



TOEVAL EN ONVERMIJDELIJKHEID

GERARD WAGEMAKER

TOEVAL EN ONVERMIJDELIJKHEID

Oplage 1000
Omslagfoto Levien Willemse, Rotterdam
Ontwerp Ontwerpwerk, Den Haag
Drukwerk Demmenie Grafimedia, Alphen aan den Rijn

ISBN 90-77906-17-7

© Gerard Wagemaker, oratiereeks Erasmus MC
11 april 2006

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd zonder voorafgaande toestemming van de auteur.

Voorzover het maken van kopieën uit deze uitgave is toegestaan op grond van art. 16h t/m 16m Auteurswet 1912 j°. Besluit van 27 november 2002, Stb. 575, dient men de daarvoor wettelijk verschuldigde vergoeding te voldoen aan de Stichting Reprorecht te Hoofddorp (Postbus 3060, 2130 KB).

TOEVAL EN ONVERMIJDELIJKHEID

REDE

in verkorte vorm uitgesproken
ter gelegenheid van het aanvaarden
van het ambt van bijzonder hoogleraar
met als leeropdracht
Gentherapie van hematopoietische cellen
aan het Erasmus MC, faculteit van de
Erasmus Universiteit Rotterdam
op 11 april 2006

door

GERARD WAGEMAKER

Maar als, zoals ik meen, het uiterste streven van de gehele wetenschap erop gericht is de relatie van de mens tot de wereld te verhelderen, dan moet men aan de biologie een centrale plaats toekennen, want van alle wetenschappen tracht zij immers het meest direct door te dringen tot de kern der problemen die men opgelost moet hebben, voordat men in andere dan metafysische termen over “de menselijke natuur” kan gaan praten. De biologie is voor de mens dan ook de belangrijkste van alle wetenschappen, die welke ongetwijfeld reeds meer dan enige andere heeft bijgedragen tot de vorming van het moderne denken, dat door de opkomst van de evolutietheorie op alle terreinen – van filosofie, godsdienst en politiek – ingrijpend gewijzigd is, en uiteindelijk bepaald.

Jacques Monod (1910-1976).

Frans hoogleraar fysiologie, Nobelprijs 1965, in “Toeval en onvermijdelijkheid. Proeve van een natuurfilosofie van de moderne biologie” (A.W. Bruna & Zoon, Utrecht/Antwerpen. 1971).

*Mijnheer de Rector Magnificus,
Mevrouw de voorzitter en mijn heren leden
van het College van Bestuur van de Universiteit,
Mijnheer de Decaan,
Mevrouw, mijne heren van de Raad van Bestuur van het Erasmus MC,
Leden van het Bestuur van de Vereniging Trustfonds Erasmus Universiteit Rotterdam
Dames en heren medewerkers van de afdeling Hematologie,
Zeer gewaarde familie, vrienden, collega's, studenten en andere toehoorders,*

Inleiding

De titel van deze oratie is ontleend aan Jacques Monod's boek "Le hasard et la nécessité"¹, in Nederlandse vertaling uitgekomen als "Toeval en onvermijdelijkheid". Monod was directeur van het Instituut Pasteur in Parijs en ontving voor zijn onderzoek in de cellulaire biologie de Nobelprijs in 1965. Monod dacht op zijn beurt de titel van zijn boek ontleend te hebben aan Democritus², maar dat moet op een misverstand hebben berust: de atomist Democritus was een strikte determinist die niet in toeval geloofde³. Inderdaad vinden we het aan Democritus toegeschreven citaat "Alles wat er op de wereld bestaat, is het product van toeval en onvermijdelijkheid" in oorsprong alleen terug bij Monod. We zullen het Monod niet euvel duiden: Democritus was, behalve een bereid, briljant en veelzijdig geleerde, die publiceerde over wis- en natuurkunde, muziek, kosmologie en waarschijnlijk ethiek, ook een uitzonderlijk vrolijk mens⁴ en heeft in zijn dagelijks bestaan vast wel iets bij het toeval laten liggen.

Monod meent dat aan de biologie, waaronder in het bijzonder de moleculaire evolutietheorie, een centrale plaats in de wetenschappen moet worden toegekend. Meer dan enige andere heeft deze bijgedragen aan de vorming van het moderne denken in de wijsbegeerte, de godsdienst en de politiek⁵. De moleculaire biologie heeft daarnaast geleid tot een omwenteling in diagnostiek en therapie in de moderne geneeskunde, waarvan het eind voorlopig nog niet in zicht is. Gentherapie, waar deze voordracht over gaat, is één van de praktische toepassingen. Het is een vak dat de kinderschoenen nog niet ontgroeid is.

De leeropdracht “gentherapie van hematopoietische cellen” heeft enige uitleg. Laat ik voorop stellen dat ik die zelf niet gekozen heb, maar dat is inherent aan een opdracht. Gedacht zou kunnen worden dat de leerstoel bekleed wordt door een superspecialist in een voor de leek onbegrijpelijk onderwerp, maar dat is niet het geval. Ik ben geen moleculair bioloog, maar een eenvoudig medicus en als basic scientist meer generalist dan specialist, natuurlijk met het risico dat de echte specialisten nogal eens plegen te denken dat ik niet precies weet waar ik het over heb.

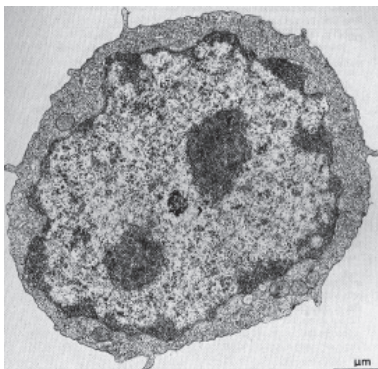
In deze voordracht zal ik achtereenvolgens ingaan op hematopoietische stamcellen, erfelijke ziekten en evolutie, en op gentherapie. Staat u mij toe dat ik deze onderwerpen in eenvoudige terminologie met u doorneem als eerbetoon aan de toehoorders die niet vertrouwd zijn met ons werk.

Hematopoietische stamcellen

Te beginnen met hematopoietische cellen. Hematopoïese betekent bloedvorming. In uw bloed bevinden zich cellen, rode bloedcellen, witte bloedcellen en bloedplaatjes. Die heeft u nodig om, de rode cellen: zuurstof aan te voeren uit uw longen naar de weefsels; de vele typen witte cellen: om u te beschermen tegen verraderlijke infecties door antistoffen te maken en andere afweerreacties in gang te zetten; en de bloedplaatjes: om uw bloed te laten stollen, bij voorkeur als dat nodig is. Samen zijn ze dus van vitale betekenis, zonder bloedcellen houdt u het niet lang uit. Bijna al die cellen zijn zeer gespecialiseerd en leven maar kort, de witte bloedcellen die uw eerstelijns verdediging zijn tegen bacteriën zelfs maar 12 uur en moeten dus twee keer per dag worden vervangen, de bloedplaatjes gaan 8 dagen en de rode bloedcellen 3 maanden mee.

Bloedcellen moeten dus permanent worden aangemaakt en dat gebeurt vanuit het beenmerg. Per dag moet een volwassene 100 tot 500 miljard nieuwe bloedcellen maken om bij te blijven, of 1 tot bijna 6 miljoen per seconde. Ik zal u geen seintje geven wanneer u er weer een miljard gemaakt hebt, maar gemiddeld zal dat over een minuut of 7 zijn. Die enorme productie vindt plaats in een aantal organen, zoals de thymus, de milt, maar vooral in het beenmerg. In het beenmerg bevinden zich zogenaamde stamcellen, primitieve cellen die al delend zich kunnen specialiseren in elk van de verschillende typen bloedcellen. Stamcellen werden in 1909 gepostuleerd door de Russische bioloog Alexander Maximov⁵ op zuiver morfologische gronden, maar het stamcelonderzoek kreeg pas een grote impuls toen in de nasleep van de atoombommen op Hiroshima en Nagasaki ontdekt werd dat ze buitengewoon stralingsgevoelig waren, en vervolgens in de jaren '50 van de vorige eeuw experimenteel onderzoek liet zien dat toediening van een klein beetje beenmerg beschermt tegen beenmergschade door straling, zoals

in 1965 samengevat in de monografie “Radiation Chimeras” van Van Bekkum en De Vries⁶, beiden emeriti van deze faculteit en de eerste hier aanwezig. Dit heeft geleid tot de klinische beenmerg- en stamceltransplantatie zoals wij die vandaag kennen. Dankzij Nederlands werk onder leiding van diezelfde Van Bekkum⁷, weten we hoe een stamcel eruit ziet. Het is een cel zonder veel specifieke eigenschappen, althans morfologisch (Figuur 1).



Figuur 1: De looks van een stamcel

Stamcellen kunnen zichzelf door celdelingen in stand houden en daarnaast elk miljarden nieuwe bloedcellen produceren. U heeft er een overmaat van: in beginsel kan elke stamcel een nieuw bloedvormend en immuunsysteem maken dat een leven meegaat. Stamcellen zijn gemakkelijk te verkrijgen door een naald in een bot te steken (onder verdoving) en zijn nog gemakkelijker te transplanteren door ze in de bloedbaan te brengen. Ze vinden dan zelf met hoge efficiëntie hun weg naar het beenmerg waar ze thuishoren. In de dagelijkse laboratoriumpraktijk kunnen we een muis genezen met slechts zo'n 200 stamcellen van een donormuis en uit de praktijk van de klinische beenmergtransplantatie weten we dat 1% van het beenmerg van een donor in een ontvanger ruim voldoende is voor de rest van diens leven. Elk van u zou dus best vele malen donor van stamcellen kunnen zijn, hoewel we dat nooit hebben uitgeprobeerd.

Wij maken van deze stamcellen gebruik om ziekten te genezen. Tegenwoordig vooral gericht op de behandeling van leukemie en als ondersteunende therapie bij de behandeling van andere vormen van kanker, en sinds kort voor de eerste succesvolle gentherapie van een erfelijke ziekte, SCID, in de pers vooral bekend als het “*bubble boy syndroom*”. Ik kom daar zo op terug.

Erfelijke ziekten & Evolutie

Zoals bijna iedereen weet ligt het erfelijk materiaal in de celkern op chromosomen, Zopgebouwd uit langgerekte DNA ketens. Onze uiterlijke eigenschappen en onze lichaamsfuncties liggen vast in dit erfelijk materiaal. Bij iedere celdeling moet het DNA precies worden gekopieerd en doorgegeven aan de dochtercellen. Het DNA bestaat uit miljarden eenheden.

Wordt er een fout bij het kopiëren gemaakt, dan spreken we van een mutatie. Mutaties zijn de drijvende kracht achter de evolutie, het is het mechanisme waarlangs nieuwe diersoorten ontstaan. Ze ontstaan bij toeval. Kostte het nog enige moeite om Einstein's fameuze "God dobbelt niet" in de fysica te weerleggen⁸, in de biologie lijkt de evolutie het werk van een regelrechte gokverslaafde. De Britse etholoog Dawkins sprak in dit verband ook van het werk van een blinde horlogemaker⁹. Maar zoals een horloge moet tikken en de juiste tijd aangeven, zo moet een diersoort overleven en vooral happy zijn, en dus is de uitkomst van mutaties aan strikte randvoorwaarden en regels gebonden. Dit is precies Monod's kernpostulaat:

*"Natuurlijke selectie (evolutie) berust op toevallige mutaties (toeval)...
waarvan de uitwerking wordt bepaald binnen een context waar strenge regels
gelden (onvermijdelijkheid)"*

Over de doorwerking van het evolutionaire toevalsbegrip in de moderne wijsbegeerte moge ik korthedshalve verwijzen naar de oratie van De Mul¹⁰ op deze plaats in 1994, die in heldere termen ingaat op *"de eeuwige filosofische vragen naar wie wij zijn en wat wij worden, die niet goed beantwoord kunnen worden zonder een beroep te doen op het ondoorgroendelijke toeval. Om die reden kan het toeval met recht een fundamentele categorie van het menselijk leven worden genoemd"*.

De consequentie is dat ons erfelijk materiaal, door het toeval geregeerd, veel niet meer terzake doende restanten van ons evolutionaire verleden en talloze sporen van virussen bevat die zich er over miljoenen jaren in genesteld hebben, en voor het overgrote deel bestaat uit coderingen die kennelijk nergens voor dienen – al hebben we nog bij lange na niet alle geheimen in de genetische code ontsloten, zoals uit het vervolg van deze rede moge blijken.

Fouten die wel goed uitkomen verbreiden zich in de populatie, fouten die niet verenigbaar zijn met overleven natuurlijk niet, maar daartussenin zitten fouten die wel met het leven verenigbaar zijn maar geen gezond, normaal individu opleveren.

Een voorbeeld daarvan is die erfelijke immuundeficiëntie, voluit *severe combined immune deficiency (SCID)*: het volledig onvermogen om weerstand te bieden aan bacteriën en virussen, veroorzaakt door een mutatie in 1 gen. Het is dus een erfelijke,

genetisch bepaalde afwijking, en patiëntjes die er mee geboren worden, moeten in een steriele omgeving worden verzorgd om te kunnen overleven. Ik heb al aangestipt dat beenmergtransplantatie wordt gebruikt als therapie, in de jaren '70 van de vorige eeuw tot ontwikkeling gekomen, waaraan ik als jonge postdoc ook heb mogen deelnemen in de baanbrekende samenwerking van de Leidse Kinderkliniek en het Radiobiologisch Instituut TNO, zoals in Europees verband later samengevat¹¹. Het is een zeer zeldzame ziekte die gebonden is aan het X-chromosoom ("X-linked") en daarom alleen bij jongetjes voorkomt. Mogelijk elk van u heeft wel eens het plaatje in de krant zien staan van David Vetter, de jongen die opgroeide in een steriele plastic tent, met NASA technologie ontworpen, effectief in de strijd tegen bacteriën en virussen, maar geen rekening houdend met de psychologische ramp van een geïsoleerd bestaan. Hij is in de publiciteit gekomen als de bubble boy. Zonder therapie overleven deze kinderen zelden de leeftijd van 1 jaar. Normaal donorbeenmerg is genezend, maar beenmergtransplantatie vereist een goed passende familiedonor en die is bij de huidige Westerse gezinsgrootte in circa 80% van de gevallen niet voorhanden.

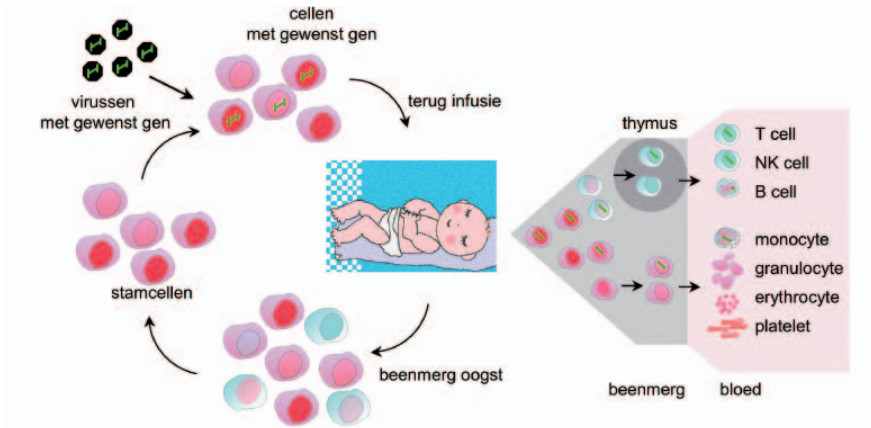
Een ander voorbeeld is de groep erfelijke bloedarmoedes die in het Middellandse Zee gebied voorkomt, sikkkelcelanemie en thalassemie. Deze mutaties komen veel voor in de plaatselijke bevolking omdat dezelfde afwijkingen bescherming bieden tegen malaria, ooit in die streken endemisch. Het zijn vanuit wetenschappelijk oogpunt treffende voorbeelden hoe mutaties, zelfs al brengen die ernstige nadelen met zich mee, zich kunnen verbreiden als een contextueel bepaald voordeel. Een derde u waarschijnlijk bekend voorbeeld is de spierdystrofie van Duchenne, een verschrikkelijk invaliderende ziekte, waarin alle spieren over een periode van zo'n twintig jaar langzaam maar zeker volledig degenereren en functieloos worden.

Gedurende de evolutie heeft de mens rond 6000 verschillende erfelijke ziekten verzameld – en dat proces gaat nog steeds door. In absolute aantallen patiënten zijn die het talrijkst precies in het bloedvormend systeem. Hoewel de meeste erfelijke ziekten uiterst zeldzaam zijn, zijn het er zoveel, dat wordt geschat dat in de Europese Unie zo'n 30 miljoen mensen, 6-8% van de bevolking, aan een zeldzame ziekte lijden¹². Deze ziekten nemen een disproportioneel deel van de totale ziektekosten in beslag, dat niet goed in kaart gebracht is, maar tenminste 20% en mogelijk veel meer zou kunnen bedragen, omdat veel van deze aandoeningen tot langdurige en intensieve behandeling en verpleging leiden zonder uitzicht op een genezende therapie. Behalve het menselijk leed dat deze ziekten veroorzaken en de medische plicht daarvoor een afdoende therapie te vinden ligt hier ook een immens maatschappelijk en economisch belang. Een vierde voorbeeld, waar wij in samenwerking met de afdeling Immunologie genterapie voor ontwikkelen, *X-linked gammaglobulinemie (XLA)* – erfelijk onvermogen om antistoffen te maken - illustreert dit. De huidige therapie bestaat uit toedienen van donorantistoffen, waarvan de kosten los van hospitalisatie onder de nieuwe richtlijnen

kunnen oplopen tot € 5 miljoen gedurende het leven van de patiënt. Het gaat dan om therapie die uiteindelijk genezend noch toereikend is. De kosten van enzymtherapie voor een stofwisselingsziekte zoals de ziekte van Gaucher kunnen oplopen tot € 200.000 per jaar. Ook hier gaat het om therapie die weliswaar vooralsnog in bijna alle gevallen toereikend lijkt, maar niet genezend is, levenslang moet worden toegediend, en vanwege de kosten lang niet overal beschikbaar. Op dit moment ligt de eenmalige interventie, die genterapie wordt verwacht te zijn voor deze ziekten, tegen een fractie van deze kosten binnen bereik. Dankzij de vorderingen van het Human Genome Project en tal van individuele onderzoeksgroepen zijn de genetische afwijkingen van ongeveer een derde van de erfelijke ziekten opgehelderd, waarmee de weg naar genterapie open ligt. Bij die erfelijke aandoeningen die geneesbaar zijn met hematopoietische stamcellen is de ontwikkeling van genterapie daarmee een *dwingende menselijke, medische, en maatschappelijke noodzaak* geworden.

Genterapie

Over de ontwikkeling van genterapie wordt al een jaar of 30 gedacht en, hoewel pas sinds een jaar of 8 mijn hoofdaandachtsgebied, is veel van ons onderzoek met proefdiermodellen op het gebied van stamceltransplantatie gedaan met de eventualiteit van genterapie in het achterhoofd. Zo demonstreerden wij in 1985 dat een erfelijk defect van stamcellen bij de muis kan worden gerepareerd met een muizenleukemie virus¹³ en formuleerden in 1986 de basisbeginselen van het selectieve voordeel van normale cellen bij erfelijke bloedarmoede¹⁴, gevolgd in 1988 door de demonstratie, eveneens in een model bij de muis voor een stofwisselingsziekte¹⁵ en in samenwerking met diezelfde Leidse Kinderkliniek, dat nakomelingen van stamcellen ook in staat zijn hersenschade te voorkomen, en in 1997 behoorden wij tot de eersten die een fluorescerend eiwit van een ongewervelde met succes in zoogdierstamcellen en hun nakomelingen tot expressie brachten¹⁶, waarmee deze cellen onder de fluorescentiemicroscopie groen kleuren en we hun lot na transplantatie eenvoudig kunnen volgen. Tegenwoordig is dit gemeengoed, we hebben zelfs groene muizen – voor alle duidelijkheid: het is niet de bedoeling ooit groene mensen te maken - maar het ging hier om *proof-of-principle* dat het mogelijk was om stamcellen met hoge efficiëntie uit te rusten met een nieuw gen, dat vervolgens functioneerde zoals het hoorde, en om nieuw wetenschappelijk gereedschap om stamcellen beter te kunnen bestuderen. Naast de groene fluorescentie heeft iedere genetisch gemedificeerde stamcel door de plaats in het erfelijk materiaal waar het ingebrachte gen is ingebouwd een unieke marker, aan de hand waarvan we desgewenst de nakomelingen van een individuele stamcel in kaart kunnen brengen.



Figuur 2: Procedure en resultaat voor stamcelgentherapie bij erfelijke ziekten

Gentherapie van stamcellen is in beginsel eenvoudig (figuur 2). Beenmerg wordt afgenomen, de stamcellen worden geïsoleerd, vervolgens wordt het therapeutisch gen in een vehikeltje bij de cellen gevoegd, waarmee het in het DNA wordt ingebouwd en het juiste eiwit, dat het defecte moet vervangen, gemaakt kan worden. De cellen worden daarna via de bloedbaan teruggegeven. Zoals al gememoreerd: stamcellen vinden met hoge efficiëntie zelf hun weg terug naar het beenmerg, zodat er geen gecompliceerde chirurgische ingrepen nodig zijn om de terugtransplantatie tot een goed einde te brengen. Deze stamcellen produceren vervolgens nakomelingen waarin het ingebrachte gen therapeutisch functioneert en het oorspronkelijke genetisch defect is opgeheven. Dat vehikeltje is een onschadelijk gemaakt virus, d.w.z. dat het niet meer kan ziek maken maar nog wel de equipment heeft die wij nodig hebben om er voor te zorgen dat het therapeutisch gen wordt ingebouwd in het DNA. Met de moderne technologie, die nog niet klinisch toegepast is, inactieveert het virus zichzelf, zodat er geen spoor van achterblijft nadat het zijn werk gedaan heeft.

De ontwikkeling van gentherapie heeft een moeizaam pad gevolgd, gekenmerkt door premature trials waarin de ambitie van de onderzoekers vele malen groter was dan de beschikbare know-how om het ook uit te kunnen voeren, om het voorzichtig te stellen. Het was kennelijk onvermijdelijk dat daardoor mislukkingen niet zijn uitgebleven. Ook Nederland is daar niet van vrij gebleven.

De eerste werkelijk succesvolle klinische trial bij een erfelijke ziekte werd vanaf 1999 uitgevoerd voor X-linked SCID door Alain Fischer¹⁷ en zijn mensen in Parijs, bij kinderen die geen passende beenmergdonor hadden, na een voorbereiding die tenminste 15 jaar in beslag heeft genomen. Negen van de tien kinderen herstelden voorspoedig en konden zonder de complicaties die een beenmergtransplantatie van een donor kunnen geven naar huis om een normaal peuterleven te gaan leiden zonder extra bescherming. Bij één kind sloeg de therapie niet aan, hoogstwaarschijnlijk tengevolge van een tegelijkertijd opgetreden virusinfectie; bij dit kind moest worden teruggevallen op transplantatie van beenmerg van een donor, die faalde. Het herstel van de afweerfuncties was bij vrijwel allen compleet, therapiegerelateerde complicaties vrijwel afwezig. Helaas kwamen met de effectiviteit ook de bijwerkingen van de therapie aan het licht, zij het bijna drie jaar later. Drie van de 10 kinderen ontwikkelden leukemie. Twee van hen zijn inmiddels vrij van leukemie met behoud van genezing van de oorspronkelijke aandoening – dit type leukemie bij kinderen is goed te behandelen – één patiëntje is helaas overleden. Opmerkelijk, eenzelfde trial in Londen¹⁸, waarin nu 8 patiëntjes evalueerbaar zijn, heeft geen bijwerkingen laten zien. In totaal zijn er dus 18 kinderen behandeld, waarvan 16 genezen (Figuur 3).

Het overall resultaat is zowel in termen van overleving als in termen van compleet herstel van het immuunsysteem een stuk beter dan te verwachten geweest zou zijn van donorbeenmergtransplantatie voor deze kinderen, die geen van allen beschikten over een passende familiedonor, maar de bijwerking was onverwacht. Wat was hier aan de hand?

'Bubble boy' saved by gene therapy



Rhys can now play outside

Figuur 3: Eén van de met succes behandelde kinderen uit de Londense X-linked SCID trial (Bron: BBC)

In een commentaar¹⁹ dat wij samen met Duitse, Nederlandse, Amerikaanse, en van oorsprong Russische en Chinese onderzoekers schreven, wat moge aangeven hoe internationaal het genterapieonderzoek is, hebben we geprobeerd de feiten op rij te

zetten en onderzoeksprioriteiten te formuleren. Wij gebruikten daarvoor de titel en de conceptuele basis van Monod's boek: hoe kon het toeval in de context van stamcellen met zo'n trefzekere onvermijdelijkheid toeslaan?

Indertijd was de gedachtegang dat er geen of nauwelijks voorkeursplaatsen zijn waar de gebruikte virussen en daarmee het therapeutisch gen in het erfelijk materiaal worden ingebouwd. Waar het terecht komt zou dus in hoofdzaak bepaald worden door toeval. De mogelijkheid van ontsporing was in beginsel bekend, omdat het virus ook, opnieuw bij toeval, terecht zou kunnen komen in de buurt van een ander gen dat onder bepaalde omstandigheden kanker kan veroorzaken. De kans daarop werd echter geschat op ongeveer 1 op een miljoen tot 1 op tien miljoen. Dat is nog steeds juist, maar dan op een per cel basis, en deze kinderen werden behandeld met tientallen miljoenen cellen, wat wij in zo'n eerste trial ook gedaan zouden hebben. Groot was de verbazing toen bleek dat bij de ontspoorde leukemische cellen het virus met het therapeutisch gen in de eerste twee patiënten precies op dezelfde plaats terecht gekomen was, een kans die dus volgens de heersende opvatting nog weer veel kleiner had moeten zijn. Ook bij de derde patiënt werd het ingebouwde gen op diezelfde plaats aangetroffen, hoewel we niet zeker weten of de leukemische ontsporing ook in dat geval daaraan toe te schrijven is.

Met deze virusvehikeltjes doen we in feite hetzelfde als de evolutie doet, we brengen een mutatie aan door een nieuw gen in het erfelijk materiaal te brengen, zij het verhoudingsgewijs op een wel heel bescheiden schaal. Uit het onderzoek, dat in verschillende laboratoria waaronder het onze, volgde bleek verrassend snel dat de gebruikte virussen in het geheel niet op random plaatsen in het erfelijk materiaal terecht komen, maar op voorkeursplaatsen die samenhangen met specifieke functies van de cel. Weliswaar blijft het toeval een belangrijke rol spelen, maar de context van de cellulaire eigenschappen leidt tot een onvermijdelijke clustering precies daar waar de virussen kwaad zouden kunnen. Het is veelzeggend dat uit ons nog niet gepubliceerde werk is komen vast te staan dat 19% van de plaatsen waarop het therapeutisch gen in overigens normale stamcellen werd ingebouwd in de Britse trial volledig overeenkomen met de onafhankelijke Franse. Wij analyseren nog wat de functies van de genen in de buurt van die inbouwplaatsen zijn, want het is zeker niet uit te sluiten dat de kennelijk preferente plaatsen te maken hebben met selectief voordeel voor de nakomelingen van sommige gerepareerde stamcellen, of van die stamcellen zelf. In een specifieke situatie is dit ook al aangetoond²⁰. De veelheid aan gegevens die wij verzamelden zouden nooit tot deze conclusies hebben kunnen leiden zonder de hulp van de moderne bioinformatica. Terzijde merk ik op dat we dankzij deze drie patiëntjes zoveel geleerd hebben over stamcelbiologie, dat het er naar uitziet dat we binnen afzienbare tijd de moleculaire basis van wat een stamcel tot stamcel maakt een stap dichterbij opheldering kunnen brengen of misschien wel helemaal boven water krijgen.

Bijwerkingen van geneesmiddelen zijn op zich niet zo bijzonder en iedere medische interventie, of die nu chirurgisch of medicamenteus, met preventieve of met curatieve bedoeling is, kent risico's en een venster waarin effectiviteit prevaleert en bijwerkingen tot een aanvaardbaar minimum teruggebracht zijn. Gentherapie is daarop geen uitzondering en wij geven in ons onderzoek prioriteit aan een zo hoog mogelijke effectiviteit met een aanvaardbaar risico vanuit de hoofdpeilers²¹ van de ethische afweging, waarin baat voor de patiënt en een laag en goed gedefinieerd risico centraal staan. Stamcelgentherapie kan enkele ordes van grootte veiliger worden door andere, zogenaamde zelf-inactiverende defectieve virussen te gebruiken, door een lager aantal stamcellen te transplanteren, door meer celspecifieke genexpressie dan tot dusver mogelijk was, en door gebruik te maken van nieuwe inzichten in stamcelbiologie en nieuwe analysetechnologie die het mogelijk zouden kunnen maken kwaliteitscontrole toe te passen alvorens genetisch gemodificeerde cellen terug te transplanteren.

Tabel 1. Resultaten eerste succesvolle klinische trials²²

Aandoening	Aantal patiënten	Resultaat
X-linked SCID Parijs/Londen	18	Immuunherstel en klinische genezing 16/18
ADA-SCID Milaan/Londen	7	Immuunherstel en klinische genezing 7/7

Gentherapie is nu klinisch toegepast voor deze vorm van immuundeficiëntie, voor een andere vorm gebaseerd op een stofwisselingsstoornis door een defect in het gen voor het enzym adenosine deaminase (ADA)²³, in totaal 25 patiënten die aan een dodelijke erfelijke ziekte leden en nu allen op 2 na hersteld zijn (Tabel 1). Bij een derde ziekte, chronic granulomatous disease (CGD), is gentherapie nu toegepast bij patiënten die geen enkele andere therapeutische optie meer hadden; ook hier leidde gentherapie tot klinische verbetering²⁰.

Aangezien het om zeldzame ziekten gaat, waarvan vele bij toeval worden ontdekt, omdat het om nieuwe mutaties gaat die niet eerder in de betrokken familie zijn gesignaleerd, is samenwerking tussen leidende onderzoeksgroepen een onvermijdelijke noodzaak om tot snelle resultaten te komen. Ik ben bevoorrecht het Europese onderzoek op dit terrein te mogen coördineren in onderzoek gesubsidieerd door de Europese Commissie. In dit project richten wij ons op uiteenlopende immuundeficiënties, erfelijke

bloedarmoede en stofwisselingsstoornissen. Veel aandacht wordt besteed aan basale stamcelbiologie en aan de ethische aspecten van gentherapie. Indien gentherapie bij deze aandoeningen een succes blijkt te zijn, ligt de weg open voor een veelheid aan andere. Belangstellenden kunnen hier op onze website www.genetherapy.nl meer over lezen. Te verwachten is dat de klinische trials binnen enkele jaren kunnen starten, ook in het Erasmus MC. Binnen het Erasmus MC richten wij ons in samenwerking met de afdeling Immunologie op de immuundeficiënties, in het bijzonder SCID en XLA, onderzoek dat wordt gesubsidieerd door een programmasubsidie van ZonMW.

Wat belemmert het gentherapeutisch onderzoek? Niet veel, behalve de onnodig en zorgwekkend toenemende kosten van het proefdieronderzoek en de indirecte kosten veroorzaakt door de administratieve ballast van volledig uit de hand gelopen regelgeving op dierproeven en genetisch gemodificeerde organismen. De moderne biomedisch onderzoeker moet een wonder van administratief vernuft zijn om nog een proefje te kunnen doen. Van sommige van mijn medewerkers vult de bureaucratische rompslomp tenminste een derde van hun tijd. Het moge duidelijk zijn dat de subsidiegevers de kostenstijgingen van het proefdieronderzoek noch de indirecte kostenpost veroorzaakt door de regelgevers financieren. In een commentaar in NRC Handelsblad onder de titel "Gentherapie belemmerd" spreekt Piet Borst, niet de eerste de beste, van een "braambos aan bureaucratische belemmeringen" en "dolggedraaide regelgeving" op het gebied van recombinant DNA. Ik citeer met enige graagte:

"Het is tijd om al het toezicht op genetische modificatie nog eens kritisch te bekijken. De risico's van genetisch veranderde organismen worden nu beoordeeld los van alle andere biologische risico's die wij lopen. Zouden de medisch-biologische recombinant-DNA-proeven worden afgewogen tegen de echte ziekteverwekkers, de pathogene darmbacteriën, de multi-drug resistente tuberkelbacteriën en malariaparasieten, de nieuwe influenza- en SARS epidemieën, die ons als een zwaard van Damocles boven het hoofd bungelen, dan zou het toezicht op medisch-biologische recombinant-DNA-proeven morgen worden opgeheven. Dertig jaar recombinant-DNA-proeven hebben ons laten zien dat die proeven geen risico met zich meebrengen en het is wat mal dat serieuze geleerden nog steeds hun tijd verdoen met het filosoferen over de theoretische risico's van die proeven."

In de geneeskunde van de toekomst zal gentherapie zich niet beperken tot de erfelijke ziekten. Ook in de oncologie, de cardiovasculaire geneeskunde, vaccin-ontwikkeling, infectieziekten, tissue engineering, oogheelkunde en neuronale ziekten doemen de gentherapeutische toepassingen op. Gentherapie behoort daarmee tot de grote beloften voor de vernieuwing van het geneeskundig arsenaal. Het is van groot belang het gentherapeutisch onderzoek met diepte-investeringen te steunen. Het Rotterdams gentherapie platform, waarin in innovatie leidende afdelingen participeren, stelt

zich de ontwikkeling ten doel van een multidisciplinair Kenniscentrum Genterapie, dat ook haar plaats in het kerncurriculum, in de Masters opleidingen, en in het post-doctoraal en specialistisch onderwijs zal moeten innemen. Deze leerstoel kan daarin instrumenteel zijn. De artsen van de toekomst kunnen op dit moment kiezen voor genterapie in het tweedejaars keuze-onderwijs, wat een succesvol begin is, terwijl wij in het post-doctoraal onderwijs zojuist in samenwerking met de Nederlandse Vereniging voor Genterapie en georganiseerd door de Onderzoekschool Moleculaire Medicijnen de eerste nationale cursus Genterapie onder grote belangstelling achter de rug hebben.

Bij de ontwikkeling van genterapie staat het onderzoek naar effectiviteit en veiligheid voorop, maar niet minder belangrijk is de patiënt die vanzelfsprekend centraal staat. In de patiëntenorganisaties vinden wij belangrijke bondgenoten in de ontwikkeling van genterapie en ik prijs mij gelukkig dat wij bij hun publieks- en patiëntenvoorlichting kunnen aansluiten. Dr. Cees Smit, de oud-voorzitter van de overkoepelende patiëntenorganisatie VSOP, zelf hemofiliepatiënt, geeft ook college in ons keuze-onderwijs Genterapie voor medisch studenten onder de titel "Leve de onderzoekers." Mede op initiatief van Cees Smit en de VSOP zijn de websites www.informatiedierproeven.nl en www.biomedisch.nl van de grond gekomen. Deze sites geven objectieve voorlichting over het hoe en waarom van het biomedisch onderzoek, waaronder genterapie. Op de agenda staat voorts voor 2007 een internationale conferentie over de ethische aspecten van genterapie, waarin zowel publieksvoorlichting als het bereiken van een Europese consensus centraal staan.

Dames en heren,

Aan het slot van deze rede wil ik graag enkele woorden van dank uitspreken. Op de eerste plaats dank ik het College van Bestuur van de Erasmus Universiteit, de Raad van Bestuur van het Erasmus MC, in het bijzonder de Decaan, Paul van der Maas, voor zijn inzet deze leerstoel te realiseren, en het bestuur van de Vereniging Trustfonds van de Erasmus Universiteit voor het in mij gestelde vertrouwen.

Velen hebben mij op het pad der wetenschap begeleid en behoed voor misstappen. Ik kan ze niet allemaal noemen. Veel dank gaat uit naar stichter van onze faculteit, Dries Querido, die – ik behoor tot het eerste jaar dat hier geneeskunde studeerde - ons ruime faciliteiten voor onderzoek verschaftte op een schaal die nu niet meer mogelijk zou zijn, en onderzoek door studenten krachtig aanmoedigde. Querido stond een gecombineerde MD/PhD opleiding voor ogen naar model van het Albert Einstein College of Medicine in New York. Hij riep mij af en toe bij zich. Mijn promotieonderzoek werd begeleid door Henk van Eijk, een bijzonder mens, en in het niertransplantatielab van Tineke Lameyer, die mij de eerste beginselen van de transplantatiebiologie bijbracht en op het spoor van het Radiobiologisch Instituut TNO zette. Het is verdrietig dat zij hier vandaag niet kan zijn. Bracht mijn promotor, Bart Leijne²⁴, mij het grote belang onder aandacht van de kwantitatieve benadering van complexe biologische problemen, kort gezegd van maat en getal in de wetenschap, het was mijn periode op het Radiobiologisch Instituut onder leiding van Dick van Bekkum, die ongetwijfeld het meest heeft bijgedragen aan mijn vorming tot basic scientist.

Het Radiobiologisch Instituut was een unieke plaats van wetenschapsbeoefening en mijn huidige internationale activiteiten zouden niet goed denkbaar zijn zonder de mentaliteit van Rijswijk. De vele eminente buitenlandse scientists die kortere of langere tijd in ons Rijswijkse lab hebben gewerkt zouden dat niet hebben gedaan zonder de context van het Radiobiologisch Instituut. Er is weinig verrijkender dan de onconditionele vriendschappen die daaruit zijn ontstaan, evenals – vanuit mijn andere tak van sport, de stralingsbiologie, die hier onderbelicht moet blijven - de talloze Chernobyl missies en rapportages ten dienste van de Nederlandse en de Europese overheid en verschillende suborganisaties van de Verenigde Naties de onverwacht warme vriendschap van Russische scientists schonk.

Bob Löwenberg: wij kennen elkaar sinds 1974, dat was toeval, en in 1988 voegden onze paden zich weer bijeen, wat niet onvermijdelijk was, toen we besloten ons in te zetten voor de bundeling van het in die tijd versnipperde hematologieonderzoek in de Rotterdam/Rijswijk regio. Daartussen hebben we nog samengewerkt in je eerste schreden op het klinisch beenmergtransplantatiepad voor leukemie en de effecten van het door ons gekloneerde IL-3²⁵ in de leukemische hematopoiese. Je hebt je buitengewoon ingezet voor de instelling van deze leerstoel en ik ga er van uit dat we

de komende jaren in goede harmonie zullen samenwerken. De bundeling van het hematologieonderzoek die in 1993 gestalte kreeg in *ons* research laboratorium is een doorslaand succes gebleken: we beginnen nu uit onze behuizing te groeien en zullen daar slagvaardig mee moeten omgaan.

Een leerstoel is een leeg en eenzaam avontuur zonder uitstekende medewerkers. Het is een jong en bruisend team dat aan stamcellen en gentherapie werkt en het is een voorrecht met jullie te werken. Ik hoop jullie later deze dag persoonlijk te bedanken. De samenwerking met de afdeling Immunologie, Frank Staal en Jacques van Dongen, is buitengewoon effectief en functioneel, evenals de meer recente samenwerking in de ontrafeling van stamcelgeheimen met de afdeling Bioinformatica.

Het werk van de postdocs Bert Wognum, Academie Fellow, en Marti Bierhuizen was instrumenteel in de ontwikkeling van ons gentherapie programma in het midden van de jaren '90, en het spijt mij dat wij hen hebben moeten laten gaan om in hoofdzaak bureaucratische redenen: het gebrek aan vaste posities in academia. Met veel plezier denk ik terug aan de promovendi²⁶ die ik in Rijswijk en Rotterdam heb mogen begeleiden, al zal niet ieder van hen daar reciproke gevoelens bij koesteren, maar ook hier domineert vriendschap. Shoshi, Peter, Winald, Jenne, Francis, Cor, Herman, Marg, Karen, Monique en Simone, en in de pipeline Martijn, en Fatima: ik heb veel van jullie geleerd. Ook een professor blijft zijn leven lang student, en het studiemateriaal wordt in vaak overstelpende hoeveelheid aangedragen door PhD studenten en postdocs. Het stemt tot voldoening dat vrijwel allen die de eindstreep hebben gehaald een voorspoedige loopbaan hebben kunnen inslaan, waaronder prominente posities in de Nederlandse geneeskunde.

Op deze plaats gaan mijn gedachten zeer in het bijzonder uit naar mijn ouders, die mij hun grenzeloze vertrouwen schonken en mijn studieperiode steeds onvoorwaardelijk hebben gesteund. Deze goede mensen kunnen hier niet meer zijn: mijn vader overleed 22 jaar geleden, mijn moeder 2 weken geleden.

Last, but not least: Job, Hugo, David en Annekee, jullie zijn een geweldig span en de genetische spiegel die jullie voorhouden fascineert mij dagelijks. Ik weet dat jullie het in je hebben ... Greet: zonder jou zou ik hier niet staan.

Ik dank u allen voor uw zeer gewaardeerde aandacht.

Ik heb gezegd.

Noten

- ¹ J Monod, *Le hasard et la nécessité*. PointSeuil, 1970.
- ² Democritus was een pre-Socratische Griekse filosoof, geboren in Abdera in Thracië rond 460 BC en gestorven rond 370 BC. Democritus was een leerling van Leucippus, met wie hij de opvatting ontwikkelde dat alle materie is opgebouwd uit ondeelbare deeltjes, die hij "atomos" noemde. Zijn geschriften zijn verloren gegaan, en veel van wat wij over hem weten is ontleend aan wat Aristoteles over hem schreef.
- ³ Zoals zou kunnen blijken uit mijn correspondentie met de Oxfordse classicus en Democrituskenner CCW Taylor, zie ook diens monografie *The Atomists: Leucippus and Democritus* (Phoenix Presocratic Series), University of Toronto Press, 1999. Dijksterhuis schrijft echter wel een elementaire notie van toeval aan Democritus toe (EJ Dijksterhuis, *De mechanisering van het wereldbeeld*. Meulenhoff Amsterdam, 1950) en Russell laat ons in het ongewisse (B Russell, *History of Western Philosophy* (London, 1961), 82-90)
- ⁴ Democritus' vrolijkheid was zo opzienbarend, dat hij naar Hippocrates gestuurd werd, die hem, zoals een goede dokter betaamt, op losse gronden verzekerde dat er niets aan de hand was.
- ⁵ Maximow A., *Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedene Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere*, *Folia Haematol* (Leipzig), 8: 125-141, 1909.
- ⁶ DW van Bekkum & MJ de Vries, *Radiation Chimeras*, Logos, London, 1967.
- ⁷ Dicke KA, van Noord MJ, van Bekkum DW. Attempts at morphological identification of the hemopoietic stem cell in rodents and primates. *Exp Hematol* 1(1): 36-45, 1973.
- ⁸ Monroe C, Meekhof DM, King BE, Wineland DJ, "A Schrödinger Cat" superposition state of an atom. *Science* 272 (5265): 1131-1136, 1996
- ⁹ Richard Dawkins, *The blind watchmaker: Why the evidence of evolution reveals a universe without design*, 1986.
- ¹⁰ J. de Mul. Toeval. Oratie uitgesproken op 22 september 1994 bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar wijsgerige antropologie aan de Faculteit der Wijsbegeerte van de Erasmus Universiteit te Rotterdam.
- ¹¹ Fischer A, Griscelli C, Friedrich W, Kubanek B, Levinsky R, Morgan G, Vossen J, Wagemaker G Landais P. Bone marrow transplantation for immunodeficiencies and osteopetrosis. *The Lancet* ii, 10801085, 1986.
- ¹² "Rare Diseases: Understanding this Public Health Priority" Eurordis, November 2005 - www.eurordis.org
- ¹³ Merchav S, Wagemaker G, Van Bekkum DW. Reconstitution of the W/Wv stem cell differentiation defect by infection with Rauscher leukemia virus. *J Natl Cancer Inst* 75: 361368 1985.
- ¹⁴ Wagemaker G, Visser TP, Van Bekkum DW. Cure of murine thalassemia by bone marrow transplantation without eradication of endogenous stem cells. *Transplantation* 42: 248-251, 1986.
- ¹⁵ Hoogerbrugge PM, Suzuki K, Suzuki KU, Poorthuis BJHM, Kobayashi T, Wagemaker G, Van Bekkum DW. Donor-derived cells in the central nervous system of twitcher mice after bone marrow transplantation. *Science* 239: 1035-1038, 1988.
- ¹⁶ Bierhuizen MFA, Westerman Y, Visser TP, Dimjati W, Wognum AW, Wagemaker, G. Rapid Publication: Enhanced green fluorescent protein (EGFP) as selectable marker of retroviral mediated gene transfer in immature hematopoietic cells. *Blood* 90: 3304-3315, 1997.
- ¹⁷ Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G, Gross F, Yvon E, Nusbaum P, Selz F, Hue C, Certain S, Casanova JL, Bouso P, Deist FL, Fischer A. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 288(5466): 669-72, 2000.

- ¹⁸ Gaspar HB, Parsley KL, Howe S, King D, Gilmour KC, Sinclair J, Brouns G, Schmidt M, Von Kalle C, Barington T, Jakobsen MA, Christensen HO, Al Ghonaium A, White HN, Smith JL, Levinsky RJ, Ali RR, Kinnon C, Thrasher AJ. Gene therapy of X-linked severe combined immunodeficiency by use of a pseudotyped gammaretroviral vector. *Lancet* 364(9452): 2181-7, 2004.
- ¹⁹ Baum C, von Kalle C, Staal FJ, Li Z, Fehse B, Schmidt M, Weerkamp F, Karlsson S, Wagemaker G, Williams DA. Chance or necessity? Insertional mutagenesis in gene therapy and its consequences. *Mol Ther* 2004 Jan; 9(1): 5-13
- ²⁰ Ott MG, Schmidt M, Schwarzwaelder K, Stein S, Siler U, Koehl U, Glimm H, Kuhlcke K, Schiiz A, Kunkel H, Naundorf S, Brinkmann A, Deichmann A, Fischer M, Ball C, Pilz I, Dunbar C, Du Y, Jenkins NA, Copeland NG, Luthi U, Hassan M, Thrasher AJ, Hoelzer D, von Kalle C, Seger R, Grez M. Correction of X-linked chronic granulomatous disease by gene therapy, augmented by insertional activation of MDS1-EV11, PRDM16 or SETBP1. *Nat Med* 12(4): 401-9, 2006.
- ²¹ The autonomy, beneficence, nonmalificence, and justice principles.
- ²² Bijgewerkt tot 1 januari 2006
- ²³ Aiuti A, Slavin S, Aker M, Ficara F, Deola S, Mortellaro A, Morecki S, Andolfi G, Tabucchi A, Carlucci F, Marinello E, Cattaneo F, Vai S, Servida P, Miniero R, Roncarolo MG, Bordignon C. Correction of ADA-SCID by stem cell gene therapy combined with nonmyeloablative conditioning. *Science* 296(5577): 2410-3, 2002.
- ²⁴ Leijnse gaf mij bij mijn promotie in 1976 Dijksterhuis' "De mechanisering van het wereldbeeld" ten geschenke, met daarin als opdracht het aan Democritus toegeschreven motto van Monod's "Toeval en onvermijdelijkheid".
- ²⁵ Dorssers L, Burger H, Bot F, Delwel R, Geurts van Kessel AHM, Löwenberg B, Wagemaker G. Characterization of a human multi-CSF cDNA clone identified by a conserved noncoding sequence in mouse interleukin-3. *Gene* 55: 115-124, 1987.
- ²⁶ Ph.D. Theses:
 S. Merchav. Rauscher leukemia virus in W/W^v mice. Academic Thesis 1986, Erasmus University, Rotterdam. (Support: KWF)
 P.M. Hoogerbrugge. Bone marrow transplantation for lysosomal enzyme deficiency. Thesis 1988, State University, Leiden. Cum laude. (Support: Praeventiefonds)
 W.-R. Gerritsen. Bone marrow transplantation with T lymphocyte depleted and stem cell enriched bone marrow grafts. Thesis 1989. Erasmus University, Rotterdam. (Support: TNO)
 J.J. Wielenga. Hemopoietic stem cells in rhesus monkeys: surface antigens, radiosensitivity and responses to GM-CSF. Thesis 1990. Erasmus University Rotterdam. (Support: KWF, EC)
 F.C.J.M. van Gils. Interleukin-3. Thesis 1993. Erasmus University Rotterdam. (Support: KWF, EC)
 C. van den Bos. Partial hemopoietic chimerism in thalassemic recipients of normal bone marrow stem cells. Thesis 1994. Erasmus University Rotterdam. (Support: NWO-MW)
 H. Burger. Interleukin-3. Identification, characterization and molecular evolution. Thesis 1996. Erasmus University Rotterdam. (Support: KWF, EC, TNO)
 M.O. de Jong. Flow cytometric analysis of growth factor receptor expression on hemopoietic progenitors. Thesis 1997. Erasmus University Rotterdam. (Support: KWF)
 K.J. Neelis. Thrombopoietin. Thesis 1998. Erasmus University Rotterdam. (Support: KWF, Genentech, EC)
 M.M.A. Verstegen. Transplantation models for the quantitative evaluation of normal, genetically marked, and malignant hematopoietic stem cells. Thesis 2002. Erasmus University Rotterdam. (Support: KWF, EC)
 S.C.C. Hartong. Preclinical evaluation of thrombopoietin and flt-3 ligand treatment. Thesis 2003. 2000th Medical Thesis, Erasmus University Rotterdam. (Support: NWO-MW, Genentech, EC)

*Deze publicatie betreft een oratie aan
de Erasmus Universiteit Rotterdam*

ISBN 90-77906-17-7

