

University of Groningen

Het gebruik van genen bij de behandeling van kanker

Hospers, G. A.P.; Mulder, N. H.

Published in:
 Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde

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:
 1995

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

Citation for published version (APA):
 Hospers, G. A. P., & Mulder, N. H. (1995). Het gebruik van genen bij de behandeling van kanker. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 139(26), 1316-1319. <https://www.ntvg.nl/artikelen/het-gebruik-van-genen-bij-de-behandeling-van-kanker>

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.

⁶ Veen EB van. Schriftelijke wilsverklaringen. Utrecht: KNMG, 1993.

⁷ Koninklijke Nederlandsche Maatschappij tot bevordering der Geneeskunst (KNMG). Schriftelijke wilsverklaringen. Utrecht: KNMG, 1994.

⁸ Koninklijke Nederlandsche Maatschappij tot bevordering der Geneeskunst (KNMG). Voorstel tot aanvulling van art. 1653u van het wetsvoorstel geneeskundige behandelingsovereenkomst (WGBO), wetsvoorstel 21561). Utrecht: KNMG, 1993.

⁹ Kastelein WR, Legemaate J. De WGBO in de Tweede Kamer. Med Contact 1994;49:291-2.

¹⁰ Legemaate J. Dwangtoepassing op grond van de BOPZ. Maandblad Geestelijke Volksgezondheid 1994;49:710-7.

¹¹ Nederlandse Vereniging voor Vrijwillige Euthanasie (NVVE). Euthanasieverklaring/weigering behandeling. Med Contact 1992;47:845-7.

Aanvaard op 20 oktober 1994

Commentaren

Het gebruik van genen bij de behandeling van kanker

G.A.P.HOSPERS EN N.H.MULDER

INLEIDING

De behandeling van patiënten met uitgezaaide vormen van kanker is in veel gevallen niet curatief. Dit ondanks de inzet van diverse chirurgische, radiotherapeutische en chemotherapeutische behandelingsvormen of combinaties daarvan. Op basis van laboratoriumonderzoek en de eerste klinische onderzoeken zouden genen in de toekomst kunnen worden ingezet bij de behandeling van kanker, in de vorm van gentherapie. Hierbij kunnen genen of, anders gezegd, specifieke stukjes DNA in bepaalde cellen van patiënten gebracht worden (zie verderop). Een ziekte als gevolg van een gendefect kan men behandelen door in de afwijkende cellen het goede gen in te brengen; een andere toepassing van gentherapie is dat men een nieuw gen aan een cel toevoegt, waardoor het gedrag van die cel veranderd kan worden.

Gentherapie als 'magic bullet' voor kanker lijkt in eerste instantie niet de meest aangewezen behandeling, zolang niet duidelijk is welk gen of welke genen de oorzaak vormen. De meeste kankercellen hebben wel een genetisch defect, maar dit defect is veelal niet de oorzaak van de kanker. Er zijn slechts een paar 'oorzakelijke' genen geïdentificeerd, het duidelijkste voorbeeld hiervan is het retinoblastoom (RB)-gen. Deze tumoren kunnen behandeld worden met het 'goede gen'.

Bij gentherapie waarmee nieuwe genen aan cellen worden toegevoegd, beoogt men:

- de kankercel te veranderen in een normale cel;
- normaal weefsel te beschermen tegen chemotherapie;
- het immuunsysteem te activeren tegen kankercellen; of
- de kankercellen van binnen uit te doden.

Behalve het argument dat niet altijd een oorzakelijk gen gevonden kan worden, gold tot voor kort nog een ander argument tegen gentherapie: elke kankercel zou genetisch veranderd moeten worden voor het elimineren van de tumor. Recentelijk is echter duidelijk geworden

dat onder bepaalde omstandigheden één genetisch veranderde tumorcel maar liefst 9 à 10 onveranderde tumorcellen kan elimineren. Dit wordt het 'bystander'-effect genoemd. Een sluitende verklaring voor dit effect heeft men nog niet gevonden.

Bij de toename van kennis over het inbrengen van genen in cellen worden ook de toepassingsmogelijkheden bij de behandeling van kanker beter afgrensbaar.

In dit artikel gaan wij in op de mogelijkheden om genen te gebruiken bij de behandeling van kanker en op de voorwaarden om deze therapie toe te passen in de kliniek.

HOE KUNNEN GENEN WORDEN GEBRUIKT BIJ DE BEHANDELING VAN KANKER?

Er zijn verschillende methoden ontwikkeld voor het inbrengen van een gen in een humane cel; deze worden ook wel transductiesystemen genoemd en kunnen worden onderverdeeld in chemische, fysische en virale systemen. Bij het chemische transductiesysteem maakt men gebruik van partikeltjes waarin het DNA verpakt kan worden. Dit partikeltje fuseert met de celmembraan, zodat de inhoud van het partikeltje in de cel kan komen. Bij het fysische systeem gebruikt men apparatuur waarmee het DNA in de cel kan worden gebracht. Het virale systeem is het meest effectief gebleken in humane cellen. Er zijn verschillende virale systemen: retrovirale, adenovirale en met het adenovirus samenhangende systemen. In klinisch-oncologisch onderzoek wordt vooral het retrovirale systeem gebruikt; dit systeem is tot nu het beste onderzocht, met name op het punt van veiligheid. Bij dit systeem maakt men gebruik van een retrovirale vector. Dat is een stukje DNA dat informatie bevat waarmee het in retrovirale virusdeeltjes kan worden ingepakt, en het bevat de informatie van het therapeutische gen. Tevens wordt gebruik gemaakt van een cellijn die virale eiwitten kan maken nodig voor het maken van virusdeeltjes. Een dergelijke cellijn wordt een 'packaging' cellijn genoemd. Door nu de retrovirale vector met het betreffende gen in de packaging cel te brengen, kan deze packaging cel vervolgens retrovirale virusdeeltjes maken. Met de gevormde virusdeeltjes kan men de gewen-

ste cellen infecteren, waarop het gen in het DNA kan worden ingebouwd. De geïnfecteerde cellen zijn echter niet in staat opnieuw infectieuze virusdeeltjes te maken, doordat het ingebrachte DNA de informatie mist voor het maken van de retrovirale kapsel-eiwitten.

In het retrovirale systeem wordt gebruik gemaakt van retrovirussen; deze virussen ataqueren alleen delende cellen. Dit is een voordeel, want men wil met de transductie selectief tumorcellen uitschakelen, maar het kan een nadeel zijn wanneer langzaam delende cellen met een vreemd stukje DNA veranderd moeten worden, hetgeen het geval is bij bijvoorbeeld beenmergcellen.

Een gen kan pas in de kliniek gebruikt worden, als het geplaatst is in een transductiesysteem en als de veiligheid van dit systeem is getest. Bij het virale transductiesysteem bestaat de mogelijkheid dat door recombinatie van DNA virusdeeltjes ontstaan die bij herhaling infectieus blijven; dit worden helpervirussen genoemd. Daarom moet men in verband met de veiligheid dit virale transductiesysteem voor gebruik in vivo niet alleen op toxiciteit en steriliteit testen, maar ook op de aanwezigheid van helpervirussen.

WAT WORDT MET GENTHERAPIE BEOOGD?

De toepassing van genen bij kankertherapie kan de volgende doelen dienen:

Het veranderen van de kankercel in een normale cel. Men onderscheidt 2 groepen genen die betrokken zijn bij het ontstaan en de progressie van kanker: de proto-oncogenen en de tumorsuppressorgenen. Het veranderen van de activiteit van deze genen kan resulteren in een wijziging van het groei gedrag van de kankercel, waarbij gestreefd wordt dit groei gedrag om te zetten in dat van normale cellen. Als eerste bespreken wij de proto-oncogenen.

Een proto-oncogen is een gen dat in normale cellen niet actief is. Een proto-oncogen dat op een of andere manier is geactiveerd, wordt een oncogen genoemd. Het eindproduct waarvoor een oncogen de genetische informatie bevat, een eiwit, kan door deze activering een hogere concentratie krijgen dan wel een veranderde activiteit. In beide gevallen zal dit resulteren in stimulatie van de celgroei. Deze stimulatie kan geremd worden door in de geactiveerde cel een stukje 'antisense-georiënteerd' DNA of ribonucleïnezuur (RNA) in te brengen. Met 'antisense-georiënteerd' wordt bedoeld dat de oligonucleotidenvolgorde complementair is aan het oncogene stukje DNA dan wel 'messenger' (m)RNA. De antisense-georiënteerde oligonucleotiden binden zich in de cel aan de complementaire structuren van het oncogen. Deze binding heeft tot gevolg dat het oncogen-eiwit niet gevormd kan worden. Dit zal resulteren in een afname van de concentratie van het oncogen-eiwit.

Het *K-ras*-oncogen is één van de vele oncogenen. Activering van *K-ras* wordt in verschillende tumoren gevonden. Bij naakte muizen (dat zijn muizen waarin de thymus niet wordt aangelegd en die daarom T-cellen missen) die waren ingespoten met cellen van menselijke grootcellige longkanker, is aangetoond dat na een behandeling met een antisense-stukje *K-ras*-RNA bij 87%

de tumor verdwenen was; dit was niet het geval bij de niet behandelde muizen.¹ Klinische onderzoeken zijn gestart en worden telkens gepubliceerd in het tijdschrift *Human gene therapy*. Dit principe is ook toepasbaar voor andere oncogenen. Een van de moeilijkheden van dit onderzoek is dat het gen waarschijnlijk in alle tumorcellen ingebracht moet worden om de therapie effectief te laten zijn. Een eventueel bystander-effect is in dit model nog niet bestudeerd.

Een suppressorgen produceert een tumorsuppressor-eiwit. Bij het wegvallen van een dergelijk eiwit neemt de kans op het ontstaan van tumoren toe. Door nu bij een kankercel met een gemuteerd (dus defect) suppressorgen het goede gen in te brengen, streeft men naar normalisering van het groei gedrag van de cel. Het probleem bij deze genen is dat het gemuteerde gen een gemuteerd eiwit vormt dat in de cel stabiel en actief is. Daardoor kan de besturing van bepaalde cellulaire functies verstoord raken. Als het ingebrachte gen effectief werkzaam wil zijn, dan zal het gemuteerde genproduct overheerst moeten worden dan wel niet meer tot expressie mogen komen. Om het gemuteerde genproduct te domineren moet men in staat zijn om het normale gen efficiënt in te brengen in de acceptorcel en zal dit in hoge mate tot expressie moeten komen. Er zijn twee manieren om ervoor te zorgen dat het gemuteerde genproduct niet tot expressie komt:

- door gebruik te maken van een antisense-construct tegen het gemuteerde mRNA dan wel tegen het gemuteerde DNA; of
- door gebruik te maken van homologe recombinatie (bij deze methode wordt het gemuteerde gen vervangen door het goede gen).

In tabel I is een overzicht gegeven van mogelijke toepassingen van dit onderzoek; een uitgebreider overzicht is te vinden in het artikel van Gutierrez et al.² In de V.S. bestaat er een door de Food and Drug Administration (FDA) goedgekeurd protocol betreffende de insertie van het normale p53-gen in patiënten met niet-kleincellige longtumoren. Een probleem bij dit onderzoek is dat het gen waarschijnlijk in alle tumorcellen gebracht moet worden. Of hier een bystander-effect optreedt, is nog niet bestudeerd.

Bescherming van het normale weefsel tegen chemotherapie. Het is bekend dat tumoren ongevoelig zijn dan wel na verloop van tijd ongevoelig kunnen worden voor chemotherapie. Dit kan veroorzaakt worden door genen die eiwitten produceren die in staat zijn bepaalde chemotherapeutica uit de cel te pompen. Door nu een dergelijk

TABEL I. Genen waarmee in vitro het maligne fenotype van bepaalde tumorcellen kon worden onderdrukt³

<i>gen</i>	<i>tumor</i>
'wild type'-p53-gen	coloncarcinoom
retinoblastoom-gen	retinoblastoom
β-actine-gen	melanoom (muis)
E-cadherine-gen	mammacarcinoom
fibronectinereceptor-gen	ovariumcarcinoom
cyclisch-adenosinemonofosfaat-receptorgen	niercarcinoom

gen in gezond weefsel in te brengen kan dit weefsel on-gevoelig worden voor deze chemotherapeutica. Dit is bijvoorbeeld aangetoond in beenmergcellen van muizen.³ Bij deze muizen werd gebruik gemaakt van het 'multiple drug resistance' (MDR)-gen. Een actief MDR-gen is in staat een eiwit te produceren dat op zijn beurt in staat is bepaalde chemotherapeutica uit de cel te pompen. Dit gen werd in vitro ingebracht in muizebeenmergcellen, die daarna werden teruggespoten. Na deze behandeling was men in staat een hogere dosis chemotherapie te geven (die normaal toxisch voor het beenmerg zou zijn en waartegen het MDR-gen resistentie gaf), zonder dat dit resulteerde in beenmergtoxiciteit. Men is bezig om dit ook te realiseren in menselijke beenmergcellen. Er zijn naast het MDR-gen ook andere genen die verband houden met resistentie. Volgens het beschreven principe zouden deze resistentiegenen ook in aanmerking kunnen komen om normale cellen te beschermen tegen bepaalde chemotherapeutica. Voorbeelden van deze genen zijn: 'multidrug related protein' (MRP)-gen, dihydrofolaatreductase-gen, glutation-transferase-S-gen, aldehyde-dehydrogenase-gen, thymidilaatsynthase-gen, 6-O-methylguanine-DNA-methyltransferase-gen, metallothionine-producerende genen.

Het activeren van het immuunsysteem tegen kankercellen. De mogelijkheden voor het activeren van het immuunsysteem tegen kankercellen splitsten zich in twee richtingen. Ten eerste streeft men ernaar om het immuunsysteem agressiever te maken. Dit kan gerealiseerd worden door het inbrengen van een gen voor cytokinen, zoals het tumornecrosisfactor (TNF)-gen in tumorinfiltrerende lymfocyten. Deze lymfocyten zijn in staat kankercellen te doden, maar in aanwezigheid van bepaalde cytokinen gebeurt dit effectiever.

Ten tweede streeft men naar het meer immunogeen maken van de tumor. Dit kan men doen door het DNA dat de code draagt van bepaalde cytokinen (bijvoorbeeld TNF, granulocyt-macropaag-kolonie-stimulerende factor (GM-CSF), interleukine-2) in vitro in kankercellen in te brengen, zodat bij het actief zijn van deze genen deze cytokinen worden gemaakt. Dit komt herkenning van deze cellen door het immuunsysteem ten goede. Deze gemodificeerde tumorcellen worden, na bestraald te zijn, gebruikt als vaccin. Men hoopt op deze manier dat de niet genetisch veranderde tumorcellen nu ook herkend zullen worden door het immuunsysteem of, anders gezegd, men hoopt op het ontstaan van kruisreactiviteit. Er zijn klinische trials gestart.

Het doden van de kankercel van binnenuit. Door in een tumorcel een 'suicide-gen' te plaatsen zal in die cel een eiwit gemaakt worden dat de cel van binnenuit kan vergifigen. Een voorbeeld van een dergelijk suicide-gen is het thymidine-kinase-gen. Dit gen zorg ervoor dat in de kankercel thymidine-kinase wordt gemaakt. Door nu deze cel bloot te stellen aan ganciclovir ontstaat celdood, doordat thymidine-kinase ganciclovir omzet in een cytotoxische stof. Andere mogelijkheden van suicide-genen zijn het cytosine-deaminase-gen (dit zet fluorocytosine om in het toxische fluorouracil), het β -glucosidase-gen (dit zet amygdaline om in het toxische cyanide) en het

nitroreductase-gen (dit zet het dinitrofenylaziridine CB 1954 om in een cytotoxisch produkt). Bij het gebruik van suicide-genen in vitro en in proefdiermodellen is een bystander-effect aangetoond. Hierbij heeft men gevonden dat één genetisch veranderde tumorcel 9 à 10 onveranderde tumorcellen kan elimineren na blootstelling aan het antiherpesmiddel ganciclovir, zodat het inbrengen van het gen in alle tumorcellen niet nodig is voor het doden van alle tumorcellen. Klinische trials worden toegepast bij patiënten met hersen- en ovariumtumoren.

Een probleem bij dit onderzoek is dat alleen de tumorcellen gedood moeten worden en niet de normale cellen. Dit probleem kan men ondervangen door gebruik te maken van weefsel-specifieke 'promotoren', stukjes DNA die ervoor zorgen dat bepaalde genen alleen tot expressie komen in bepaalde celtypen. Zo is in levercellen de albuminepromotor actief en mede daardoor is er albuminesynthese. De α -foetoproteïnepromotor is echter niet actief en daardoor is er geen α -foetoproteïnesynthese. Een gen gekoppeld aan een albuminepromotor kan in normale levercellen tot expressie komen, maar niet in leverkankercellen, want daarin is de albuminepromotor niet actief. In leverkankercellen is de α -foetoproteïnepromotor en daarmee de α -foetoproteïnesynthese actief, in normale levercellen echter niet. Door nu een gen (bijvoorbeeld een suicide-gen) te koppelen aan de α -foetoproteïnepromotor zal dit gen tot expressie komen in leverkankercellen en niet in de normale levercellen. Na toediening van ganciclovir zullen alleen de kankercellen in de lever doodgaan. Mogelijkheden voor weefsel-specifieke promotoren zijn weergegeven in tabel 2, een uitgebreider overzicht is te vinden in het artikel van Gutierrez et al.²

VOORWAARDEN OM GENTHERAPIE TOE TE PASSEN IN DE KLINIEK

Om gentherapie te kunnen toepassen bij patiënten moet voldaan worden aan de volgende voorwaarden:

- het moet gaan om een levensbedreigende ziekte;
- de DNA-volgorde van het gen dat men wil gebruiken, moet bekend zijn; en
- cellen die buiten het lichaam met een gen veranderd zijn, moeten in het lichaam op de juiste plaats teruggeplaatst kunnen worden, of cellen moeten in het lichaam bereikbaar zijn om er genen in te brengen.

CONCLUSIE

De toepassing van genen bij kanker lijkt veelbelovend. Gentherapie is een geheel nieuwe benadering om tumorcellen te attaqueren en creëert de mogelijkheid om tumorcellen te veranderen in normale cellen, of althans

TABEL 2. Voorbeelden van weefsel-specifieke promotoreiwitten

<i>eiwit</i>	<i>komt onder meer tot expressie in</i>
α -foetoproteïne	hepatoom
thyreoglobuline	schildklier
calcitonine	schildklier (parafolliculaire cellen)
prostaatspecifiek antigeen	prostaat

in cellen met een minder kwaadaardig gedrag. De eerste klinische trials zijn gestart. Het is nog te vroeg om iets te kunnen zeggen over het succes van gentherapie.

LITERATUUR

¹ Georges RN, Mukhopadhyay T, Zhang Y, Yen N, Roth JA. Prevention of orthotopic human lung cancer growth by intratracheal instillation of a retroviral antisense K-ras construct. *Cancer Res* 1993; 53:1743-6.

² Gutierrez AA, Lemoine NR, Sikora K. Gene therapy for cancer [review]. *Lancet* 1992;339:715-21.

³ Sorrentino BP, Brandt SJ, Bodine D, Gottesman M, Pastan I, Cline A, et al. Selection of drug-resistant bone marrow cells in vivo after retroviral transfer of human MDR1. *Science* 1992;257:99-103.

Aanvaard op 11 januari 1995

Capita selecta

Navelstrengbloed ter vervanging van beenmerg voor allogene transplantatie van hematopoëtische stamcellen

J.H.F.FALKENBURG EN F.T.H.LIM*

Transplantatie van allogene hematopoëtische stamcellen is de behandeling van keuze bij een aantal hematologische ziekten, waaronder aangeboren stoornissen van het immunologische apparaat, hereditaire anemieën, bepaalde stofwisselingsziekten, en hematologische maligniteiten, met name de leukemieën.¹ De optimale allogene donor voor hematopoëtische stamceltransplantatie is een broer of zuster van de patiënt met identiek humaan leukocytenantigeen (HLA). Wanneer een HLA-identieke donor binnen de familie niet beschikbaar is, is het vooral bij jonge patiënten soms mogelijk een hematopoëtische stamceltransplantatie te verrichten met het beenmerg van een niet-verwante donor van wie het HLA compatibel is.

Omdat het HLA-systeem erg polymorf is, is de kans zeer klein dat een niet-verwante beenmergdonor HLA-compatibel is. Daarom is een zeer groot aantal vrijwilligers dat bereid is om beenmerg te doneren getypeerd voor HLA. In het totaal hebben zich over de gehele wereld meer dan 2 miljoen vrijwilligers opgegeven als beenmergdonor. Door het extreme polymorfisme van het HLA-systeem is er, ondanks deze enorme omvang van het donorbestand, voor slechts een minderheid van de patiënten die geen HLA-identieke, verwante donor hebben, een transplantatie mogelijk met het beenmerg van een niet-verwante donor. Doordat slechts een gedeelte van de donors volledig voor HLA getypeerd is, niet elke donor meer traceerbaar is op het moment dat hij nodig is, en doordat er nog bloedafnames voor immunologische, virale en hematopoëtische tests verricht moeten worden, kan de periode tussen de aanvraag en de eigen-

lijke transplantatie soms meer dan 6 maanden bedragen. In een aantal gevallen is dit langdurige en kostbare traject van zoeken naar een geschikte beenmergdonor te lang, waardoor de patiënt niet meer aan een transplantatie toekomt. Ook is de kans dat voor patiënten uit een etnische minderheidsgroepering een HLA-identieke, niet-verwante donor wordt gevonden soms kleiner. Dit komt door verschillen in frequenties van bepaalde HLA's tussen de verschillende etnische groepen.

Om genoemde redenen zoekt men naar alternatieve bronnen van hematopoëtische stamcellen voor transplantatie, waarbij het niet meer nodig is het beenmerg af te nemen van vrijwilligers. Eén van de andere bronnen van hematopoëtische stamcellen voor transplantatiedoeleinden is navelstrengbloed.

HEMATOPOËTISCHE PROGENITORCELLEN IN NAVELSTRENGBLOED

Reeds in de jaren zeventig was het bekend dat navelstrengbloed vergeleken met gewoon bloed van kinderen en volwassenen relatief veel bloedvormende voorlopercellen (hematopoëtische progenitorcellen (HPC's)) bevat. HPC's zijn cellen die, wanneer ze onder bepaalde condities in vitro worden gekweekt, in aanwezigheid van hematopoëtische groeifactoren kolonies kunnen vormen van rijpe bloedcellen. Om deze reden worden deze cellen ook wel 'colony-forming units' (CFU's) genoemd. Een CFU wordt nader getypeerd door analyse van het type rijpe bloedcellen dat in de uitgegroeide kolonie aanwezig is. HPC's die uitgroeien tot kolonies van granulocyten en (of) monocytten noemt men 'CFU-granulocytes/monocytes' (CFU-GM). Voorlopercellen die in vitro in aanwezigheid van ondermeer erythropoëtine grote groepen erythroïde cellen kunnen produceren, worden 'burst-forming units' van de erythropoëse genoemd (BFU-E). Wanneer een HPC in staat is uit te groeien tot verschillende celtypes, zoals granulocyten, erythrocyten, megakaryocyten en monocytten, wordt deze cel CFU-GEMM genoemd. Naarmate de voorlopercel meer ver-

*Namens de Stichting Eurocord Nederland.

Academisch Ziekenhuis, afd. Hematologie/Gebouw 1: C2-R, Postbus 9600, 2300 RC Leiden.

Dr.J.H.F.Falkenburg, internist; F.T.H.Lim.

Correspondentie-adres: dr.J.H.F.Falkenburg.