichten für eine Verwertung als hoch ein. Als Verwertungspartner kommt die Repairon GmbH infrage.

### **6.3 Wissenschaftliche / technische Erfolgsaussichten**

Parallel oder spätestens nach Abschluss der aktuell laufenden BioVAT-HF-DZHK20 Phase I/II Studie ist der Start der klinischen Testung hypoimmunogener EHM im Rahmen einer analogen Phase I/II Studie gemeinsam mit der Repairon GmbH zur Sicherstellung der Zell- und Gewebeerstellung gemäß Vorgaben des deutschen Arzneimittelgesetzes vorgesehen. Eine Förderung wird durch das klinische Studienprogramm des DZHK angestrebt.

### **6.4 Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit**

Im Anschluss an indiHeart erfolgt eine unmittelbare Fortsetzung der Forschungs- und Entwicklungsarbeiten im Verbund der Kooperationspartner zu hiEHM sowie individualisierter, automatisierter Herstellung von EHM für die klinische Prüfung.

## **7. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen**

Nach Erstellung der Vorhabenbeschreibung sind, soweit uns bekannt mit Ausnahme der eigenen Arbeiten (Jebran et al., 2025), keine für das Projekt relevanten F&E Ergebnisse bekannt geworden. Für eine Übersicht der aktuell im Kontext iPSC-basierte Therapien im

Allgemeinen (Kirkeby et al., 2025) und Herzreparatur im Speziellen (Zhang et al., 2024) durchgeführten Arbeiten mit klinischer Relevanz sei auf die hier referenzierten aktuellen Übersichtsartikel verwiesen.

## **8. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr. 5 der NKBF/NABF**

Ergebnisse der quantitativen Simulationen der Auswurffraktion wurden am 11.4.2022 unter dem Titel "*Engineered Heart Muscle from 3D printed Fibers*" auf der internationalen Konferenz über computergestütztes Bioengineering (**ICCB22**) vorgestellt.

Die Ergebnisse von M/D 4.1 wurden unter dem Titel „In silico constitutive modeling for failing heart regeneration“ auf dem ECCR Virtual Meeting 2021, dem 6. NIH/DHZK CVBE 2022 Symposium in Göttingen und dem internationalen Symposium „Biomechanik: Herausforderungen des nächsten Jahrzehnts“ in Graz vorgestellt.

Die Ergebnisse der zellbeladenen Faserstrukturen wird unter dem Titel "3D Extrusion Bioprinting of Human Myocardium" auf der internationalen Biophysik Konferenz (**ICBP2023**) in Seoul vorgestellt.

Die Ergebnisse von M/D 5.1 wurden auf dem Gemeinsamen Jahrestreffen der deutschen, österreichischen und schweizer Gesellschaften für Biomedizinisches Engineering (**BMT2022**) vorgestellt (doi 10.1515/cdbme-2022-1036). Es ist geplant eine Neuentwicklung eines Biodruckkopfes im Laufe des Jahres 2025 im einschlägigen Journal „Bioprinting“ zu veröffentlichen. Während die eigentliche Entwicklung des Druckkopfes im Rahmen des Projekts AutoOrgan.3R stattgefunden hat, haben die Erkenntnisse, die im Rahmen von Indiheart gewonnen wurden, maßgeblich zu der Entwicklung beigetragen.

Zwei weitere Manuskripte zu den Studien zur Faserverteilung und zum EHM-Patch-Design sind in Vorbereitung.

## 9. Referenzen

- Gornalusse, G. G., Hirata, R. K., Funk, S. E., Riobos, L., Lopes, V. S., Manske, G., Prunkard, D., Colunga, A. G., Hanafi, L. A., Clegg, D. O., Turtle, C., & Russell, D. W. (2017). HLA-E-expressing pluripotent stem cells escape allogeneic responses and lysis by NK cells. *Nature Biotechnology* 2017 35:8, 35(8), 765–772. <https://doi.org/10.1038/nbt.3860>
- Jebran, A.-F., Seidler, T., Tiburcy, M., Daskalaki, M., Kutschka, I., Fujita, B., Ensminger, S., Bremmer, F., Moussavi, A., Yang, H., Qin, X., Mißbach, S., Drummer, C., Baraki, H., Boretius, S., Hasenauer, C., Nette, T., Kowallick, J., Ritter, C. O., ... Zimmermann, W. H. (2025). Engineered heart muscle allografts for heart repair in primates and humans. *Nature* 2025 639:8054, 639(8054), 503–511. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08463-0>
- Kirkeby, A., Main, H., & Carpenter, M. (2025). Pluripotent stem-cell-derived therapies in clinical trial: A 2025 update. *Cell Stem Cell*, 32(1), 10–37. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2024.12.005>
- Zhang, J. J., Pogwizd, S. M., Fukuda, K., Zimmermann, W. H., Fan, C., Hare, J. M., Bolli, R., & Menasché, P. (2024). Trials and tribulations of cell therapy for heart failure: an update on ongoing trials. *Nature Reviews Cardiology* 2024 22:5, 22(5), 372–385. <https://doi.org/10.1038/s41569-024-01098-8>
- Zimmermann, W. H., & Walker, F. (2020, February 3). *Safety and Efficacy of Induced Pluripotent Stem Cell-derived Engineered Human Myocardium as Biological Ventricular Assist Tissue in Terminal Heart Failure*. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04396899>