

University of Groningen

Denken in de cel

Peppelenbosch, Maikel Petrus

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2005

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Peppelenbosch, M. P. (2005). *Denken in de cel*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.



Denken in de cel

Rede

uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar

*Celbiologie, in het bijzonder de moleculaire celbiologie van
immunologische processen*

aan de Faculteit der Medische Wetenschappen van de Rijksuniversiteit
Groningen

op 22 November 2005

door

Dr. Maikel P. Peppelenbosch

Meneer de Rector Magnificus, zeer gewaardeerde toehoorders,

Sic omnia fatis in pejus ruere, alles vergaat noodlotteriger wijs tot mindere staat, zulks moet de oude, vadsige en afgeleefde hoogleraar gedacht hebben, opgesloten in zijn cel. Wij spreken het jaar des heren tweeduizendenvijfendertig en de hoogleraar had de afgelopen tijd veel tijd gehad voor reflectie, ingesloten in de gevangenis. Het riskante experiment had zich niet laten controleren. Hoe anders, hoe veelbelovend, had het er dertig jaar geleden voor deze oude professor uitgezien, op die mooie dinsdagmiddag in november, bij het uitspreken van zijn Academische rede, blij en dankbaar als hij de Medische faculteit in Groningen was voor zijn benoeming als hoogleraar en hij samen met de leden van sectie Immunologie en de andere leden het departement celbiologie zo'n glanzende toekomst tegemoet leek te gaan .

Het was in die dagen dat Pieter Rottiers en Lothar Steidler op het Vlaams Instituut voor Biotechnologie druk bezig waren met het creëren van genetisch gemodificeerde melkzuurbacteriën, die in staat waren eiwitten uit te scheiden met een hoge biologische activiteit in mens en dier. Daar deze melkzuurbacteriën zich van nature thuis voelen in het menselijk maagdarmkanaal waren deze bacteriën in staat door de productie van bioactieve eiwitten ziekte in de darm zelf te bestrijden.

De voordelen van deze strategie ten opzichte van de in die tijd gebruikte intraveneuze toediening van eiwitten zijn groot, doordat de gemodificeerde bacteriën louter in de darm aanwezig zijn wordt de ziekte lokaal bestreden en blijven bijwerkingen andere delen van het lichaam bespaard.

Bovendien is de productie van DNA recombinant eiwitten voor intraveneuze toediening erg kostbaar, dergelijke eiwitten worden gemaakt in micro-organismen en moeten daarna op dure wijze gezuiverd worden van alle micro-organismale bestanddelen. Immers ons immuunsysteem reageert op micro-organismale bestanddelen als een stier op een rode lap en als de zuivering van het recombinante eiwit niet volledig is zal introductie van het recombinante eiwit in de bloedbaan een anafylactische shock teweeg brengen. Met een beetje pech zal de patiënt nog aan de



naald overlijden. Onze darm, echter, is de thuisplaats van 10^{14} bacteriën en ons lichaam tolereert daar de aanwezigheid van micro-organismale bestanddelen. Lokale productie van bioactieve eiwitten door melkzuurbacteriën in de darm van de patiënt vergt dus geen dure zuiveringsprocedure maar louter het opgroeien van de melkzuurbacteriën. Een ieder die wel eens de zurige lucht die menig studentenkoelkast uitwasemt heeft opgesnoven, weet dat het opgroeien van melkzuur bacteriën niet een duur, technisch ingewikkeld proces hoeft te zijn.

Deze overwegingen hadden de professor, toen nog een jeugdige post-doc, er toe gebracht om samen met Henri Braat en Daan Hommes en het Vlaams Instituut voor Biotechnologie een fase 1 *trial* op te zetten waarin patiënten met de ziekte van Crohn werden behandeld met dergelijke genetisch gemodificeerde melkzuurbacteriën. Ze gebruikten hiervoor genetisch gemodificeerde melkzuurbacteriën die het eiwit interleukine 10 produceerden. Denkend in zijn cel, reflecteerde de oude hoogleraar over wat hen indertijd had gebracht een dergelijke aanpak te volgen.

De ziekte van Crohn is in haar essentie een overgevoeligheid voor de normale darmflora. Zoals gezegd bevat onze darm een ontzagwekkende hoeveelheid bacteriën, alleen onze dikke darm zal al een paar kilo bacteriën bevatten. De meeste van deze bacteriën zijn onschadelijk of vervullen zelfs nuttige functies, en moeten dus getolereerd worden door ons immuunsysteem. Bevinden er zich in deze falanx van micro-organismen schadelijke bacteriën, dan dient ons immuunsysteem korte metten met deze rotte appels te maken. Vele miljoenen jaren evolutie hebben er toe geleid dat ons immuunsysteem deze spagaat inderdaad kan maken, enerzijds het tolereren van onze commensale flora, maar anderzijds het bestrijden van schadelijke organismen. Soms echter, weet het immuunsysteem deze tocht tussen Scylla en Charybdis niet met succes te volbrengen, ontwikkelen we een immuun reactie tegen onze commensale flora, en ontstaat de ziekte van Crohn, een chronische ontsteking van de ingewanden.

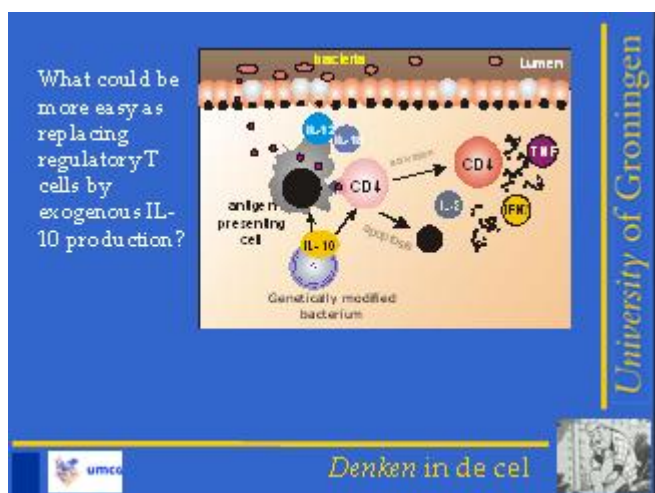


Ten tijde van zijn oratie, herinnerde de hoogleraar zich, was de medische wetenschap nog relatief onwetend, nog steeds tastend in het duister naar de oorzaak van het gebrek aan tolerantie voor de eigen flora tijdens de ziekte van Crohn. Toch begon men reeds toen het belang te onderkennen van de regulatoire T cel, de cel waarvan later haar cruciale rol in de pathogenese van de ziekte van Crohn



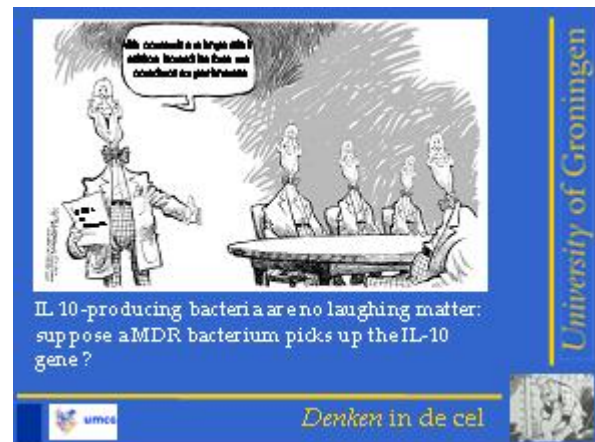
duidelijk zou worden. Regulatoire T cellen onderdrukken het immuunsysteem door de productie van ontstekingsremmende hormonen, met name het immuun-suppressieve eiwit interleukine 10 is het belangrijke product van deze cellen. Onderzoek dat de nu opgesloten hoogleraar reeds dertig jaar eerder samen met Tom O'Toole en Klaartje Kok had uitgevoerd liet zien dat genetisch verlies van het zogenaamde p110 delta gen in muizen er toe leidt dat de regulatoire T cel in zulke muizen niet meer chemotactisch reageert op chemokines die deze T cellen vertellen dat ze de zwezerik moeten verlaten, terwijl de regulatoire T cellen juist overdreven reageren op chemische signalen die oproepen tot het binnengaan in de zwezerik. Het gevolg is dat de zwezerik vol loopt met regulatoire T cellen, terwijl er in perifere weefsels te weinig regulatoire T cellen zijn. Tegelijkertijd ontwikkelen p110 delta genetisch deficiënte muizen ook een chronische darmontsteking, die bovendien het gevolg is van een intolerantie van de normale darmflora en dus qua pathogenese lijkt op de ziekte van Crohn in de menselijke populatie.

Als een lokaal gebrek aan regulatoire T cellen in de darm en dus een gebrek aan lokale interleukine 10 productie chronische darmontsteking kan veroorzaken, zou dan lokale productie van interleukine 10, bijvoorbeeld door melkzuurbacteriën genetisch zodanig gemanipuleerd dat ze interleukine 10 in grote hoeveelheden produceren niet juist de ziekte van Crohn kunnen bestrijden?

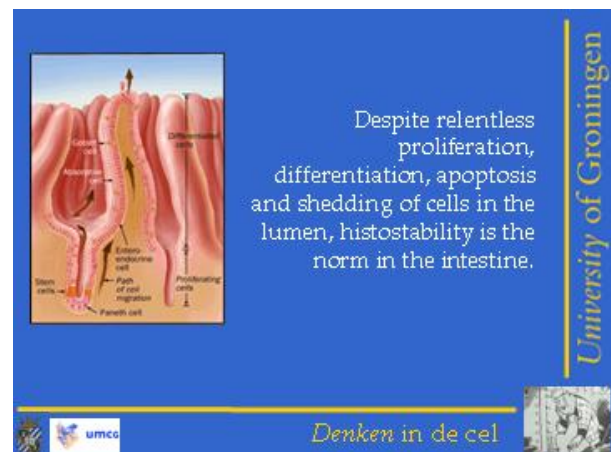


Deze hypothese werd getest in het zogenaamde *Turbolac* experiment, een fase 1 *trial* waarin patiënten met de ziekte van Crohn werden behandeld met melkzuurbacteriën die genetisch zodanig gemodificeerd waren dat ze het

ontstekingsremmende interleukine 10 uitscheiden. Dit experiment had heel wat voeten in aarde, het was de eerste keer dat ooit ter wereld mensen werden behandeld met een levend genetisch gemodificeerd organisme en de veiligheidsmaatregelen die getroffen moesten worden om een vergunning voor dit experiment te krijgen, logen er niet om. Het belangrijkste argument van de regulatoire autoriteiten om het experiment toe te laten was de zogenaamde thymidine afhankelijkheid van het organisme. Alle levende wezens zijn afhankelijk van thymidine en bevatten enzymen die dit nucleotide kunnen aanmaken. Door het enzym uit de bacterie te halen wat normaal zorgt voor de productie van thymidine, werd het organisme totaal afhankelijk van exogeen thymidine en kon dus louter bestaan bij gratie van thymidine toediening door de experimentator die dus leven en dood van het organisme in zijn hand had. Ten tijde van zijn oratie was de fase I studie ten einde, zonder dat er ongelukken gebeurd waren en met zeer bemoedigende klinische resultaten in een moeilijke patiëntengroep. Deze studie zou de aanzet vormen voor de verdere fase II en III studies met deze bacterie als nieuw medicament in de ziekte van Crohn, studies waarmee later ook de Groningse gastro-enteroloog Gerard Dijkstra bekendheid zou verwerven.



Maar het gebruik van genetisch gemodificeerde bacteriën zou ook andere beloftes inhouden, bijvoorbeeld op het gebied van dikke darm kanker. Vanuit zijn cel dacht de nu ingesloten hoogleraar aan die vrolijke tijd waarin hij samen met Gijs van den Brink en Sylvia Bleuming had gewerkt aan de grondbeginselen van histostabiliteit in de darm. Het epitheel in onze darmen vernieuwt zich elke paar dagen. In de basis van de crypten delen cellen die dan migreren in de richting van het lumen, waarbij de cellen zich ook differentiëren om tenslotte aan de top van de villus geprogrammeerde celdood, de zogenaamde apoptosis, te ondergaan. Ondanks deze niet aflatende cyclus van cel deling, celspecialisatie en celdood is de structuur van ons weefsel stabiel: men kan aan een darm darmbiopt niet zien of het van een kind afkomstig is of van een negentigjarig persoon, op weefselniveau is de structuur identiek, er heerst histostabiliteit in de darm. Hoe wordt deze histostabiliteit



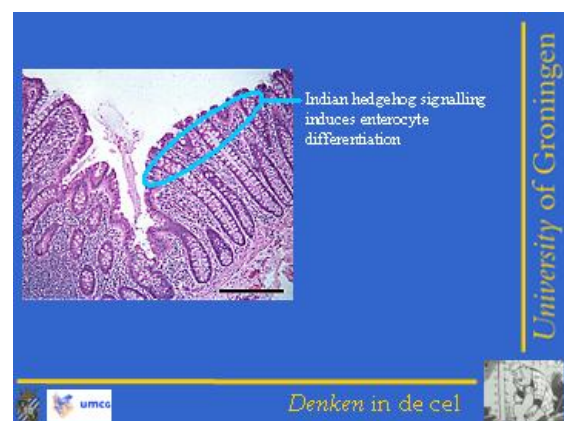
gehandhaafd? De cellen in de darm krijgen voortdurend positionele informatie door het meten van concentratiegradiënten van de zogenaamde morfogenen. Morfogenen zijn hormonen die afhankelijk van de concentratie waarin ze aan de cel worden aangeboden een ander effect uitoefenen, zo zal vitamine A zuur als het wordt aangeboden aan embryonale stamcellen differentiatie veroorzaken naar endoderm of mesoderm of ectoderm, afhankelijk van de vitamine A zuur concentratie. In de darmvillus nu heerst er een gradiënt van het morfogen Hedgehog.

Hedgehog is een eiwit dat voor het eerst geïdentificeerd werd door de Nobelprijs winnares Christiane Nüsslein-Volhard; zij observeerde dat larven van fruitvliegjes die een mutatie in het gen voor Hedgehog hadden haren kregen die alle kanten opstonden en die haar dus op die wijze deden denken aan een egeltje, een beestje wat ze in de Angel-Saksische taal een hedgehog noemen. Vervolgens werden



homologe eiwitten in vertebraten gevonden en geïnponems zoals genetici wel eens willen zijn werd het eerste homoloog Sonic Hedgehog genoemd, naar het karakter uit een populair Sega videospelletje, terwijl een tweede variant Indian Hedgehog werd genoemd, naar echt bestaand beest. Sindsdien blijft men nieuwe homologen triviale op “hog” eindigende namen geven, met als gevolg dat met het uitputten van de Angel-Saksische taal voor begrippen die de lettergreep “hog” incorporeren, ook het kloneren van nieuwe Hedgehog homologen tot stilstand is gekomen.

Voor deze rede is de variant Indian Hedgehog van belang. Het bleek dat deze vorm een concentratiegradiënt vormt, met hoge spiegels aan de top van de villus en lage niveaus in de crypte en dat Hedgehog de nog ongecommitteerde delende cellen vertelt dat het tijd is om zich te specialiseren tot een niet-delende absorbtieve enterocyt. Opvallender wijs is het verdwijnen van de Hedgehog één van

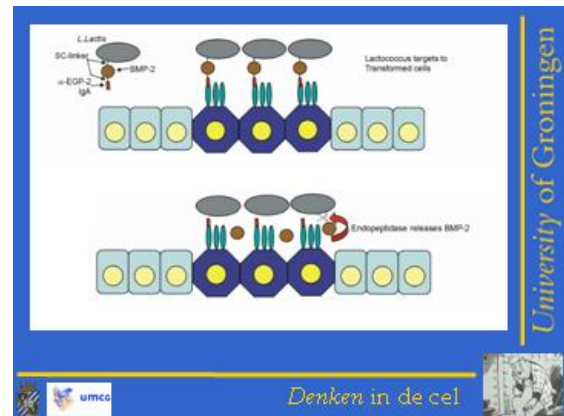


de eerste verschijnselen die men waarneemt als kankerverwekkende mutatie in de darm optreedt, terwijl het exogeen toedienen van Hedgehog voldoende is om dikke darmkankercellen hun normale cyclus van differentiatie en apoptose te laten hervatten. Het was dan ook logisch om een genetisch gemodificeerde melkzuurbacterie te maken die nu geen interleukine 10 produceerde, maar Hedgehog. Een behandeling met een dergelijke bacterie zal de aanwezige kankercellen hun normale differentiatie programma doen laten doorlopen, wat

eindigt in geprogrammeerde celdood en dus het verdwijnen van de tumor. Reeds ten tijde van zijn oratie was het de denker in de cel duidelijk geworden dat een dergelijke bacterie uitstekend poliepen kon bestrijden in genetische muizenmodellen van aangeboren dikke darm kanker en deze resultaten zouden een belangrijk fundament leggen voor studies in patiënten.

Dit was ook te danken aan de ontwikkeling van nieuwe strategieën om melkzuur bacteriën louter hun werk te laten doen op plaatsen daar waar de kanker zich werkelijk lokaliseerde. Morfogenen zijn biologisch nogal actieve stoffen met een nogal divers spectrum aan werkingen op verschillende weefsels. In de ideale wereld zouden morfogenen louter vrijgesteld worden bij de doelwitcellen terwijl de rest van de gastro-intestinale tractus gevrijwaard zou worden van deze bioactieve stoffen.

Deze heilige graal kwam binnen bereik met het door Nico Bos ontwikkelde dubbel-targeting systeem. De kracht van deze organismen ligt in het tot expressie brengen van een BMP eiwit en IgA antilichaam fusie-eiwit op de bacteriemembraan. Het IgA antilichaam herkent en bindt een eiwit wat specifiek op kankercellen voorkomt en op deze wijze blijft de bacterie plakken op de



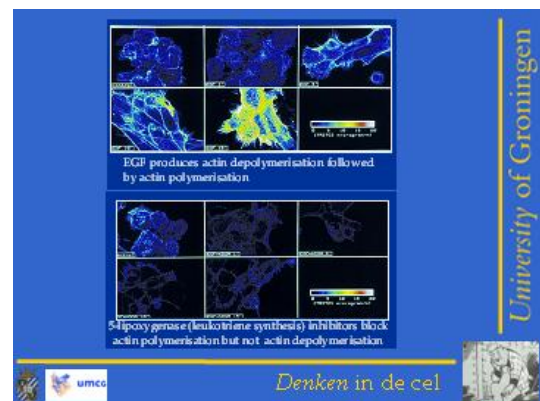
getransformeerde cellen. Een intestinale protease stelt vervolgens het BMP eiwit vrij, een morfogen waarvan James Hardwick al had aangetoond dat het, net als Hedgehog, apoptose bij dikke darm kankercellen veroorzaakt. Later zou deze targetingstrategie ook voor andere ziekten toegepast kunnen worden.

Indertijd begrepen we nog maar weinig van de moleculaire processen waarmee morfogenen beschikten over het cellulaire karma. Vaak was er al wel een zogenaamde *canonical pathway* bekend, een cascade van gebeurtenissen waarbij binding van morfogenen aan een receptor op het oppervlakte van de cel uiteindelijk leidde tot verandering van genexpressie in de celkern. Maar het was ook duidelijk dat morfogenen effecten uitoefenden die niet door deze *canonical pathways* verklaard konden worden. Samen met Maarten

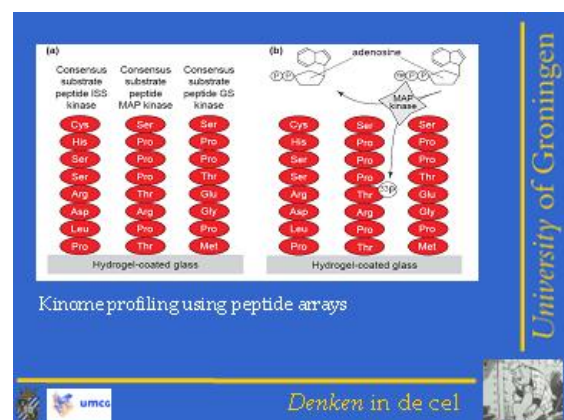
Bijlsma had de hoogleraar indertijd beschreven dat hedgehog het celskelet veranderde en cellen tot migratie dwong, een logisch cellulair antwoord op hedgehog in aanmerking nemende dat dit morfogen betrokken is bij wondheling, maar ook een observatie die niet te rijmen was met het gevestigde standaardmodel van *canonical signalling*. Opvallend was dat deze niet-conventionele signalering afhankelijk bleek



van het zogenaamde arachidonzuur metabolisme. Het arachidonzuur is een onverzadigd vetzuur dat normaal veresterd is op de *sn*-2 positie van membraan fosfolipiden. Het kan echter vrijgesteld worden van de plasmamembraan door het enzym fosfolipase A₂. Waarschijnlijk vormde arachidonzuur al in de eerste levende organismen op deze planeet een bestanddeel van membraan fosfolipiden, en dit veresterd arachidonzuur is sindsdien een constante factor geweest in de ontwikkeling van leven. Het mag dan ook geen verwondering wekken dat het arachidonzuurmetabolisme allerlei belangrijke functies heeft in de biologie, een bijzonder aansprekend arachidonzuur-afhankelijk fenomeen is bijvoorbeeld de alcohol-consumptie geïnduceerde kater, die afhankelijk is van de arachidonzuur-metaboliet prostaglandine E₂ en ik acht het niet onmogelijk dat enkelen der aanwezigen eerstehands ervaring met dit arachidonzuur-afhankelijke fenomeen zullen opdoen als een consequentie van het informele gebeuren volgend op deze rede. Opgesloten in zijn cel herinnerde de hoogleraar zich echter dat, naast de alcohol-consumptie geïnduceerde kater, het arachidonzuur ook enkele minder belangrijke fysiologische functies uitoefent; zo had hij zelf gedurende zijn promotie-onderzoek, samen met Leon Tertoolen en Siegfried de Laat een rol voor het arachidonzuur metabolisme in de celskelet veranderingen door epidermale groeifactor beschreven. Opvallender wijze bleek twaalf jaar later ook de niet conventionele signalering van morfogenen het zelfde arachidonzuur metabolisme afhankelijke systeem te gebruiken om celskeletaire veranderingen te bewerkstelligen. De echte opheldering van deze niet-conventionele signalering zou toch echter moeten wachten op de ontwikkeling van de zogenaamde kinome profiling, een nieuwe techniek waarmee de gehele cellulaire signaal transductie in een enkel experiment in kaart gebracht kon worden.

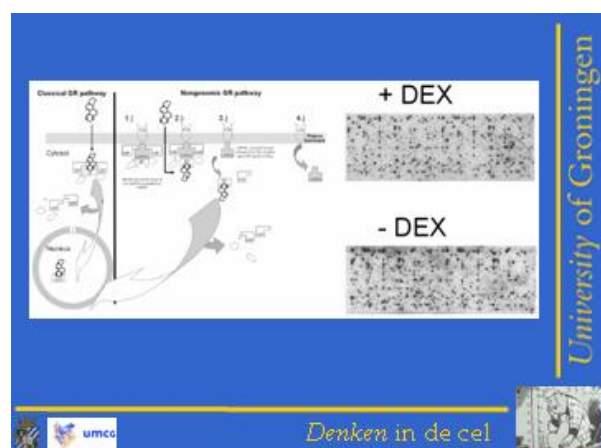


Kinome profiling meet de activiteit van een speciale groep van enzymen, kinases genaamd. Kinases katalyseren de aanhechting van een fosfaatgroep aan andere eiwitten. Dat fosfaatgroepen wellicht belangrijk zijn was al vroeg duidelijk, Duitse onderzoekers die chemische samenstelling van de hersenen onderzochten aan het eind van de negentiende eeuw, verzuchtten al : *“Ohne Phosphor, keine Gedanken”*. Later werd duidelijk dat omkeerbare fosforylering



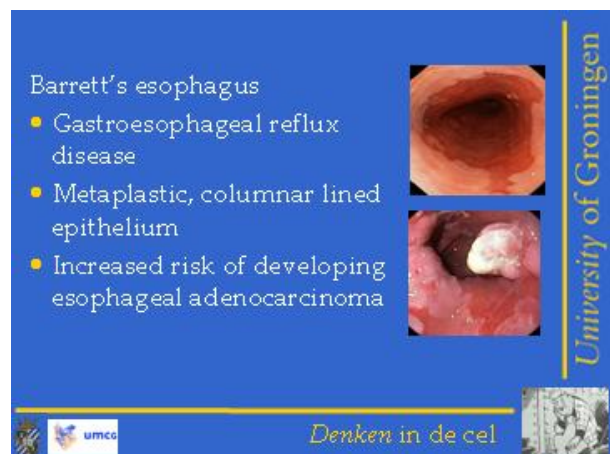
vrijwel alle processen in de cel regelt, enzymen staan vaak alleen aan als ze gefosforyleerd zijn en actieve defosforylatie zet de enzymen dan weer uit. Dit leidde tot de volgende parafrase van de oorspronkelijke Duitse verzuchting “*Ohne Phosphor gibts gar Nichts*”. Kent men de cellulaire fosforylering, dan kent men de cel. Toch zou het genereren van volledige beschrijvingen van cellulaire kinase activiteit op zich laten wachten. Dit kwam pas in het verschiet met de eerder genoemde kinome profiling, een techniek die op punt gesteld door Sander Diks, Kaushal Parikh, Jos Joore en Jurriaan Tuynman. Deze techniek berust op het principe dat alle kinases weliswaar eenzelfde reactie katalyseren, het aankoppelen van fosfaatgroepen aan andere eiwitten, doch wel aanzienlijke substraatspecificiteit kennen, dit wil zeggen dat iedere kinase preferentieel bepaalde aminozuurvolgordes herkent en fosforyleert, maar andere links zal laten liggen. Door nu substraten voor alle 518 kinases uit het genoom naast elkaar op een chip te zetten en deze chips dan te incuberen met cellysaten en radioactief gamma-ATP, zal elk substraat radioactief fosfor inbouwen naar rato van de activiteit van de corresponderende kinase in het cellysaat die de hoogste affiniteit voor dit substraat heeft. Op deze manier krijgt men dus een overzicht van individuele activiteit van alle cellulaire kinases en dus cellulaire signaal transductie. De mogelijkheden van kinome profiling zijn legio: zo dachten veel mensen in die tijd dat het DNA profilen met DNA arrays van klinische monsters een voorspellende waarde had op het verloop van ziekte. Dit liep op een teleurstelling uit, überhaupt waren de genetische verschillen tussen verschillende cel types al erg klein, laat staan de verschillen tussen heterogene klinische monsters met fenotypisch de zelfde ziekte maar met uiteindelijk een verschillend ziektebeloop. Het complement van cellulaire kinase activiteit zoals gemeten met kinome profiling bleek daarentegen zeer geschikt om verschillen tussen klinische groepen bloot te leggen, zoals al snel bleek in studies met Edo Vellenga aan acute myeloïde leukemie of met Eveline de Bont aan hersentumoren bij kinderen. Maar ook indien men geen *a-priori* aannames kan maken over de signaal transductie routes die onder een gegeven conditie beïnvloedt worden, zoals indertijd in 2005 het geval was bij non-conventionele morfogen signalering, zou de via kinome profiling gegeneerde data een krachtig hypothese vormend instrument blijken.

Mooie voorbeelden vormden de studies naar de signalering van CD45, samen met Lydia Visser en Anke van den Berg, maar bijvoorbeeld ook de studie van Mark Löwenberg naar de effecten van steroïden. Steroïden vormen de hoofdmoot van anti-inflammatoire therapie. Klassiek werd aangenomen dat steroïden aan een receptor in het



cytosol van de cel binden, vervolgens naar de kern migreren en dan daar door DNA binding gentranscriptie beïnvloeden. Uit de klinische praktijk, bijvoorbeeld bij heftige allergische aanvallen, was het echter al duidelijk geworden dat steroïden ook snelle effecten konden hebben, klaarblijkelijk incompatibel met een langzame genomische werking. Door kinome profiling toe te passen op lymphocyten die met steroïden werden behandeld kon worden vastgesteld dat binding van steroïden aan hun receptor, via het heat shock eiwit 90 ook de werking moduleerde van fyn en Ick, twee kinases van cruciaal belang voor het snelle immuunantwoord. Op deze wijze werd voor het eerst de hypothese-vormende kracht van de kinome profiling aangetoond en in de daarop volgende jaren zou de techniek gebruikt worden om de niet-conventionele signalering in kaart te brengen van een variëteit van morfogenetische signaleringsroutes, waaronder de Hedgehog route, de Delta-Notch route, en BMP signalering. Op haar beurt zouden deze studies dan nieuwe verrassende inzichten bieden in de rol van morfogenen in ziekte en hoe deze bioactieve moleculen juist gebruikt zouden kunnen worden om specifieke pathologie te bestrijden.

Op de gedachte gekomen van de combinatie van enerzijds kinome profiling, anderzijds morfogen signalering, maakte de ingesloten professor als haast vanzelf de associatie met het onderzoek naar Barrett's oesofagus, wat hij indertijd samen met onder andere Sheila Krishnadath en Jantine van Baal had uitgevoerd. Barrett's oesofagus is een interessant ziektebeeld: normaal bevat



Barrett's esophagus

- Gastroesophageal reflux disease
- Metaplastic, columnar lined epithelium
- Increased risk of developing esophageal adenocarcinoma

University of Groningen

umco

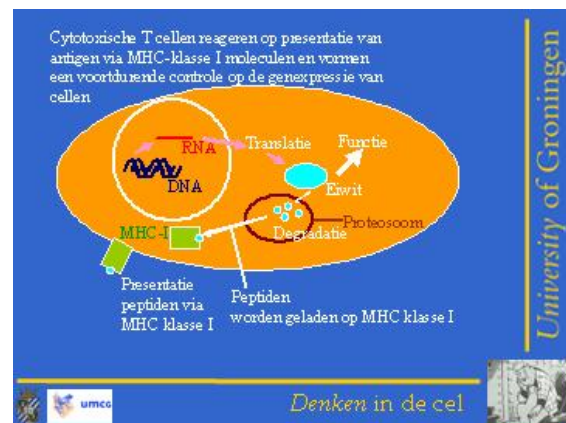
Denken in de cel

de slokdarm een meerlagig epitheel, uitstekend geschikt om de belasting en slijtage te weerstaan die wordt veroorzaakt door het doorslikken van grote brokken slechtgekauwd voedsel; hieraan denkend keek de professor wat mistroostig naar de homp met zemelen versterkt meergranenbrood waarvan de behulpzame cipier hem dagelijks voorzag. Door zuurbranden nu echter, ontstaat er in Barrett's oesofagus ontsteking in de slokdarm en het meerlagig epitheel reageert hierop door van karakter te veranderen: in de slokdarm ontstaan grote plakken weefsel enkellagig darmweefsel en maag weefsel; metaplasie noemen we dit proces. Fascinerend als een dergelijke transdifferentiatie in biologische termen al is, onderzoek aan Barrett's oesofagus is des te belangrijker omdat het een pre-maligne aandoening is, het ontaard vaak in slokdarmkanker. Het vergelijken van normaal meerlagig slokdarm weefsel met metaplastische gebied met behulp van kinome profiling en andere geavanceerde profiling technieken, zoals SAGE, bracht aan het licht dat Barrett's oesofagus knettert van de morfogen signalering en verder onderzoek zou gaan

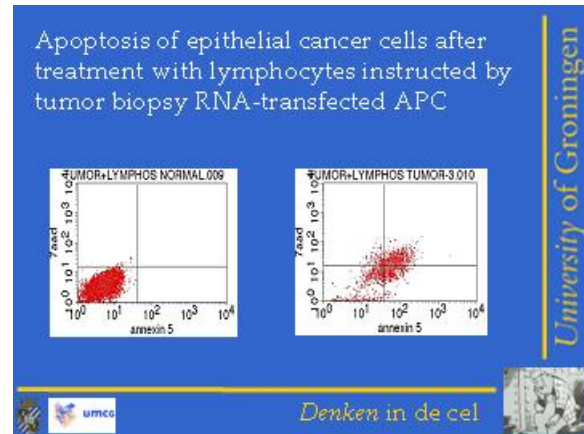
aantonen dat deze morfogen signalering ook verantwoordelijk was voor het metaplastische proces: het zuurbranden produceert een influx van BMP-producerende inflammatoire B cellen en het BMP instrueert het meerlagig epitheel een enkellagig columnair fenotype aan het nemen. Hier lag dan ook de oplossing in het behandelen van Barrett's oesofagus. Door het B cel compartiment op te ruimen, middels intraveneuze toediening van chimere humaan-murine antilichamen, verdwijnt de morfogene stimulus en herkrijgt de slokdarm haar normale aspect. Nu rond 2035 is Barrett's oesofagus een welhaast vergeten ziekte zijn geworden, en daar hebben deze studies ook een belangrijke rol ingespeeld.

Zeker niet vergeten is slokdarmkanker, wat ook nu nog in tweeduizendenvijfendertig een gemene ziekte blijft, al is de ernst van deze ziekte niet meer te vergelijken met de situatie van rond de eeuwwisseling, toen slokdarmkanker nog vaak dodelijk was. Wel werd er in die tijd al veel geëxperimenteerd met immunotherapie van deze ziekte. In immunotherapie wordt geprobeerd het eigen immuunsysteem van de patiënt zo gek te krijgen dat dit de kanker aanvalt en de kwaadaardige cellen opruimt. Voor een immuun antwoord zijn grofweg twee typen cellen belangrijk, de antigen presenterende cel en de T cel. De antigen presenterende cel biedt antigenen aan aan de T cellen. Als de T cellen een antigen herkennen als lichaamsvreemd, dan zullen de T cellen geactiveerd worden en een specifieke response tegen het betreffende antigen in gang zetten. T cel responsen komen in twee smaken, ze kunnen bestaan uit een zogenaamd T helper 1 cytotoxisch antwoord of een T helper 2 antilichaam antwoord. T helper 1 cytotoxische antwoorden zijn afhankelijk van het feit dat virusgeïnfecteerde cellen en kankercellen eiwitten produceren die normale cellen niet aanmaken. Een gedeelte van deze eiwitten wordt geladen op zogenaamde MHC klasse I moleculen en het zijn deze MHC klasse I die door cytotoxische T cellen voortdurend onderzocht worden op de aanwezigheid van lichaamsvreemde eiwitten. Indien wordt de cel op genadeloze wijze afgemaakt.

Een T helper 2 antilichaam antwoord is erg nuttig voor het middels antilichamen neutraliseren van vrije virussen en bacteriën, maar een dergelijk T helper 2 antilichaam antwoord heeft alleen zin bij het bestrijden van kanker als het kankerantigen op het oppervlak van de cel aanwezig is, terwijl de meeste kankereiwitten juist intracellulair aanwezig zijn. In het begin van de eenentwintigste eeuw realiseerde Francesca Milano zich dan ook dat immunotherapie van slokdarmkanker gericht moest zijn op het opwekken van een T helper 1 cytotoxisch antwoord. Wat in die tijd veel onderzoekers echter deden was het voeren van stukjes

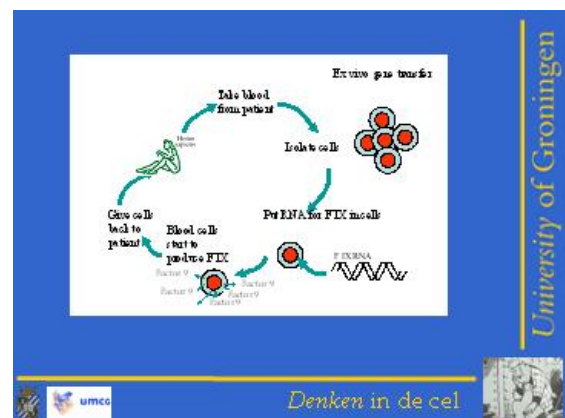


tumoreiwit aan de antigen presenterende cellen van de patiënt, een situatie die juist leidt tot een T helper 2 antilichaam antwoord. Bovendien had Agnieska Rygiel, indertijd een naaste collega van Francesca, laten zien dat slokdarmkanker heel heterogeen is, althans op genetisch gebied. Dit betekende dat gebruik van zogenaamde gedefinieerde antigenen, een aanpak die in die tijd nogal populair was, het probleem met zich meebracht dat maar een gedeelte van de tumorcellen na immunotherapie door het immuunsysteem van de patiënt werden aangevallen. Een oplossing nu lag in het gebruiken van tumor RNA, geïsoleerd uit hapjes slokdarmkanker materiaal die met endoscoop waren verkregen, voor transfectie in de antigen presenterende cellen van de patiënt. Deze strategie leidt tot presentatie van de tumor antigenen op de MHC klasse 1 en dus tot een T helper 1 cytotoxisch antwoord.



Bovendien nemen de hapjes tumorweefsel RNA ook de intercellulaire variabiliteit van antigenexpressie door de verschillende kankercellen mee. Tenslotte was de RNA transfectie een intrinsiek veilige strategie, die anders dan transfectie met DNA geen risico op transformatie van de dendritische cel met zich mee brengt: immers anders dan DNA kan RNA niet integreren in het genetisch materiaal en wordt het elke celdeling uitverdund.

Deze laatste eigenschap van RNA, dat RNA, in contrast tot op DNA gebaseerde genterapie, zonder risico heteroloog tot expressie gebracht kan worden zou de nu opgesloten hoogleraar in die jaren nog gaan exploiteren voor de genterapeutische behandeling van groot aantal verschillende ziekten. Een mooi voorbeeld was de studie die samen met Arnold Spek werd gedaan in 2009 met betrekking tot de behandeling van hemofilie B met gestabiliseerd factor IX RNA. Hemofilie B is een ziekte met verminderde bloedstolling en komt in twee varianten voor, een ernstige waarin de patiënt totaal geen stollingsfactor 9 maakt en een milde vorm waarin de patiënt ongeveer 1 % aanmaakt van de normale hoeveelheid stollingsfactor 9. Waarbij bij de ernstige vorm de patiënt louter kan overleven door regelmatige toediening van recombinant factor 9, hebben de patiënten met de milde vorm nauwelijks klachten en hebben alleen speciale aandacht nodig bij chirurgische en tandartsenijkundige ingrepen. Dit gaf al aan dat een klein beetje stollingsfactor 9 een



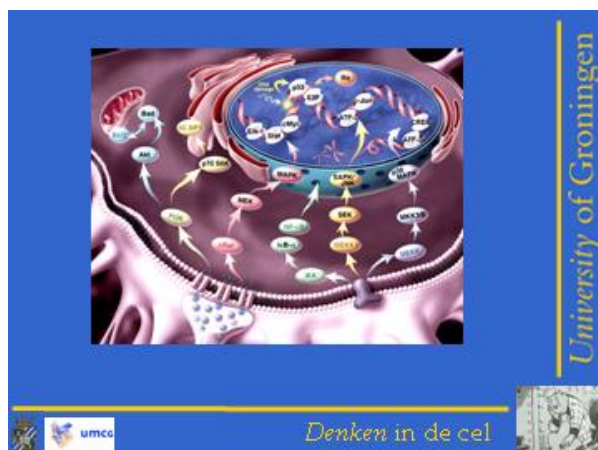
enorme verbetering van de kwaliteit van leven kan betekenen voor patiënten met de ernstige vorm van hemofilie B. RNA transfectie van witte bloedcellen met factor 9 RNA werd dan ook tot diep in de jaren twintig van de eenentwintigste eeuw gebruikt als therapie, totdat somatisch genterapeutisch herstel van menselijke gendefecten algemeen werd.

De meest aansprekende toepassing van RNA transfectie kwam echter uit het werk met stamcellen. Aan het begin van de eenentwintigste eeuw werd het potentieel dat dit celtype bood voor een verscheidenheid aan therapeutische toepassingen duidelijk. Zo bleken stamcellen in belangrijke mate bij te kunnen dragen aan herstel van de door zuurstofgebrek beschadigde hartspier na een hartaanval. Ook het potentieel van stamcellen voor de behandeling van neurodegeneratieve ziekten kwam in die tijd naar voren. Probleem bij de klinische toepassing van stamcellen lag in die tijd echter bij het aantal stamcellen dat werd verkregen, stamcellen kunnen maar in kleine aantallen verkregen worden en verliezen tijdens het differentiatieproces al snel het vermogen tot proliferatie. Nu had Dana Jongejan het

zebravis model gebruikt om genen te identificeren die betrokken waren bij het in proliferatie houden van het stamcel compartiment en daarbij ontdekt dat het ASB-11 eiwit dit proces dirigeert. Zolang ASB-11 aanwezig is, blijven de stamcellen delen, verlies van dit gen stopt de celcyclus en stelt de stamcel in staat haar definitieve gedifferentieerde fenotype aan te nemen. Door ASB-11 in stamcellen in te brengen kan men ze dus laten blijven delen. Probleem

hierbij is nu dat op een gegeven moment deze cellen wel moeten stoppen met delen, het ASB-11 mag dus niet tot uitdrukking blijven komen. Door RNA als vector voor het ASB-11 te gebruiken zullen de stamcellen blijven delen. Bij elke deling echter, wordt het RNA verdeeld over twee dochtercellen en wordt dus het niveau van ASB-11 productie steeds lager. Op deze wijze wist men dus op gecontroleerde wijze expansie van voorlopercellen voor gebruik in stamcel therapie tot stand te brengen.

Zich verder overgevend aan reflectie over de ontwikkeling van de biomedische wetenschap realiseerde de achter slot en grendel geplaatste hoogleraar dat naast de eerder genoemde strategieën om ziekte te bestrijden door heterologe eiwit



expressie, ook synthetische inhibitoren van signaal transductie paden een belangrijk onderdeel was geworden van het arsenaal der geneesheer om ziekte te bestrijden. Nu tien jaar na het aflopen van het patent op Gleevec, dacht de hoogleraar terug aan de begin tijd van het kinase remming werk. Zo had Bernt van den Blink nog als eerste de effecten van p38 MAP kinase remmers getest in vrijwilligers die LPS ingespoten kregen en had hij aangetoond dat een c-Raf remmer een probaat middel was in steroid-ongevoelige ziekte van Crohn. Of zo had Carina Bos nog laten zien dat remmers van de fosfatase PP2A prima preventie opleverden bij dikke darm kanker. Liudmilla Kodach onderzocht in die tijd uit het Braziliaanse oerwoud afkomstige kinase remmers op hun effect in dikke darm kanker. Pas later zou de farmaceutische industrie zich met groot enthousiasme op de ontwikkeling van kinase inhibitoren voor talrijke ziektebeelden storten. Een belangrijke stimulus daarbij was ook het beschikbaar komen van de al eerder genoemde kinome profiling als een stuk gereedschap voor het goedkoop bepalen van de specificiteit van de kinase inhibitoren in een vroege fase van hun ontwikkeling. Vroeger, voor de kinome profiling, werden uit high throughput screens chemische componenten geïdentificeerd die een specifieke voor een ziekte interessante kinase remden. Vervolgens werd gekeken of dezelfde chemische component niet per ongeluk ook andere kinases remt door deze kinases stuk voor stuk in onafhankelijke experimenten met de chemische component te testen, een duur proces wat indertijd zo'n € 80 000 per chemische component kostte, toen nog veel geld. Meestal zijn de zogenaamde off-target activiteiten van dergelijke chemische componenten onacceptabel en wordt verdere ontwikkeling van een dergelijke component stop gezet. De hoge kosten van de off-target screening verhinderden dan ook ontwikkeling van geneesmiddelen voor vele zogenaamde orphan diseases. Kinome profiling, met haar vermogen om alle cellulaire kinases in één experiment te bekijken, maakte de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen een stuk goedkoper en nu, in 2035, waren er vele ziektes te vinden waarvoor een generische kinase inhibitor als medicijn beschikbaar was.

Ja, dit waren toch grote successen geweest dacht de hoogleraar, zittend in zijn cel. Hij had nu genietend van zijn pensioen tevreden aan het nu door het broeikas effect met palmbomen omzoomde strand van Reykjavik kunnen zitten, als hij niet de fout had gemaakt om genetisch gemanipuleerde humane embryonale stamcellen de ruimte in te sturen. Het leek Auke Verhaar en hem zo'n goed idee en ze hadden de inmiddels al wat oudere Dick Hoekstra als Cassandra behandeld en zijn waarschuwingen in de wind geslagen, zelden een verstandig idee. De weerstand die in bepaalde groepen heerste tegen DNA vervuiling van het uitspaniel hadden ze



totaal verkeerd ingeschat en zeker de gewelddadige reactie daarop. Nu zat hij in de cel, voor zijn eigen bescherming. Maar, zijn situatie zou echter snel verbeteren, ras kwam Tita binnen, samen met zijn nog altijd vitale moeder, die ondanks haar hoge leeftijd het nog niet opgegeven had hem het ontbinden in factoren bij te brengen. Terwijl de hoogleraar laf in zijn cel bescherming had gezocht, was Tita op eigen houtje achter de actievoerders aangegaan. Nu bracht ze hem het goede nieuws, de actievoerders waren gepakt! En toen werd het toch nog een leuke dag.

Mijnheer de Rector, Dames, mijne Heren toehoorders, ik heb gezegd!

