

**‘Van kwaad tot beter’:
over virussen, vectoren en gentherapie**

Rede uitgesproken door

Prof. Dr R.C. Hoebe

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar
in de Genoverdracht aan de Universiteit Leiden
op vrijdag 1 juni 2001.

Mijnheer de Rector Magnificus,

Zeer gewaardeerde toehoorders,

Toen Peter Medawar, de winnaar van de Nobelprijs voor geneeskunde en fysiologie in 1960, werd gevraagd kort en begrijpelijk uit te leggen wat een virus was, definieerde hij een virus als volgt: „Een virus is een stuk nucleïnezuur, DNA of RNA, omgeven door slecht nieuws.“ De juistheid van deze definitie is kortgeleden nog pijnlijk duidelijk geworden. De uitbraak van het virus dat mond- en klauwzeer veroorzaakt, zorgde voor een regelrechte mediahype. Deskundigen en getroffen, omwonenden en politici, iedereen wordt uitgenodigd zijn of haar mening te geven. Allen verkondigen luid hoe schadelijk en gevaarlijk deze virussen zijn. Uiteraard hebben zij gelijk: deze virussen zijn voor betrokkenen zeer gevaarlijk geworden.

Toch voel ik mij hier, als bioloog, geroepen enige relativerende woorden te uiten: wanneer we het mond- en klauwzeervirus op de keper beschouwen, dan is dit virus voor een gezond dier niet acuut dodelijk of zelfs maar bijzonder gevaarlijk. Het zijn andere dan biologische redenen die er voor zorgen dat de honderden geïnfecteerde dieren en honderduizenden dieren die de pech hebben daarbij in de buurt te zijn geweest, dienen te worden ‘geruimd’. De huidige uitbraak heeft in Europa ruim 3 miljoen dieren het leven gekost, en in Nederland alleen al een economische schade opgeleverd van ca. 3 miljard gulden.

De uitbraken van varkenspest en mond- en klauwzeer hebben ons weer versteld doen staan van de efficiëntie waarmee deze virussen zich kunnen verspreiden. De MKZ-infectiehaard breidde zich uit van Engeland naar Ierland, Frankrijk en Nederland. Eén en ander heeft heel inzichtelijk gemaakt wat er bij komt kijken voordat wij een stuk rundvlees op ons bord hebben liggen. De kalveren komen ter wereld in Engeland en worden spoedig daarna getransporteerd naar Ierland om te worden gemest. Daarna worden ze via Frankrijk naar Nederland gebracht om te worden ‘doorgemest’, voordat ze worden geslacht in Italië. Als consument hebben we iets kunnen leren over de runderen en over ons vlees door deze virussen goed te volgen.

Dames en heren, niet alleen in de vleessector kunnen we iets leren door virussen te bestuderen. Dit geldt ook in de geneeskunde.

Virussen als sonde

Virussen kennen een enorme verscheidenheid. Ze hebben eigenlijk maar twee doelen in hun bestaan: zich vermeerderen en zich verspreiden. Nu kunnen virussen dit niet zelf. Virussen zijn parasieten die voor het vermeerderen helemaal afhankelijk zijn hun gastheer. Dat doen de virussen door de drager van hun genetische informatie, het DNA of RNA, te laten opnemen door een cel, en die cel vervolgens aan te zetten

tot het vermenigvuldigen hiervan. Daarna wordt de cel ook nog aangezet tot het verpakken van het DNA of RNA in een mantel van eiwit en soms ook vet. Tenslotte worden de zo gevormde nieuwe virusdeeltjes weer vrij gemaakt door die cel. Dit gaat verbluffend efficiënt. Een cel geïnfecteerd door een enkel *adenovirus* kan binnen een dag ca. 100.000 nieuwe virusdeeltjes maken.

Uiteraard probeert ons lichaam en proberen onze cellen zich hiertegen zo goed mogelijk te beschermen. Een eerste verdedigingslinie van ons lichaam is een goed functionerend afweersysteem. Witte bloedcellen leren hoe ze de virussen kunnen herkennen en zullen de geïnfecteerde cellen doden en opruimen. Later worden ook antistoffen gemaakt die gericht zijn tegen het virus.

Ik heb U al eerder het *adenovirus* genoemd, een menselijk virus dat relatief milde verkoudheidachtige verschijnselen veroorzaakt en dat de bovenste luchtwegen of soms ook de ogen of het maag- en darmstelsel infecteert. Vrijwel iedereen hier aanwezig, is wel eens met dit virus in aanraking gekomen. U bent zich daarvan waarschijnlijk niet bewust geweest. Maar het is direct aantoonbaar omdat U antistoffen tegen dit virus in uw bloed draagt. Deze maken U gelukkig veel minder vatbaar tegen een volgende infectie met zo'n *adenovirus*.

Het belang van het afweersysteem wordt duidelijk wanneer we kijken in patiënten waarbij de afweer tijdelijk niet meer goed functioneert. Dit kan wanneer het afweersysteem moedwillig wordt onderdrukt, bijvoorbeeld ten behoeve van een moeilijke transplantatie. Dr. Maarten van Tol en medewerkers van de afdeling Kindergeneeskunde hebben overtuigend aangetoond dat een *adenovirus*infectie onder die omstandigheden een dodelijk verloop kan krijgen. Ons afweersysteem is dan ook absoluut essentieel om virale infecties zo snel mogelijk te beheersen en, waar mogelijk, te voorkomen.

Virussen staan bij biomedisch onderzoekers sterk in de belangstelling. Een belangrijke reden hiervoor is het feit dat het bestuderen van virussen ons veel kan leren over hun gastheer. Ze hebben aan de wieg gestaan van veel van de inzichten op het gebied de genetica, de celbiologie en de immunologie.

Een aantal voorbeelden hiervan:

- Het bewijs dat het DNA en niet de eiwitten de drager is van erfelijke informatie werd verkregen uit basaal onderzoek naar de interactie van bacterievirussen met hun gastheer, de bacteriën;
- Inzicht in hoe DNA in de cel wordt vermenigvuldigd werd ontleend aan studies naar virusvermeerdering;

- Het bestuderen van virusgenen gaf het inzicht dat sommige de meeste boodschapper- RNA's worden gesplitst;
- We leerden hoe de activiteit van genen kan worden gereguleerd;
- Ook is intensief bestudeerd hoe ons lichaam zich verdedigt tegen de aanvallen van virussen waaraan het veelvuldig blootstaat, en hoe virussen op hun beurt proberen het immuunsysteem te omzeilen.

Dit laatste is natuurlijk van levensbelang voor het virus. Wanneer virussen zich al te gemakkelijk laten herkennen en elimineren door het immuunsysteem van de gastheer zal het snel met het virus afgelopen zijn. Virussen hebben dan ook een hele grote verscheidenheid aan mechanismen ontwikkeld om voor kortere of langere tijd aan het immuunsysteem van de gastheer te ontsnappen. Het ene virus verandert zichzelf met hoge frequentie, zodat wanneer het immuunsysteem eenmaal heeft geleerd hoe het virus te herkennen, het er alweer anders uitziet. Andere virussen remmen belangrijke stappen die leiden tot de herkenning van lichaamsvreemde stoffen, waardoor het virus als het ware onzichtbaar wordt. Kortom, het belang van de virussen als instrument van de biomedisch onderzoeker kan moeilijk worden overschat.

Virussen als vector voor genoverdracht

Ook bij het kankeronderzoek is veel gebruik gemaakt van virussen. Een virus dat in dit opzicht veel werd bestudeerd was het *polyomavirus* (niet te verwarren met het *poliovirus* dat kinderverlamming veroorzaakt), dat in ratten en muizen kanker kan veroorzaken. Om voldoende virus te kunnen produceren voor het onderzoek werd dit virus vermeerderd in gekweekte cellen. Nu bleek dat zich soms afwijkende virussen vormden die niet meer in staat waren zich te vermeerderen. De hoeveelheid van dit soort inactieve virussen kon sterk verschillen van laboratorium tot laboratorium, en zelfs van onderzoeker tot onderzoeker. Wanneer de onderzoeker nauwgezet volgens de protocollen het virus vermenigvuldigde werden dit soort defectieve virussen niet of nauwelijks gevormd, maar wanneer men slordig werkte en vaak de cellen aan te veel virus blootstelde, werden de defectieve virussen veel gevormd.

Uiteraard zijn deze deeltjes bestudeerd om een idee te krijgen wat er nu eigenlijk mis is met deze defectieve *polyomavirussen*. Groot was de verrassing toen bleek dat deze virusdeeltjes geen viraal DNA bevatten, maar DNA van de gastheer cel. Het bleek dus mogelijk in een virusmantel een klein beetje DNA te verpakken van een rat! Dit raten-DNA kon dan in het virusdeeltje verpakt, meeliften naar een andere cel. Op deze manier was het dus mogelijk om heel efficiënt een cel genetisch te modificeren.

De onderzoekers zagen in dat dit, in theorie, de deur opende voor een hele nieuwe

benadering van het behandelen van erfelijke ziekten, namelijk 'gentherapie'. Hierbij wordt gestreefd een fout in het DNA van een patiënt als het ware te repareren. In een beperkt aantal cellen van een patiënt dienden functionele kopieën van een defect gen te worden geplaatst. Er werd voorzien dat het op die manier mogelijk zou worden met behulp van genetisch gemodificeerde virussen het gendefect te corrigeren en zo erfelijke aandoeningen geheel te genezen!

Voor gentherapie-onderzoek zijn een aantal basisingrediënten nodig:

- Het gen dat defect is moet bekend en beschikbaar zijn: welnu, dat is niet echt een groot probleem meer. Onder andere dankzij het *Human Genome Project*, waarbij het opsporen van zogenaamde ziektegenen natuurlijk een hoge prioriteit had, zijn de genen voor de meest voorkomende eenvoudige erfelijke ziekten nu bekend en beschikbaar. In Leiden kunnen we hiervoor direct aankloppen bij onze benedenburen van het Leiden Genome Technology Center.
- Het gen moet op een efficiënte manier in een beperkt aantal cellen van de patiënt te brengen zijn. Hiervoor kunnen de eerder genoemde defectieve virussen goed worden gebruikt. Uiteraard kunnen we dat nu beter dan vroeger, we zijn niet meer afhankelijk van slordig werken! We kunnen nu kreupel virussen maken die alleen het gen bevatten waarin we geïnteresseerd zijn. We noemen dit de 'vectoren'. Het ontwikkelen en verbeteren van dergelijke genoverdracht-vectoren is één van de belangrijkste doelen van het onderzoek in mijn groep.
- Het gen moet zodanig worden binnengebracht, dat het op de juiste manier wordt overgeschreven. Hoe dat overschrijven precies gereguleerd wordt is het onderwerp van studie in het laboratorium van collega Verrijzer in onze afdeling.
- Het overschrijven van de genen moet, en dat is in tegenstelling tot wat in de wetenschap gebruikelijk is, gebeuren zonder bronvermelding, om ons afweersysteem niet te activeren! Hoe het afweersysteem reageert op de virus-vectoren is het onderwerp in het samenwerkingsproject dat we hebben met onderzoekers in de groep van collega Melief.

Dames en heren, zo elegant als dit gentherapieconcept ook lijkt, zo weerbarstig blijkt de realisering ervan. Nu, zo'n 40 jaar na de formulering van het concept, zijn er nog maar een zeer beperkt aantal patiënten die werkelijk geholpen zijn door een behandeling volgens dit concept. Begrijp mij niet verkeerd, er is ondertussen wel heel veel bereikt!

- De genen voor de meeste eenvoudige genetische aandoeningen zijn gekarakteriseerd en beschikbaar;

- Er zijn diverse veilige en efficiënte op virus gebaseerde genoverdracht-systemen beschikbaar;
- Er is aangetoond dat virus-vectoren gemaakt kunnen worden volgens de kwaliteitsmaatstaven die nodig zijn om het materiaal in de kliniek toe te passen;
- In proefdieren kunnen we sommige ziekten al wel goed genezen;
- En, misschien is dat wel het belangrijkste, we hebben leren zien waar de beperkingen liggen van de technieken zoals die nu beschikbaar zijn.

Er zijn dus nog diverse technische en biologische problemen die moeten worden opgelost. Ik wil dit illustreren met voorbeelden uit ons eigen onderzoek naar de mogelijkheden die gentherapie biedt voor de behandeling van hemofilie, vroeger ook wel bloederziekte genoemd.

Virus-vectoren voor gentherapie bij hemofilie

Hemofilie is een erfelijke aandoening die wordt veroorzaakt doordat een eiwit ontbreekt dat betrokken is bij de bloedstolling. Er zijn twee varianten van deze aandoening: hemofilie A wordt veroorzaakt door een tekort aan stollingsfactor VIII, en hemofilie B door een tekort aan factor IX. De genen voor factor VIII en IX liggen beide op het X-chromosoom. Het zijn dan ook vrijwel uitsluitend mannen die deze ziekte krijgen. Tegenwoordig wordt hemofilie behandeld door regelmatige infusies met stollingsfactor-concentraten gezuiverd uit bloed of gemaakt met behulp van recombinant-DNA-technologie. De behandeling is zeker effectief. Toch blijft de roep om een behandeling die de patiënt geheel onafhankelijk maakt van transfusies. Gentherapie biedt hiervoor de mogelijkheden. Hiervoor zou in een beperkt aantal cellen van de patiënt een functioneel gen voor factor VIII of IX geplaatst moeten worden.

Het was dan ook een voor de hand liggende keuze om het gentherapie-onderzoek in het laboratorium van Prof. Van der Eb te richten op de behandeling hemofilie. In samenwerking met Prof. Briët van de afdeling Hemostase en Trombose in het ziekenhuis alhier werd besloten het onderzoek te richten op hemofilie A. De reden hiervoor was dat er honden waren met hemofilie A. Deze zouden goed gebruikt kunnen worden om de te ontwikkelen strategie te toetsen. Van Prof. Hans Pannekoek en Dr Martin Verbeet van het Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst kregen we het gen voor menselijk factor VIII dat we voor het onderzoek konden gebruiken.

We plaatsten het gen in een defectief *retrovirus*. Met deze factor-VIII-vectoren wer-

den bindweefselcellen van de huid voorzien van een factor-VIII-gen. Normaal wordt dit eiwit niet in de huid, maar in de lever gemaakt. Maar overdracht van het factor-VIII-gen naar de huidcellen met het door ons gefabriceerde virus begonnen de cellen factor-VIII-eiwit te produceren. Uiteraard waren wij hierover best tevreden, zeker toen uit nauwkeurige proeven van Nico van Tilburg bij de afdeling Hemostase en Trombose bleek, dat het in de huidcellen geproduceerde eiwit volledig functioneel was.

Om nu een patiënt te genezen zouden die genetisch gemodificeerde huidcellen, die nu factor VIII maken, in of onder de huid van een patiënt kunnen worden geïmplan-teerd. We hebben toen uitgerekend hoeveel cellen we zouden moeten modificeren om bij een patiënt met ernstige hemofilie de bloedingsneiging te verminderen, of hem zelfs te genezen. We kwamen uit op een hoeveelheid van ongeveer drie miljard cellen, hetgeen ongeveer overeenkomt met een tiende van de inhoud van een flink limonade glas. Er waren nog wel technische onvolkomenheden in onze systeem, we konden minder factor-VIII virusvectoren produceren dan we wilden, en we maakten minder eiwit dan gewenst was, maar die problemen leken en bleken oplosbaar.

Dames en heren, het was 1990, en wij waren oprecht van mening dat het niet ver meer kon zijn voordat wij de benadering in onze proefdieren met hemofilie konden toetsen. Dit bleek echter te optimistisch.

Uit experimenten van onze groep en ook van Amerikaanse collega's bleek dat de genen die we met behulp van virusvectoren in de huidcellen hadden gebracht wel actief bleven als we de cellen in het laboratorium kweekten, maar niet wanneer we de cellen terug transplanteerden naar muizen. De genen werden inactief, en de cellen maakten dus ook geen factor-VIII-eiwit meer. Ook bleek dat het factor-VIII-eiwit dat werd uitgescheiden door de cellen in de huid, niet of heel slecht de bloedbaan had bereikt. De huid bleek helemaal niet zo'n geschikt weefsel te zijn voor hemofilie gen-therapie!

Dames en heren, we waren weer terug bij af. Bij onze 'doorstart' besloten we ons te gaan richten op het introduceren van genen in de lever, immers van deze cellen wisten we zeker dat ze het eiwit konden uitscheiden in de bloedbaan. We moeten nu wel overstappen op een andere virale vector, want het *retrovirus* dat we tot nu toe gebruikten is niet erg geschikt om genen over te dragen naar levercellen.

We kozen nu voor het *adenovirus*. In het laboratorium van Prof. Van der Eb bestond een lange traditie wat betreft onderzoek naar de interacties van dit virus met zijn gas-theer cel. Het lukte Dr Frits Fallaux, als promovendus in de groep dan ook om snel en efficiënt de adenovirus-vectoren aan de praat te krijgen. Van Dr Sheila Connelly van Genetic Therapy Inc. in Maryland, kregen we de beschikking over een adenovirus-

vector met daarin het factor-VIII-gen. We toonden aan dat ook dit virus goed geschikt was om factor-VIII-eiwit te produceren. Ook herhaalden we proeven van Connelly's groep die aantoonde dat een enkele toediening van deze virale vector in de bloedbaan van een muizen binnen een week leidde tot hoge hoeveelheden factor-VIII-eiwit in de ontvanger-muizen. Dit eiwit werd net zoals in de natuurlijke situatie hoofdzakelijk in de lever geproduceerd. Uiteraard wilden we deze benadering ook direct gaan testen in onze proefdieren met hemofilie.

Dergelijke experimenten moeten om begrijpelijke redenen zó worden uitgevoerd dat de factor-VIII-virussen niet kunnen ontsnappen naar het milieu. Dit ondanks het feit dat deze vectoren zich niet kunnen vermenigvuldigen buiten de speciale cellen waarin ze werden geproduceerd. Om dergelijke proeven uit te voeren is dan ook een proefdierlaboratorium nodig waarin de verspreiding van de factor-VIII-vector kan worden voorkomen. Zo'n laboratorium voor het uitvoeren van proeven op de hemofilie-honden was in Leiden noch in Nederland voorhanden, en het inrichten hiervan volgens de daarvoor geldende regelgeving zou ca. twee miljoen gulden hebben gekost. Ondanks enig stevig lobbywerk vanuit de in het onderzoek participerende afdelingen (de Heelkunde, de Hematologie en onze afdeling) is het ons niet gelukt de benodigde fondsen te verwerven. Uit vergelijkbare proeven die werden uitgevoerd door collega's in Amerika en Canada bleek dat na de overdracht van genen naar de honden de genen nu niet werden geïnactiveerd.

Is dat het enige probleem met de *adenovirus* vectoren? Nee, voor een permanente productie van de stollingsfactor is het ook noodzakelijk dat het overgedragen gen zich nestelt in het chromosoom van de gastheer cel. Dat kan een *adenovirus* helaas niet. Gelukkig is ook dit probleem oplosbaar.

Er blijkt een klein virus te zijn, luisterend naar de naam AAV, dat zich wel in het DNA van de gastheer weet te nestelen. Van dit virus zijn door Amerikaanse onderzoekers varianten gemaakt die het gen voor stollingsfactor IX kunnen overdragen. Ongeveer een jaar geleden werd gerapporteerd dat in twee van de eerste drie patiënten waarbij het factor-IX-gen in de spier werd gebracht, de stollingsfactor in het bloed aantoonbaar was na de behandeling¹. Ook lijkt de bloedingsneiging verminderd. Echter de hoeveelheid stollingsfactor zou eigenlijk nog tienmaal hoger moeten zijn voor een optimaal therapeutisch effect op de patiënt. Maar, meer virus inspuiten per injectieplaats is niet effectief, zo bleek uit dierexperimenten. Op meer plaatsen inspuiten is ook geen optie: er werden nu al 90 injecties gegeven! Gelukkig is toediening in de lever, in plaats van de spier, veel effectiever gebleken. Door toediening van de vector in de lever zijn in honden factor-IX-niveaus behaald worden die gelijk zijn aan die in een gezonde hond. Of de positieve resultaten die werden behaald in hon-

¹ Kay, M.A., *et al.*, (2000) Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nat Genet* 3: 257-261

den met hemofilie ook kunnen worden bereikt bij mensen, zal binnenkort moeten blijken. Vorige maand is hiervoor in Stanford een klinische trial gestart. Het zal duidelijk zijn dat onderzoekers, artsen en patiënten deze verrichtingen met grote interesse zullen volgen. Wij allen hopen dat hiermee hemofilie-patiënten met een eenmalige behandeling genezen kunnen worden!

Virussen als voorbeeld

Het zal U misschien opgevallen zijn dat er wel wat overeenkomsten zijn tussen virussen en genterapeuten. Beide proberen op een efficiënte manier hun favoriete genetisch materiaal over te dragen, en beide willen dit doen zonder dat het immuunsysteem wordt geactiveerd. Het lijkt dan ook logisch dat virussen vaak al oplossingen gevonden hebben voor problemen van genterapeuten.

Een voorbeeld hiervan wil ik U hier noemen. In samenwerking met Dr René Toes en Prof. Cees Melief zijn we een project gestart dat zich richt op het voorkomen van een immunologische afweerreactie tegen het nieuwe eiwit. Immers als er bij genterapie een nieuw eiwit wordt gemaakt, kan dit door het lichaam als vreemd worden herkend. Een afweerreactie is dan het gevolg. Uiteraard willen wij dit voorkomen. Onze strategie gebaseerd geweest op het identificeren van virussen die het probleem al voor ons hebben opgelost.

Het *Epstein-Barr virus* is een *herpesvirus* dat zich langdurig bij mensen kan handhaven, en o.a. de ziekte van Pfeiffer veroorzaakt. Om zich haast ongemerkt te handhaven hoeft dit virus maar één eiwit te produceren. Het virus wil uiteraard voorkomen dat het afweersysteem op dit eiwit reageert en de cellen doodt die dit eiwit maken. Het virus heeft daarom het eiwit aangepast. We hebben nu een ander eiwit dat normaal een sterke immuunreactie opwekt, het β -galactosidase, op een zelfde manier aangepast. Hierdoor wordt voorkomen dat β -galactosidase wordt afgebroken door zgn. proteasomen. Deze proteasomen zijn kleine kokertjes waarin normaal eiwitten in kleine stukjes worden geknipt. Die stukjes worden vervolgens als vlaggetjes buiten de cel aan afweercellen getoond. Wanneer er nu vreemde vlaggetjes buiten de cel hangen dan kan dit een signaal zijn aan het afweersysteem om deze cel te maar te doden.

Door de aanpassing is het β -galactosidase veranderd in een 'stealth' eiwit, dat grotendeels onzichtbaar is voor het cellulaire immuunsysteem. Wanneer we nu het gemarkeerde β -galactosidase-gen met een virus-vector in de cellen brengen wordt dit eiwit wel gemaakt maar, zoals we gehoopt hadden, niet meer door het immuunsysteem herkend. De cel met het normale β -galactosidase wordt herkend en gedood, maar die met het gemodificeerde eiwit wordt getolereerd! We kunnen hiermee dus onze genterapie-strategie verbeteren, door gebruik te maken van een mechanisme dat een virus gebruikt om aan het afweersysteem te ontsnappen. Het virus is in zekere zin de

leermeester van de genterapeut! Uit zulk onderzoek komen steeds nieuwe vectoren en nieuwe technieken voort die hun effectiviteit bewezen hebben in het laboratorium. Maar uiteindelijk willen wij natuurlijk dat de technieken worden aangewend in de kliniek, voor klinische genterapie.

Virussen, veiligheid en voorlichting

Dames en heren, ik heb reeds aangegeven dat genterapie in de kliniek nog steeds ‘veelbelovend’ is maar dat, op een enkel succes na, de weg naar het beloofde land langer en moeilijker is dan wij anticipeerden. Opmerkelijk genoeg lijkt haar effectiviteit ‘breed’ te worden geaccepteerd, zelfs voordat in goed opgezet klinisch onderzoek de werkzaamheid en de veiligheid is aangetoond. Velen zijn ervan overtuigd dat de genterapie uiteindelijk een belangrijke plaats zal gaan in nemen in de reguliere geneeskunde. Zij zijn hierin gesterkt door het aanstekelijk enthousiasme van de bij genterapie-onderzoek betrokken wetenschappers uit de academische wereld en de industrie. Zij zijn aangestoken door het optimisme over de resultaten van preklinisch onderzoek op het gebied van de genterapie, en ook van de ontwikkelingen op aanpalende gebieden zoals bij de genoomprojecten, en het schijnbaar gemak waarmee transgene dieren en gewassen worden gegenereerd. Daarnaast lijkt het onderliggende concept, het gericht aanbrengen van veranderingen in het DNA van de mens om op die manier een aandoening te corrigeren te simpel en te elegant om erg moeilijk te zijn. Hierdoor lijkt het hele genterapieveld omgeven geraakt door een wolk van kritiekloos optimisme, waarbij gemakshalve wordt ‘vergeten’ dat de technologie nog geenszins robuust genoeg is om de vele beloften waar te maken.

Het is voor ons als onderzoekers dan ook van groot belang dat we een realistisch beeld geven van de genterapie, van haar mogelijkheden, van haar verworvenheden maar ook van onmogelijkheden, en van de horden die nog genomen moeten worden. In een recente beleidsnotitie heeft de Minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport met nadruk gewezen op het belang van goede voorlichting en op de rol die de Nederlandse Vereniging voor Genterapie hierbij, volgens haar, moet spelen².

Het genterapieveld staat sterk in de publieke belangstelling, eigenlijk al vanaf de conceptie van de benadering. Helaas wordt het beeld soms gekleurd door incidenten.

De eerste maal al aan het eind van de jaren vijftig, toen twee patiënten met een aangeboren deficiëntie aan het enzym arginase, werden blootgesteld aan een konijnenvirus. Het ontbreken van dit enzym leidt tot een hoge concentratie van een stof, arginine, in het bloed en in het hersenvocht. Uiteindelijk geeft dit bij de patiënten aanleiding tot ernstige mentale retardatie.

² E.Borst-Eijlers. Brief over het stimuleren van translationeel onderzoek op het gebied van genterapie. Kamerstuk 2000-2001, 25973, nr. 3, Tweede Kamer

In een poging het arginine-niveau te verlagen werden deze kinderen blootgesteld aan het *Shope Papillomavirus*. Dit is een virus dat in wilde, maar niet in gefokte konijnen, wratten veroorzaakt. Het was onderzoekers opgevallen dat in de lever van geïnfecteerde konijnen een hogere arginase activiteit aanwezig was dan in ongeïnfecteerde dieren. Dit gegeven, plus de waarneming dat 35 procent van de onderzoekers die met dit virus gewerkt hadden een lager arginine niveau in hun serum vertoonden dan willekeurige ziekenhuispatiënten, gaf aanleiding tot het idee dat dit virus zelf een gen heeft dat codeert voor het enzym arginase. Dit was de basis voor de hypothese dat blootstelling van de patiënten aan dit virus zou kunnen leiden tot een verlaging van de arginine-niveaus en een mogelijk klinisch effect. Nu weten we dat het virus een cellulair arginase activeert, en dit gen was nu juist defect in de patiënten. De proef kon dus niet werken. Dit experiment werd te vroeg uitgevoerd en was onvoldoende onderbouwd.

Een tweede controverse ontstond aan het begin van de jaren 80 toen de Dr Martin Cline in Italië en Israël gentherapie-experimenten uitvoerde met thalassaëmiëpatiënten, waarvoor hij in de Verenigde Staten geen toestemming kon krijgen. De experimentele onderbouwing van de haalbaarheid van de te gebruiken procedure was hiervoor niet overtuigend. De discussie na dit incident heeft sterk bijgedragen aan het formaliseren van regelgeving en toezicht bij klinische experimenten.

Aan het begin van de jaren 90 kwamen de eerste serieuze klinische gentherapie-onderzoeken van de grond. Hoewel eerste trials de veiligheid van de benadering in patiënten konden bevestigen, bleek de effectiviteit in veel gevallen gering. Dit bracht de National Institutes of Health er in 1995 toe een zware commissie opdracht te geven na te gaan wat de status was van het gentherapie-onderzoek, en hoe op de meest efficiënte manier het vakgebied kon worden gestimuleerd. Orkin en Motulsky, de opstellers van het eindrapport van deze commissie, kwamen met de voor vele buitenstaanders onverwachte conclusie, dat de technologie niet voldoende was uitontwikkeld om gentherapie op grotere schaal klinisch te evalueren. De genoverdracht-vectoren waren niet efficiënt en niet veilig genoeg, er waren onvoldoende genoverdracht-systemen waarmee langdurige genexpressie kon worden gegarandeerd, en in een aantal gevallen was er onvoldoende bekend over de fysiologie en de pathofysiologie van een aandoening om klinisch gentherapie-onderzoek te kunnen rechtvaardigen. Kortom de gentherapeuten werden de kliniek uit, en het lab ingestuurd. Gentherapie-onderzoek was op dat moment het meest gediend met basaal onderzoek!

Dames en heren gentherapeuten, ik raad U aan het Orkin & Motulsky rapport weer eens te downloaden³ en te lezen. Veel van de aanbevelingen en conclusies in dit rapport zijn nog verrassend actueel.

³ Het rapport kan worden gevonden op <http://www4.od.nih.gov/oba/rac/panelrep.htm>

Recent stak een storm op na de dood in 1999 van Jesse Gelsinger. Jesse leed aan een ernstige aangeboren aandoening van het stikstof-metabolisme in de lever en participeerde in een studie naar de mogelijkheid deze ernstige ziekte te behandelen. Daartoe kreeg hij een hoge dosis *adenovirus* toegediend, waarin een intacte kopie van het OTC-gen. Jesse overleed 4 dagen na toediening van de vector aan Adult Respiratory Distress Syndrome, een ernstige longaandoening. Deze aandoening werd veroorzaakt door het toedienen van de genoverdracht-vector. De reactie was vermoedelijk een gevolg van een heftige reactie van Jesse's immuunsysteem op het *adenovirus* waarmee het gen werd binnengebracht. De dood van deze patiënt, alsmede de schendingen van protocollen en procedures in deze en andere trials die aan het licht kwamen, toen lopend gentherapie-onderzoek werd geëvalueerd, hebben in de Verenigde Staten, maar ook daarbuiten, voor veel commotie gezorgd.

Dames en heren, gentherapie heeft al diverse keren de voorpagina's gehaald, maar helaas niet altijd met positief nieuws. Als we met enige distantie proberen terug te kijken op de problemen, dan kunnen we constateren dat bij alle commotie nooit aan het gentherapie-concept is getwijfeld. Slechts de manier waarop het onderzoek werd uitgevoerd heeft aanleiding gegeven tot discussie. De stap naar de kliniek werd in een aantal gevallen te snel gemaakt.

De overheid ziet toe op de naleving van haar regels die zijn opgesteld voor het uitvoeren van klinisch biomedisch onderzoek. Naast de reguliere organen zijn er twee additionele instanties aan wie de onderzoeksprotocollen op het gebied van gentherapie dienen te worden voorgelegd.

Ten eerste aan het ministerie van VROM, dat vervolgens advies vraagt aan de Commissie Genetische Modificatie, kortweg de COGEM. Deze commissie beoordeelt de risico-inschatting die de onderzoekers geven over het gebruik van de recombinant-DNA-technologie voor de mens en milieu. Daarnaast toetst de Centrale Commissie Mens-gebonden Onderzoek (CCMO) de medisch-ethische en de wetenschappelijke onderbouwing van het protocol, één en ander met een nadruk op de belangen van de patiënt.

De te volgen procedures in verband met toetsing door bovengenoemde instanties vragen minimaal een half jaar, maar soms aanzienlijk langer. De hoge eisen die, overigens terecht, gesteld worden aan de kwaliteit van de te gebruiken virale genoverdracht-vectoren, en de onbekendheid van de onderzoekers met deze eisen, zijn hier debet aan. De overheid dient natuurlijk duidelijke maar ook reële eisen te stellen aan de protocollen en hierbij de verschillende verantwoordelijkheden goed af te bakenen. De wens tot een 'centraal loket' bij de overheid is door de gentherapie-onderzoekers meer dan eens geuit.

De onderzoekers, op hun beurt, dienen zich rekenschap te geven dat de toetsende instanties nog geen kant-en-klare procedures heeft klaarliggen om de veiligheid van de nieuwste vectoren te testen. Onderzoekers zullen zich dan ook moeten inspannen om deze waar nodig in overleg met de regulerende instanties te ontwikkelen. Het verheugt me te constateren dat VROM, COGEM, en CCMO ons als onderzoekers nadrukkelijk uitnodigen hierover in overleg te treden.

Tot nu toe is het voor onderzoekers vaak moeilijk, tijdrovend, frustrerend en onverwacht duur gebleken om van laboratorium-onderzoek de stap naar klinisch onderzoek te maken. Het is dan ook een grote stimulans voor het gentherapie-georiënteerde onderzoek dat de Minister van VWS in haar eerder genoemde beleidsnotitie heeft aangekondigd een stimuleringsprogramma voor translationeel gentherapieonderzoek te zullen opzetten.

Dames en heren, Ik hoop dat ik U iets heb kunnen overbrengen van mijn fascinatie voor virussen en de mogelijkheden die zij bieden voor het ontwikkelen van gentherapie. Nu al zijn de virusvectoren de 'Volkswagens' van de gentherapeut geworden. Toch wil ik U waarschuwen voor te veel optimisme. Blijft U zich realiseren dat er nog veel inzicht nodig is! Blijft U zich realiseren dat de werkelijke doorbraken gefundeerd zullen zijn op de resultaten van basaal wetenschappelijk onderzoek.

Ik zou ter afsluiting en samenvatting van mijn betoog nog een aantal punten van aandacht voor de toekomst willen noemen:

Ik hoop duidelijk gemaakt te hebben dat gentherapie zich uitstekend leent voor het doorlopen van het gehele traject van 'Bench' research in het lab, tot en met 'Bedside' research in de kliniek. In Leiden is aan veel voorwaarden voldaan om dat traject voor specifieke toepassingen in zijn geheel te doorlopen. Ik denk dan bijvoorbeeld aan toepassing bij aandoeningen in en aan de vaatwand, binnen de Oncologie en Hematologie, en ook binnen de Reumatologie en Orthopedie. Ik denk dat, meer dan nu gebeurt, allianties van preklinisch en klinisch onderzoekers gesmeed moeten worden met de ambitie de mogelijkheden die gentherapie biedt te exploreren.

Hierbij lijkt het me wenselijk hierbij meer gebruik te maken van de expertise die is opgebouwd bij jonge klinische onderzoekers. Maar al te vaak zien we dat ambitieuze jonge gepromoveerde klinici, die 'gepikt en gemazeld' zijn door research op het raakvlak van prekliniek en kliniek, tijdens hun specialisatie geen kans zien betrokken te blijven bij het onderzoek en voor langere tijd achter de horizon verdwijnen. Dat is jammer voor de betrokkenen, jammer voor het onderzoek en mijn inziens jammer voor Universiteit en Ziekenhuis als kennis- en innovatiecentrum.

Dankwoord

Aan het einde gekomen van deze rede wil ik graag enige woorden van dank uitspreken.

Ik ben het College van Bestuur van de Universiteit Leiden en de Raad van Bestuur van het Leids Universitair Medisch Centrum dankbaar dat ze met mijn benoeming hebben uiting hebben willen gegeven aan de visie dat basaal onderzoek aan genoverdracht essentieel is, niet alleen voor de ontwikkeling van effectieve gentherapie-procedures, maar ook voor ander medisch-genetisch onderzoek, tegenwoordig ‘genomics’ genoemd. Ik zal mij hiervoor naar vermogen inzetten.

Hooggeleerde Van der Eb, Beste Lex,

Je bent voor een groot deel bepalend geweest voor mijn wetenschappelijke vorming. Ik heb in jouw lab diverse vruchten mogen plukken van je wetenschappelijke inspanningen op het gebied van de adenovirussen. Ik waardeer dat en deel je fascinaties voor de natuur, waarbij de virussen de ‘probe’ zijn voor het bestuderen van de microscopische natuur en vogels voor de macroscopische natuur.

Hooggeleerde Briët, Beste Ernest,

Je zag al vroeg het belang in van voorlichting door gentherapie-onderzoekers. Tijdens mijn promotieonderzoek en daarna heb je actief aangemoedigd dat ik mijn onderzoek ben gaan uitleggen aan de doelgroep. Ik waardeer zowel die visie als de contacten die toen zijn ontstaan met bijvoorbeeld de NVHP. Deze hebben mij zeker gestimuleerd.

Zeer geleerde Van Ormondt, Beste Hans,

Dank voor alle hulp op vele terreinen. Je niet aflatende inzet bij het genereren en verkopen van onze wetenschappelijke output is een grote steun geweest.

Waarde A.I.O.-s, analisten, post-docs, en studenten, werkzaam in het MolVir lab,

Jullie kozen ervoor onderzoek te verrichten in een groep die nu onder mijn leiding staat. Jullie produceren de kennis en de instrumenten waarom het eigenlijk allemaal draait. Als ik in mijn presentaties spreek over ‘Wij’ bedoel ik jullie. Het zijn jullie veren waarmee ik mag pronken om in de vogeltermen te blijven. Mijn dank gaat hierbij ook speciaal uit naar Diana van den Wollenberg, Steve Cramer en Martijn Rabelink voor de efficiënte manier waarop zij bijdragen aan wat is gaan heten de Virale Vector Faciliteit. Dank voor de plezierige manier waarop de samenwerking verloopt.

Waarde collega's binnen ziekenhuizen, universiteiten en industrie,

Mijn groep heeft vele wetenschappelijke contacten met groepen binnen ziekenhuizen, universiteiten en industrie. Ik waardeer deze samenwerkingen zeer en ervaar hen als zeer stimulerend en noodzakelijk om een bres slaan in de vaak multidisciplinaire problemen waar we voor staan. Ik hoop dat we de samenwerking in de toekomst kunnen continueren en waar mogelijk uitbreiden!

Waarde Ouders,

Dank voor de continue steun bij het volgen van mijn interesses. Het is toch nog redelijk goed gekomen na het doubleren in de brugklas met twee onvoldoendes, voor Engels en voor Biologie.

Lieve Annemarie,

Samen hebben we het levende bewijs geleverd dat ook niet-virale genoverdracht tot prachtige resultaten kan leiden. Mijn dank voor je steun, bijstand en tolerantie, zal ik later laten blijken.

Wouter en Jeroen,

Virussen zijn diertjes nog kleiner dan miertjes. Die diertjes zijn stout maar soms een heel klein beetje lief. Papa wil ze kunstjes leren, maar dat is best wel erg moeilijk. Daarom ben ik soms laat thuis.....

Mijnheer de Rector Magnificus, Dames en heren,

Ik heb gezegd.