

“Dat zit hem in het bloed”

Oratie prof.dr. Jan Jacob Schuringa

27 juni 2017



Leden van het College van Bestuur van de Rijksuniversiteit Groningen, Leden van de Raad van Bestuur van het UMCG, Mijnheer de Rector Magnificus, vrienden, familie, collega's, my dear labmembers of Experimental Hematology, welkom bij mijn oratie getiteld: "Het zit hem in het bloed." Of zoals mijn dochters Sofie en Marieke zouden zeggen: mijn spreekbeurt gaat vandaag over bloed. Om daar meteen aan de keukentafel dan maar aan toe te voegen.....toch niet alweer?? Tsongjejonge, saai hoor, jouw spreekbeurten gaan ook altijd over bloed..... Maar beste mensen, het doen van onderzoek naar ons bloed is verre van saai, ons bloed is een bijzonder fascinerend onderdeel van ons lichaam. De wetenschap is in feite een grote ontdekkingsreis, met daarin de wetenschapper als ontdekker. Ik neem u vandaag graag mee op mijn ontdekkingsreis. Mijn doel vandaag is dan ook om u te schetsen waar we momenteel staan in mijn onderzoeksveld de experimentele hematologie, waar ik denk dat onze uitdagingen in de nabije toekomst liggen, maar vooral ook om u een kijkje te geven in wat ik zo fascinerend vind aan wetenschap, en de schoonheid die daar in schuilt.

Maar voordat ik aan die schoonheid van wetenschap toekom eerst even dit. Hoewel de kranten en media ons soms willen doen geloven dat wetenschappers met enige regelmaat maar wat bijelkaar verzinnen en dienen gewantouwd te worden, denk ik juist dat de kracht van wetenschap is dat we continu voortbouwen op elkaars kennis. Zeker, uiteraard ben ik bereid om toe te geven dat er in de wetenschappelijke wereld heus wel wat louche figuren rondlopen, Joris Luyendijk zou waarschijnlijk zeggen: "wetenschappers....het zijn net mensen". Maar beste mensen, veel van de kennis die gegenereerd wordt aan universiteiten is waar! Het klopt! Ik schets u kort de gang van zaken: zodra we iets in het lab ontdekken schrijven we daar een artikel over, en dat artikel wordt ter publicatie aangeboden aan een wetenschappelijk vakblad. De editor van dat vakblad stuurt het vervolgens uit naar zogenaamde peer reviewers – collega wetenschappers uit het veld – die er hun oordeel over vellen en eventueel met verbeterpunten komen. Dit oordeel wordt vervolgens terug gestuurd naar de wetenschappers, en vaak betekent dit dat er nog wel wat werk aan de winkel is en er een aantal aanvullende experimenten gedaan moeten worden om werkelijk vast te stellen dat datgene wat beweerd wordt in het artikel, ook daadwerkelijk klopt. Het herziene artikel wordt opnieuw aangeboden ter publicatie aan het vakblad, opnieuw doorgestuurd naar dezelfde reviewers en als we allemaal ons werk goed gedaan hebben wordt het artikel gepubliceerd.

Maar dit artikel is niet het eindpunt van kennis, het is slechts het begin. Via dit fantastische netwerk van vakbladen waarin bevindingen gepubliceerd worden kan binnen de kortste keren – mede door de enorme kracht van het internet natuurlijk - een ontdekking gedeeld worden met de hele wereld, inclusief het recept om het zelf thuis ook eens te proberen. Door voort te borduren op vindingen van anderen komt vaak vanzelf wel bovendien als er iets niet klopt, en ook dit kan dan meteen weer gedeeld worden met de rest van de wetenschappelijke gemeenschap, ofwel via publicaties ofwel via meetings waar wetenschappers van over de hele wereld elkaar met grote regelmaat treffen.

Klopt alles dan wat gepubliceerd wordt, en moeten we alles dan maar klakkeloos voor waar aannemen? Niet, zeker niet, zoals gezegd, een artikel is niet alleen maar een eindpunt, en ik denk dat betrouwbaarheid van kennis, zeker in eerste instantie, geen absoluut gegeven is, maar dat het groeit met de tijd, groeit naarmate de bewijsvoering door meerdere onafhankelijke wetenschappers geleverd wordt. Ik vind het jammer dat dit aspect onderbelicht blijft bij recente pogingen om gepubliceerde data te reproduceren, bijvoorbeeld door het "Reproducibility project" waarbinnen 5 manuscripten binnen het oncologieveld onder de loep zijn genomen.

Begrijp me niet verkeerd, wetenschappers moeten misschien nog meer doen om transparant te zijn in hun aanpak en analyse van data, om dit soort misstanden zo veel mogelijk te voorkomen. En ik juich het ook zeer toe dat gepoogd wordt data te reproduceren. Zoals eerder gezegd, het reproduceren van data van anderen om er vervolgens op voort te kunnen bouwen is de essentie van wetenschap, maar gebeurt in feite ook continu in ons veld. In nagenoeg al onze

experimenten leunen we op kennis van voorgangers, en zaken die niet blijken te kloppen sterven vanzelf een stille dood omdat we daar dan niet op voortbouwen, inzichten die kloppen doorstaan de tand des tijds en worden ons gemeengoed. Ik noem u een paar ontdekkingen die een enorme impact gehad hebben of ongetwijfeld binnenkort zullen krijgen binnen onze gezondheidszorg - en dit is even voor de insiders - het editen van DNA met behulp van CrispR-Cas, het reprogrammeren van cellen tot induced pluripotency stamcellen, het transplanteren van bloedvormende stamcellen om zo een compleet nieuw hematopoietisch systeem te genereren – en ik kan zo echt nog wel een hele tijd doorgaan. Allemaal ontdekkingen die kloppen als een bus.

Feiten, en dus geen flauwekul als alternatieve feiten. Diegene die met zogenaamde alternatieve feiten op de proppen komt zonder daar fatsoenlijke argumentatie bij te leveren dient ten zeerste gewantwoord te worden, en verdient simpelweg geen plek aan de discussietafel.

Natuurlijk, in sommige disciplines is het wellicht lastiger dan andere om data te reproduceren, bijvoorbeeld bij het testen van medicijnen of bij het bestuderen van menselijk gedrag, waarbij testgroepen vaak groot moeten zijn en bij elk nieuw experiment toch weer van elkaar verschillen, of bij het bouwen van modellen die economische veranderingen moeten voorspellen. Retraction watch, een blog van Ivan Oransky dat het aantal teruggetrokken manuscripten in kaart brengt meldt dat in de afgelopen jaren zo'n 800 artikelen zijn teruggetrokken, op een totaal van meer dan 2 miljoen per jaar, dus komt neer op minder dan 1 teruggetrokken artikel per 1000, in veel instanties ook echt aan het licht gebracht doordat collega wetenschappers moeite hadden data te reproduceren waardoor onjuistheden aan het licht kwamen. Om dat allemaal maar simpelweg af te doen met stigmatiserende titels als: "de wetenschap is niet zelfzuiverend", ik las dat een paar weken terug weer als kop in het NRC boven een interview met Ivan Oransky, vind ik toch ietwat ongenueanceerd. Of laat ik het zo zeggen, zo sta ik niet in mijn vak, en het is ook niet het beeld van de wetenschap dat ik aan mijn studenten zou willen meegeven.

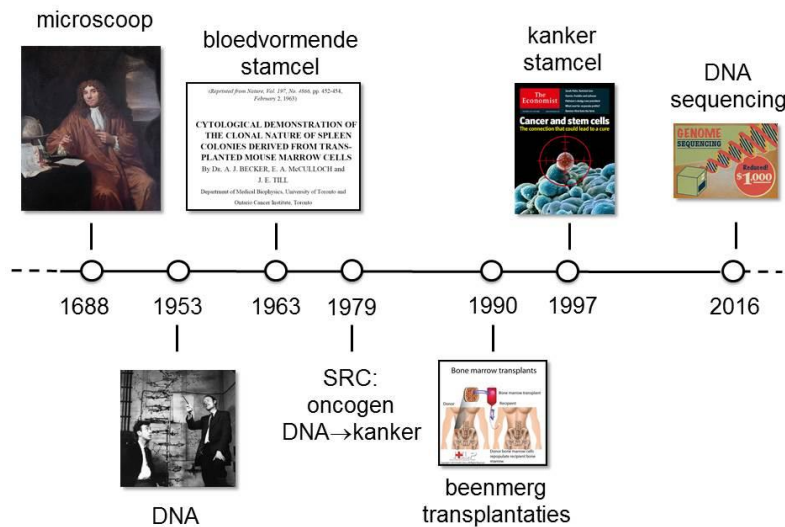
Robert Dijkgraaf heeft eens gezegd: een wetenschappelijk probleem is als een rolletje plakband. Het beginnetje vinden is lastig, maar als je dat een keer hebt gaat de rest vanzelf. Een waarheid als een koe. Maar dat heeft natuurlijk alles te maken met het feit dat we continue kunnen voortbouwen op kennis van onze voorgangers.

En dat maakt de universiteit zo'n bijzondere plek om te werken. Een plek waar kennis gegenereerd wordt, waar kennis bewaard wordt, waar kennis doorgegeven wordt aan nieuwe generaties studenten, die op hun beurt ook weer geleerd wordt om nieuwe kennis te genereren. Als we tenminste onze AIOs fatsoenlijk de tijd geven om dingen te ontdekken natuurlijk.....Dat is wat mij betreft waar het bij ons om draait. Universiteiten zijn prachtige instituten. Daar staan we misschien niet elke dag bij stil.

Ik pleit er dan ook voor de we onze studenten en AIOs opleiden met vooral dit beeld in het achterhoofd. Je hoort soms dat, omdat 9 van de 10 AIOs uiteindelijk toch een carrière buiten de universiteit krijgt – iets wat ik overigens bijzonder jammer vind maar dat is weer een heel andere kwestie – dat we dus de AIOs daar ook maar op moeten voorbereiden op een carrière buiten de wetenschap. Volgens mij lopen we daarmee het risico ons op een hellend vlak te begeven, zeker als daar navenant veel tijd aan besteed zou moeten worden in een periode waarin de hoeveelheid tijd die een AIO krijgt voor zijn promotietraject ook steeds verder onder druk komt te staan. Ik zou zeggen: schoenmaker, blijf bij je leest. Volgens mij moeten we studenten en AIOs opleiden tot academische denkers en ontdekkers, en is dat juist waar ze ook buiten de universiteit hun voordeel mee kunnen doen.

Maar beste mensen, ik dwaal af, de wetenschapper dus als ontdekker, dat zit mij zeker in het bloed, en ik denk bij velen van ons hier vandaag, misschien eigenlijk wel een beetje in ons allemaal.

Veel ontdekkingen doorstaan dus de tand des tijds, en voordat ik stilsta bij het heden en de toekomst, neem ik u eerst graag heel kort mee op een reis langs een aantal ontdekkingen van onze voorgangers die essentieel zijn geweest voor mijn vakgebied de Experimentele Hematologie, en ons gebracht hebben tot waar we nu zijn (Fig. 1).



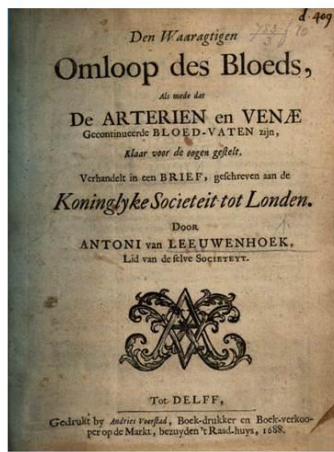
Figuur 1.

Onze reis begint in de 2^e helft van de 17^e eeuw, Antoni van Leeuwenhoek werkt dan in Delft als handelaar in linnen, garen en stoffen. Hij is autodidact, iemand met een bijzonder brede interesse, en is tevens landmeter, glasblazer en microbioloog. Om de kwaliteit van stoffen vast te kunnen stellen maakte hij gebruik van een zogenaamde “dradenteller”, een vergrootglas waarmee hij tot 3x kon inzoomen. “Dat kan beter”, moet hij gedacht hebben en aangezien hij toch glasblazer was had hij binnen de kortste keren een set lenzen geslepen en daarmee een microscoop inelkaar gezet waarmee hij 480 keer kon inzoomen. Met het blote oog kunnen we nog objecten zien van ongeveer 1/10 millimeter, maar nu kon hij tot op micrometer niveau kijken, en aangezien cellen zo’n 10-20 micrometer in grootte zijn ging er een wereld voor hem (en dus ook voor ons) open. Een van de beestjes die onder zijn microscoop belandden waren kikkervisjes, en hij was de eerste die de bloedsomloop ontdekte (Fig. 2).

Hij beschrijft dit in een artikel getiteld: *Den waaragtigen omloop des bloeds*. Uit dit werk blijkt ook zijn enorme enthousiasme voor de natuur. Ik citeer:

“Als ik quam tot het examineren van de staart van dese kleine Worm, soo overtrof dat vermakelyk gesigt alle de beschouwingen, die myn oogen van haar leven hadden gesien; want hier ontdekten ik meer dan vijftig ommelopen van bloet, op bysondere plaatsen, als ik het dierken maar tot myn genoegen in 't water levende, en stil leggende, voor het vergroot-glas konde brengen.”

Het is spijtig dat we zulk enthousiasme eigenlijk niet meer kwijt kunnen in onze artikelen die we tegenwoordig publiceren.



“Als ik quam tot het examineren van de staart van dese kleine Worm, soo overtrof dat vermakelyk gesigt alle de beschouwingen, die myn oogen van haar leven hadden gesien; want hier ontdekten ik meer dan vijftig ommelopen van bloet, op bysondere plaatsen, als ik het dierken maar tot myn genoegen in 't water levende, en stil leggende, voor het vergroot-glas konde brengen.”

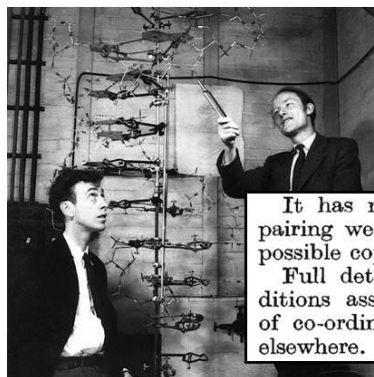
Figuur 2

Interessant weetje: Men meende in die tijd ook al precies te weten waar dat bloed voor diende....daarin huisde namelijk de ziel, was de gedachte. Het leek in eerste instantie dus ook een uitstekend idee om geesteszieke patiënten te voorzien van nieuw bloed en de eerste experimenten met bloedtransfusie of transplantaties stammen dan ook uit die tijd, met uiteraard desastreuze gevolgen want men had nog geen idee over het bestaan van iets als een immuunsysteem, en deze patiënten stierven dan ook binnen een paar dagen een vreselijke dood. Pas in de loop 20ste eeuw hebben we bloedtransfusies door de belangrijke ontdekking van bloedgroepen door Karl Landsteiner en later beenbergtransplantaties door Edward Donall Thomas, onder de knie gekregen.

Dan maken we een grote stap in de tijd en komen we aan in 1953 wanneer Watson en Crick de structuur van DNA, ons erfelijk materiaal ontrafelen. Zij doen die ontdekking samen met Maurice Wilkins, en zonder hun voorganger Rosalind Franklin die met behulp van crystallografie ook al bewijs had gevonden voor het bestaan van de dubbele helix hadden zij hun ontdekking waarschijnlijk niet (of in ieder geval toen nog niet) gedaan. Weer een voorbeeld van voortborduren op kennis van voorgangers. Een fenomenale ontdekking, want sindsdien begrijpen we hoe de bouwstenen van ons leven eruitzien.

Het was eigenlijk een bijzonder kort artikel, ik laat het u hier zien, 1 bladzijde (Fig.3). En hoewel daar in dit artikel niet op in werd gegaan, werd op basis van de ontdekking van de structuur van DNA ook duidelijk hoe dat DNA dan gekopieerd kon worden zodat na celdeling de nieuw gevormde cel ook weer een kopie van dat DNA mee kon krijgen. Zoals Watson en Crick het met het nodige Engelse gevoel voor understatement verwoordden aan het eind van hun artikel: “It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanisms for the genetic material.” Daarmee begrepen in 1 klap ze ook meteen hoe erfelijkheid werkt: hoe je eigenschappen van je ouders meekrijgt door het kopiëren van DNA.

Nog iets opvallends: naast een met pen getekend plaatje vonden de heren het destijds niet nodig om ons met werkelijke data te vermoeien, en zo'n beetje de laatste zin van het artikel is dan ook: “Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere”. Komen we tegenwoordig niet meer mee weg.....



no. 4255 April 25, 1953 NATURE 737

equipment, and to Dr. G. E. R. Dutton and the experts and officers of R.R.C. Laboratory 27 for their part in making the observations.

Watson, F. C., Crick, F. H. C. and Wilkins, M. H. F., *Nature*, 1953, 177, 278-281.

Watson, F. C., Crick, F. H. C. and Wilkins, M. H. F., *Nature*, 1953, 177, 278-281.

Watson, F. C., Crick, F. H. C. and Wilkins, M. H. F., *Nature*, 1953, 177, 278-281.

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (DNA). This structure has several features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey.¹ They kindly made their model available to us for study.

The model consists of a central phosphate group, a deoxyribose sugar, and a nitrogenous base. The phosphate group is linked to the deoxyribose sugar by a phosphodiester linkage. The deoxyribose sugar is linked to the nitrogenous base by a glycosidic linkage. The nitrogenous base is linked to the phosphate group by a hydrogen bond.

The structure is a double helix. The two strands are twisted around each other. The distance between two adjacent phosphate groups is 3.4 Å. The distance between two adjacent deoxyribose sugars is 3.4 Å. The distance between two adjacent nitrogenous bases is 3.4 Å.

The structure is a right-handed helix. The pitch of the helix is 34 Å. The diameter of the helix is 20 Å.

The structure is a model for the structure of DNA. It is a model for the structure of the genetic material.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material. Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

The structure is a model for the structure of DNA. It is a model for the structure of the genetic material.

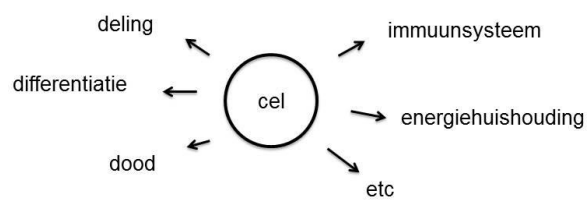
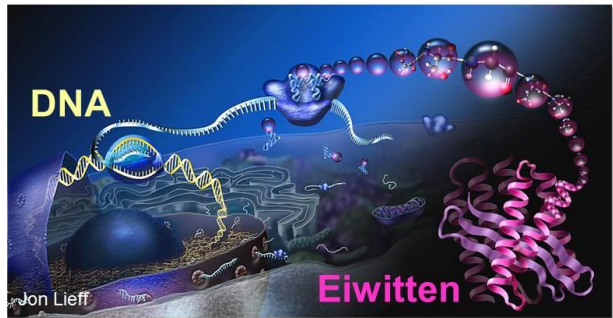
The structure is a right-handed helix. The pitch of the helix is 34 Å. The diameter of the helix is 20 Å.

The structure is a model for the structure of DNA. It is a model for the structure of the genetic material.

Figuur 3

Ons DNA bevat informatie voor zo'n 22.000 bouwstenen, genen genaamd, en het product van deze genen, eiwitten genaamd, zijn in feite de moleculen die de belangrijke processen binnen een cel zoals celdeling, celdood en differentiatie aansturen, maar ook processen zoals de energiehuishouding van cellen en immuunfuncties (ons afweersysteem) worden in grote mate bepaald door genen gecodeerde eiwitten.

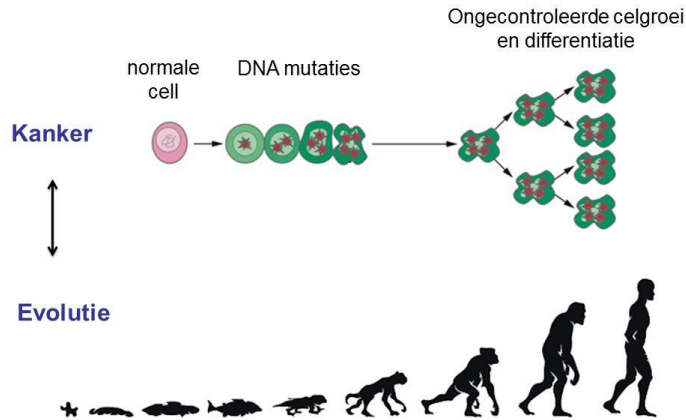
Na de ontdekking van DNA en erfelijkheid was het eigenlijk nog maar een kleine stap naar de ontdekking hoe kanker veroorzaakt wordt. Dat ontstaat namelijk door mutaties in ons DNA. Dit weten we sinds eind jaren 80 wanneer Michael Bishop en Harold Varmus het SRC oncogen ontdekten, nog maar zo'n 40 jaar geleden.



Figuur 4

Mutaties in ons DNA leiden tot mutaties in eiwitten, en vervolgens tot veranderingen in belangrijke cellulaire processen zoals eerder weergegeven. Mutaties kunnen ontstaan door blootstelling van ons DNA aan chemicaliën, radioactiviteit, UV straling, maar ook door toeval, domme pech. Bij het kopiëren van ons DNA bij elke celdeling ontstaan er altijd een aantal fouten, hoe ingenieus het kopieerproces ook is, het is niet foutloos.

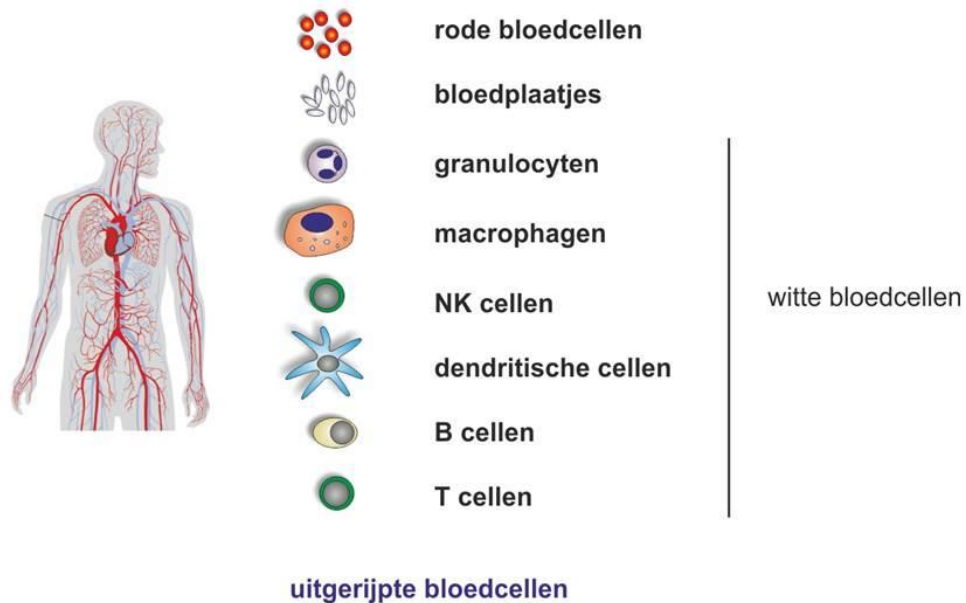
Gelukkig hebben veel van deze veranderingen in ons DNA geen desastreuze gevolgen, maar soms wel, en kan kanker ontstaan. De keerzijde is dat evolutie gedreven wordt door veranderingen in ons DNA. Wil je sneller kunnen lopen dan je buurman kun je er dus maar beter voor zorgen dat je je DNA aanpast.



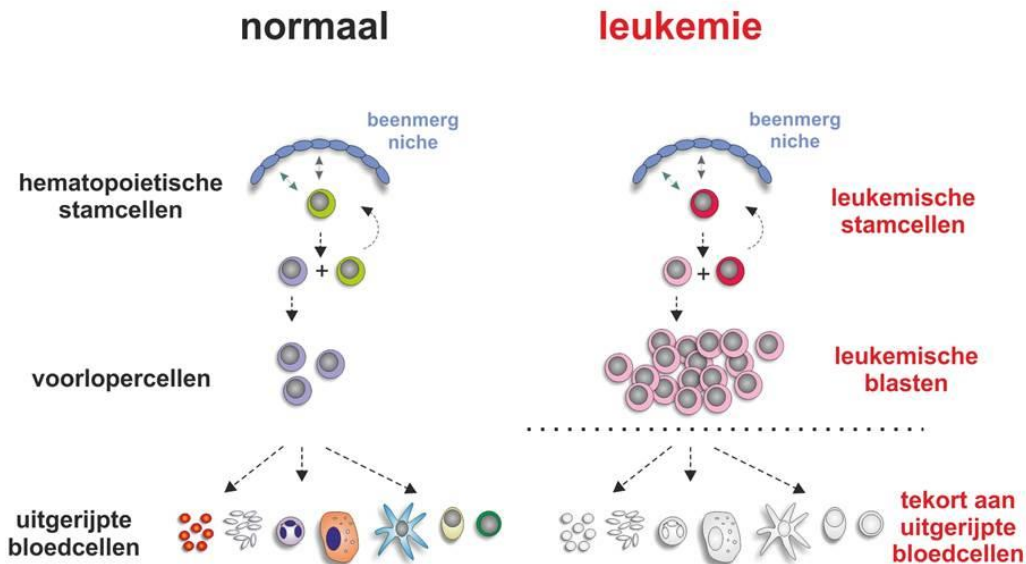
Figuur 5

We gaan nog even 1 stapje terug in de tijd en gaan naar 1963, toen voor het eerst de bloedvormende stamcel is ontdekt, door Becker, McCulloch en Till.

Zoals u hier ziet bestaat ons bloed uit verschillende celtypen: rode bloedcellen die zorgen voor ons zuurstoftransport, bloedplaatjes die zorgen voor de stolling, en dan de witte bloedcellen die ons immuunsysteem vormen, weer onder te verdelen in myeloïde en lymfoïde cellen (Fig.6). De meeste cellen van ons bloed hebben maar een beperkte levensduur, rode bloedcellen zo'n 3 maanden maar bijvoorbeeld granulocyten maar slechts een halve dag, en daarom moeten deze cellen continu opnieuw aangemaakt worden.



Figuur 6



Figuur 7

Dat gebeurt niet in ons bloed, maar aan de binnenkant van onze botten: het beenmerg. Daar bevinden zich de bloedvormende, oftewel hematopoietische stamcellen. Deze stamcellen kennen een ingenieuze truc, een proces wat we self-renewal noemen (Fig.7).

Wanneer een stamcel deelt, ontstaan er twee cellen. Een daarvan is een identieke kopie van de moedercel, en wordt een nieuwe stamcel. De andere cel noemen we een voorloper cel die stap voor stap kan differentiëren in een van de volledig uitgerijpte cellen die u hier ziet. Zo ontstaat dus een soort hiërarchisch systeem, met aan het hoofd de hematopoietische stamcel, en alleen deze stamcellen zijn in staat om een nieuw bloedsysteem te vormen. Hoewel deze slide er wellicht wat statisch uitziet is dat een misvatting, het is een drukke toestand in ons beenmerg, waarbij in elk van ons zoals we hier vandaag zitten, per seconde, meer dan zo'n 300.000 cellen per seconde aangemaakt worden...allemaal afkomstig van deze stamcellen. Gek genoeg delen die stamcellen zelf juist heel erg weinig, misschien maar zo'n 1 keer per maand. Een keer per maand onderdaan ze dus zo'n self-renewal deling waarbij 1 nieuwe stamcel gegenereerd wordt, en een voorloper cel, en het is die voorloper cel die een enorme celdelingscapaciteit heeft en er uiteindelijk voor zorgt dat het juiste aantal uitgerijpte bloedcellen continu aangemaakt wordt. Dit verschil in celdelingscapaciteit: langzaam delende stamcellen en snel delende voorlopercellen is ook van belang om leukemie beter te begrijpen, ik kom hier zo op terug.

Trouwens, van die stamcellen hebben we helemaal niet zoveel, waarschijnlijk maximaal zo'n 20.000 per persoon, waarvan er in een jong-volwassene zo'n 1000 bijdragen aan de ontwikkeling van bloed, de rest lijkt een soort reservecapaciteit te zijn. Naarmate we ouder worden neemt dit aantal ook steeds verder af.

Misschien kent u deze mevrouw uit de krant, Hendrikje van Andel-Schipper (Fig.8), en op 115-jarige leeftijd werd na har overlijden haar bloed in detail onderzocht, en bleek dat twee-derde haar bloed gevormd door nog maar 2 stamcellen. Daarmee was dat aan de ene kant een enorm kwetsbaar systeem geworden, maar het geeft aan de andere kant ook aan hoe krachtig 1 enkele stamcel kan zijn. Daarvan wordt alleen al in dit ziekenhuis meer dan 100x per jaar gebruik gemaakt bij het uitvoeren van beenmergtransplantaties, en bij ons in het lab beginnen de meeste experimenten met deze cellen.

Een hiërarchisch georganiseerd systeem met aan het hoofd de hematopoietische stamcel, dat is de ontdekking van Becker, McCulloch en Till in 1963.



Research

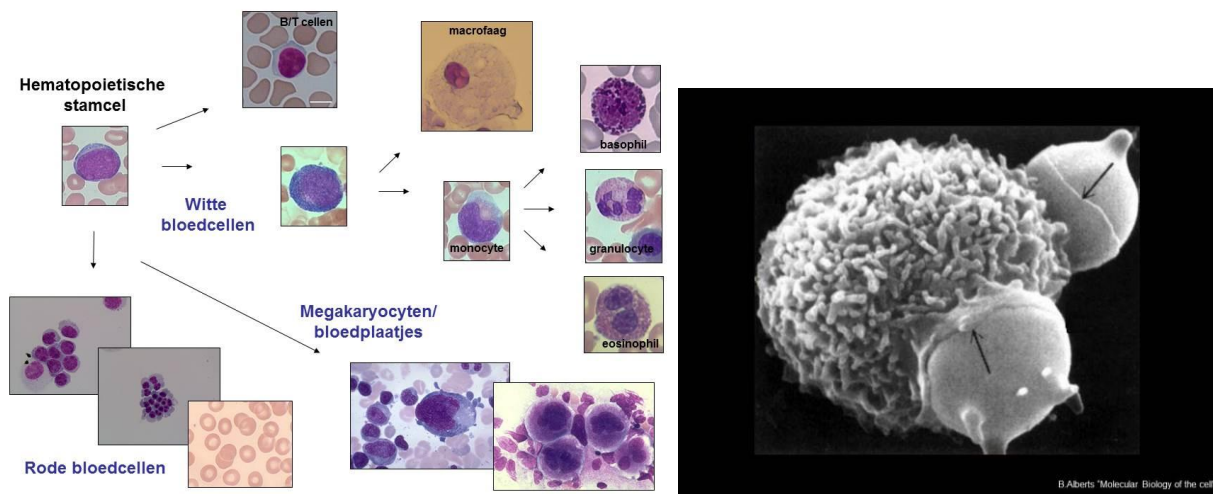
Somatic mutations found in the healthy blood compartment of a 115-yr-old woman demonstrate oligoclonal hematopoiesis

Henne Holstege,^{1,10} Wayne Pfeiffer,² Daoud Sie,³ Marc Hulsman,⁴ Thomas J. Nicholas,⁵ Clarence C. Lee,⁶ Tristen Ross,⁶ Jue Lin,⁷ Mark A. Miller,² Bauke Ylstra,³ Hanne Meijers-Heijboer,¹ Martijn H. Brugman,⁸ Frank J.T. Staal,⁸ Gert Holstege,⁹ Marcel J.T. Reinders,⁴ Timothy T. Harkins,⁹ Samuel Levy,⁵ and Erik A. Sijm¹

Figuur 8.

Holstege et al Genome Res 2014

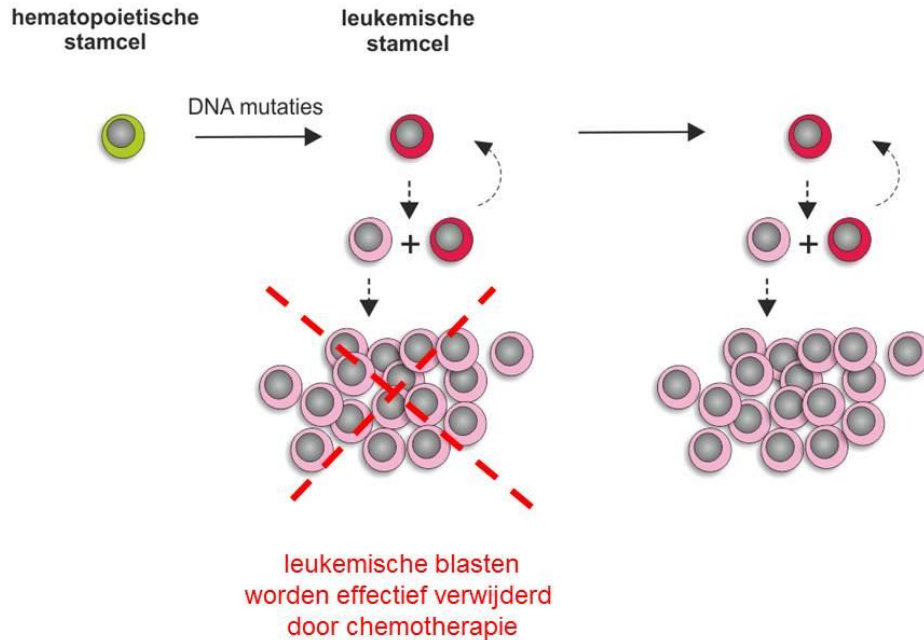
Ik vraag me af of Antoni van Leeuwenhoek had geloofd dat zijn uitvinding van de microscoop meer dan driehonderd jaar later nog dagelijks gebruikt zou worden, maar zo is het wel, ook bij ons in het lab. Hier kijken we naar de verschillende celtypen met een vergroting van zo'n 600x, niet heel anders als Antoni ze had kunnen zien (Fig.9). Linksboven ziet u hoe zo'n hematopoietische stamcel eruit ziet, aan de onderkant hoe rode bloedcellen eruitzien, en aan de rechterkant ziet u verschillende celtypen die ons immuunsysteem vormen. Niet dat er geen ontwikkeling in de microscopie geweest is uiteraard, hier ziet u ons aangeboren immuunsysteem aan het werk, een macrofaag is bezig om twee indringers op te eten en zo onschadelijk te maken, een proces wat we fagocytose noemen, in beeld gebracht met electronen microscopie.



Figuur 9

Terug naar ons schema (Fig. 7). Soms gaat er in de uitrijping wat mis, en kan leukemie ontstaan. Leukemie kenmerkt zich door een tekort aan volledig uitgerijpte en functionele bloedcellen, terwijl er een ophoping van immature cellen in het beenmerg ontstaat, die we leukemische blasten noemen. Deze cellen zijn niet functioneel, en kunnen geen zuurstof vervoeren of immuun functies vervullen. Leukemie is een verzamelnaam van een grote groep verschillende bloedkankers, die we kunnen onderverdelen in lymfoïde of myeloïde subtypen, afhankelijk van waar het in de differentiatie misgaat.

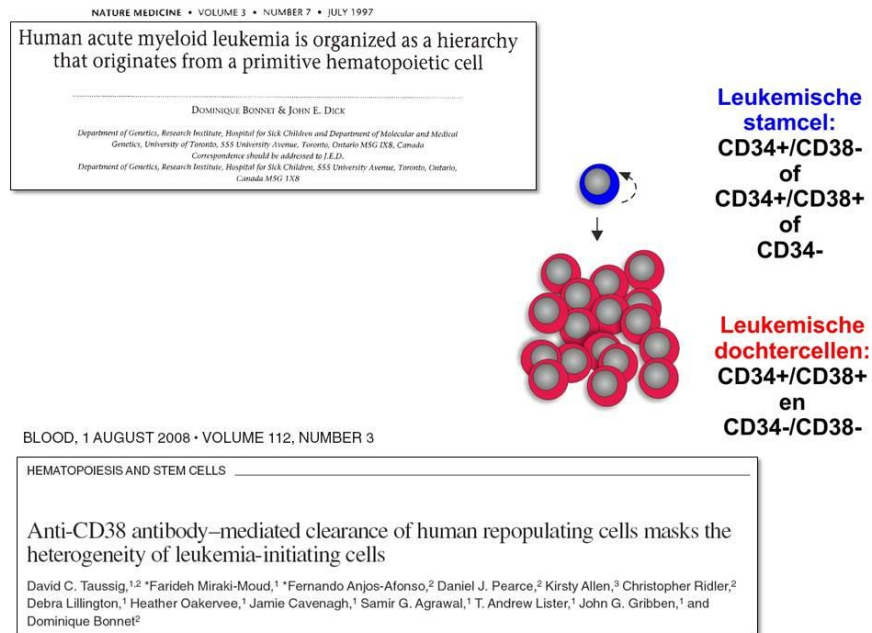
Leukemie is een ziekte die moeilijk te behandelen is. Patiënten worden veelal behandeld met chemotherapie, soms in combinatie met een beenmergtransplantatie, en hoewel voor sommige subtypen leukemie deze behandeling werkt, zijn er ook nog veel subtypen waarbij dat op de lange termijn niet zo is en de ziekte na behandeling vaak weer terugkomt, vaak in een nog agressievere vorm dan eerst. Dat heeft alles te maken met het feit dat niet alle cellen binnen een leukemische tumor gelijk zijn, iets wat wel lange tijd gedacht is. Er is sprake van een verschil in gevoeligheid voor de behandeling, de meeste cellen zijn erg gevoelig, terwijl een klein aantal cellen in de patiënt achterblijft die aan de behandeling ontsnapt is. Hier ziet u dat nog eens schematisch weergegeven.



Figuur 10

Door mutaties in het DNA van normale hematopoietische stamcellen - ik ga daar zo meteen dieper op in - ontstaat leukemie. Als de patiënt met chemotherapie behandeld wordt lijken de meest cellen prima te reageren, veel patiënten komen dan ook in complete remissie, maar een aantal cellen blijft na behandeling achter waardoor de ziekte na verloop van tijd weer terugkomt. Het lijkt erop dat leukemieën zijn opgebouwd volgens een bepaalde hiërarchie, erg vergelijkbaar met een normaal hematopoietisch systeem, met aan het hoofd wederom een stamcel, in dit geval noemen we dat een leukemische stamcel. En in tegenstelling tot wat je misschien zou verwachten van een kanker cel, maar net zoals een normale bloedvormende stamcel heeft deze leukemische stamcel een relatief lage celdelingscapaciteit, en net als bij een normaal hematopoietisch systeem zijn dit de enige cellen die de self-renewal truc kunnen uitvoeren, dus na celdeling een nieuwe identieke leukemische stamcel maken. het zijn juist de leukemische voorlopercellen die veel celdelingscapaciteit hebben en daardoor het overgrote deel van de tumor uitmaken. Geen wonder dus dat die sneldelende dochtercellen wel gevoelig zijn voor chemotherapie die veelal ingrijpt op de celcyclus, terwijl langzaam delende leukemische stamcellen ontsnappen aan de therapie en voor terugkeer van de ziekte kunnen zorgen. Deze heterogeniteit binnen de tumor is voor het eerst in kaart gebracht in 1997 door Dominique Bonnet en John Dick. Wederom een heel belangrijke ontdekking. Maar niet alleen dat, het is ook een mooi voorbeeld van hoe voortschrijdend inzicht kan werken in de wetenschap. Ik laat u

hier het originele paper zien van Dominique Bonnet, en dit paper was zo belangrijk omdat het voor het eerst de heterogeniteit binnen een enkele tumor in kaart bracht (Fig. 11).

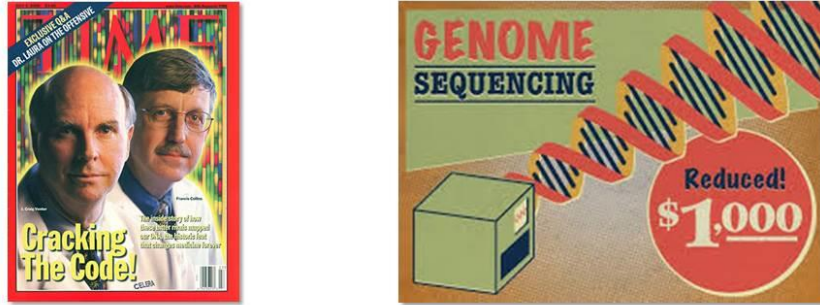


Figuur 11

Dit concept is vervolgens ook gebruikt om de biologie van andere soorten van kanker beter te kunnen begrijpen zoals bijvoorbeeld huidkanker. Op basis hiervan is er veel ophef en discussie ontstaan over deze kankerstamcel theorie, velen zagen er eigenlijk niets in, en de scheiding tussen stamcellen met self-renewal activiteit versus dochtercellen die dat niet hebben, zou veel minder strikt zijn. Die discussies zijn alleen maar goed geweest om het veld verder te helpen. Desalniettemin kan ik u wel zeggen dat als het reproducibility project dit paper had uitgekozen om te reproducieren, dan waren ze tot de conclusie gekomen dat er toch iets niet klopt. Een belangrijke conclusie van dit werk was dat de leukemische stamcel te herkennen was met bepaalde eiwitten op de plasmamembraan, positief voor CD34 en negatief voor CD38, en dat dit de enige cellen waren die self-renewal konden ondergaan, net als normale stamcellen. Echter, het ligt toch iets genuanceerder, er zijn verschillende gedaantes waarin de leukemische stamcel zich kan voordoen. Het mooie is nu dat ze daar zelf achter is gekomen. Dit heeft alles te maken met het steeds verder verbeteren van essays waarmee we stamcelactiviteit kunnen meten, in dit geval transplantatie experimenten. Ik laat de details daarvan even achterwege, maar het mooie is, is dat Dominique Bonnet deze herziene versie op het tumor stamcelconcept ook weer zelf gepubliceerd heeft. Knap staaltje zelfreinigend vermogen zou ik zeggen. Het stuk werd niet gepubliceerd in Nature natuurlijk, die wil liever niet terugkomen op “revolutionair wereldschokkend nieuws” dat ze eerder gebracht hebben, maar wel in een ander fatsoenlijk vakbladje.

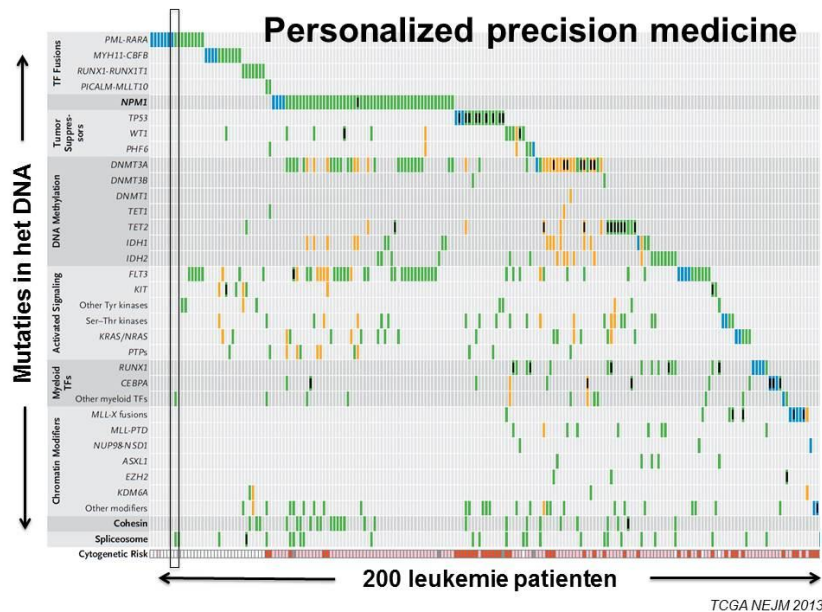
Ik noemde al dat kanker een ziekte is die veroorzaakt wordt door mutaties in ons DNA, en het eerste bewijs daarvoor is geleverd met de ontdekking van het SRC oncogen in de jaren '80. Voor leukemie is dat niet anders. Maar om tot het inzicht te komen van het grote repertoire aan DNA afwijkingen die we bij leukemie patiënten vinden zijn we afhankelijk geweest van wederom een nieuwe belangrijke technologische vooruitgang: het snel en relatief goedkoop in kaart brengen van de samenstelling van ons gehele DNA.

- 2000: eerste ruwe versie van het humane genome
- 2002: Craig Venter (Celera Genomics, TIGR, Craig Venter Institute):
"The future of sequencing: Advancing towards the \$1000 genome"
- 2007: genome sequence van James Watson gepubliceerd (\$ 1.000.000)
- Eind 2007: Knobe company (\$350.000)
- 2008: Illumina (\$60.000)
- 2009: Stanford/Helicos Biosciences (\$48.000)
- 2010: Illumina (\$50.000)
- 2014: Illumina HiSeq X Ten (\$1000)



Figuur 14

In de afgelopen 10 jaar heeft er een rat-race plaatsgevonden tussen wetenschap en industrie om zo snel mogelijk, voor zo weinig mogelijk geld, ons erfelijk materiaal in kaart te brengen. Terwijl 10 jaar geleden dit nog zo'n miljoen dollar kostte, is het momenteel mogelijk om het complete erfelijk materiaal te sequencen voor minder dan 1000 dollar, binnen een relatief korte tijd. Wederom een mooi voorbeeld van technologische ontwikkelingen die essentieel zijn om tot nieuwe biologische inzichten te komen.



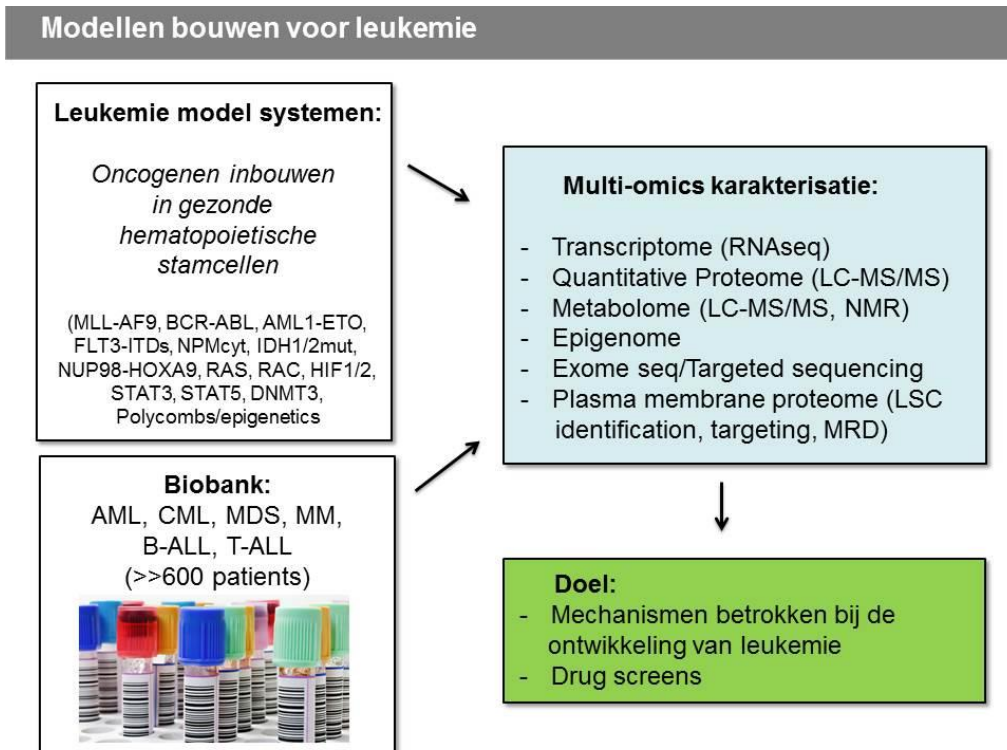
Figuur 15

Dit is ook gedaan voor een groot aantal leukemie patiënten, hier het eerste artikel waarbij het DNA is geanalyseerd van 200 acute myeloïde leukemie patiënten. De conclusies zijn dat er in totaal een groot aantal mutaties geassocieerd is met het ontstaan van leukemie, zo'n 250. De tweede conclusie is dat niet elke individuele patiënt 250 afwijkingen heeft, maar in de regel wel meer dan 1, het lijkt erop dat er een set van zo'n 5-15 mutaties tezamen nodig zijn om leukemie te induceren.

Ik laat u een tabel zien uit dit artikel, enigszins druk misschien, maar hier aan de onderkant ziet u 200 patiënten op een rij gezet, en aan de linkerkant ziet u gecategoriseerd welk type afwijking in het DNA gevonden werd (Fig.15). Elk blokje dat ingekleurd is geeft aan dat er sprake was van een mutatie in het DNA van het desbetreffende gen. U kunt meteen zien dat in elke individuele patiënt de combinatie van mutaties redelijk uniek is en dat betekent dan ook dat we waarschijnlijk toe moeten naar een behandelmethodes die precies toegespitst is op elke individuele patiënt, iets wat je personalized precision medicine zou kunnen noemen.

Ik geef u graag een kort overzicht van de belangrijkste vragen waar we ons momenteel in het lab mee bezig houden.

Ten eerste zijn we druk bezig om te leren begrijpen wat die afwijkingen in het DNA nu precies voor gevolgen hebben voor de vorming van ons bloed en hoe ze bijdragen aan de ontwikkeling van leukemie (Fig.16). We kennen nu alle spelers wel, de 250 DNA mutaties, maar de vraag is nu: wat doen ze?

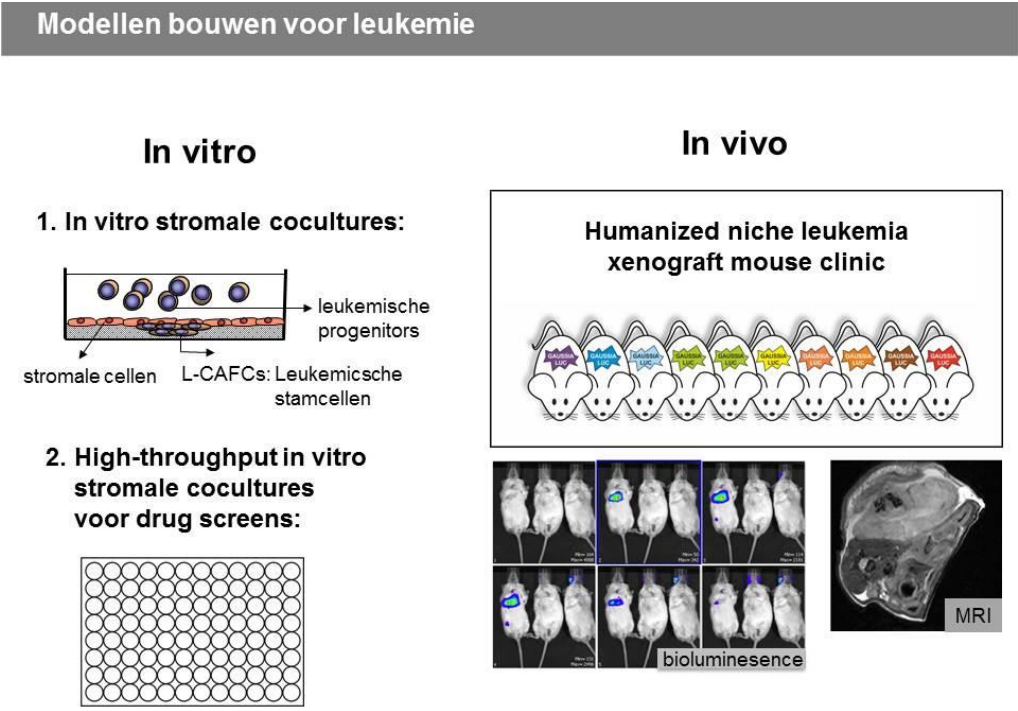


Figuur 16

Door deze mutaties in het DNA van gezonde bloedvormende stamcellen in te bouwen kunnen we heel precies bestuderen wat de consequenties zijn voor de celgroei, differentiatie, self-renewal, energiehuishouding etc. In de afgelopen jaren hebben zo modellen kunnen bouwen voor een groot aantal van de meest voorkomende mutaties, of combinaties daarvan, waarin we in feite van een gezonde cel een leukemische cel proberen te maken. Het is intrigerend om te zien hoe elk van deze mutaties op geheel eigen wijze teweerk gaat, sommige mutaties

beïnvloeden de differentiatie, sommige de self-renewal van stamcellen, en sommige grijpen bijvoorbeeld in op de energiehuishouding. Maar van veel mutaties weten we eigenlijk nog niet goed wat de effecten zijn, daarin ligt een uitdaging voor de toekomst.

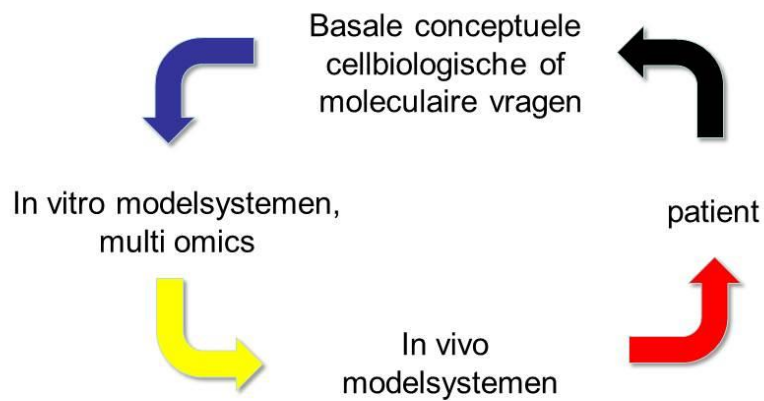
Omgekeerd maken we ook gebruik van patiënten samples. Ik denk intussen al meer dan 20 jaar terug heeft Edo Vellenga het belang al ingezien van het op de juiste manier bewaren van patiënten materiaal, en hij is dan ook al jaren de drijvende kracht achter onze biobank op het UMCG waar intussen materiaal van honderden leukemiepatiënten opgeslagen ligt waar we onderzoek mee kunnen doen, zeer waardevol voor veel van onze studies, dat had Edo destijds al goed in de gaten. Ook hier hebben we technologie ontwikkeld om DNA te kunnen veranderen, en het doel hier is juist om een zieke cel proberen te herprogrammeren tot een gezonde cel, of om hem om zeep te helpen. Door onze modellen maar ook de patiënten samples in onze biobank steeds beter te karakteriseren, en u ziet hier rechtsboven wat voorbeelden van hoe we dat doen, komen we steeds dichterbij ons doel: het ontrafelen van mechanismen die ten grondslag liggen aan het ontstaan van leukemie.



Figuur 17

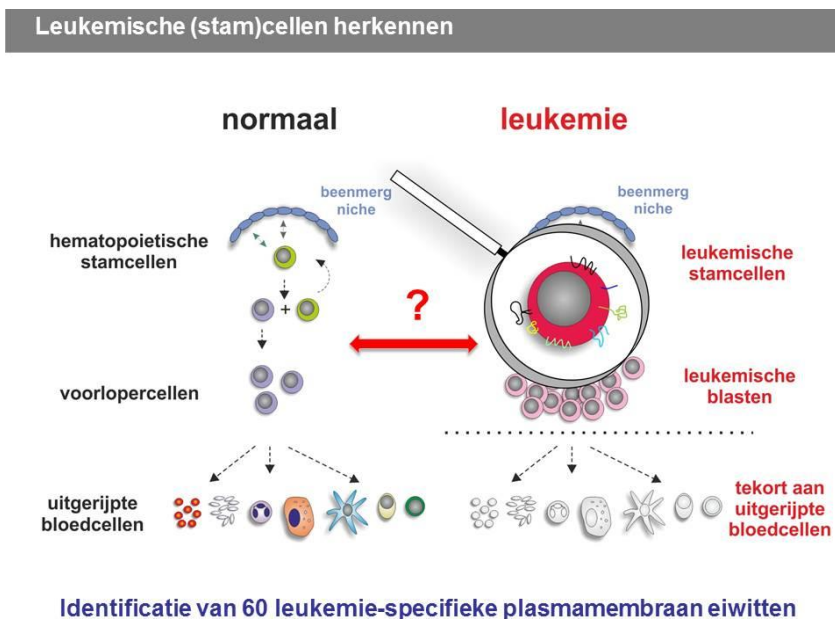
Verder zijn de modellen die we gegenereerd hebben natuurlijk ook uitstekend geschikt om nieuwe therapeutica of nieuwe behandelmethoden te testen (Fig.17). Naast alle in vitro modellen hebben we in de afgelopen 5 jaar ook veel geïnvesteerd in het ontwikkelen van een muizenziekenhuisje. U moet zich dat zo voorstellen dat voor elk type leukemie patiënt die in het UMCG behandeld wordt, we nu ook een muizepatiënt in ons muizenziekenhuis hebben, en we zijn momenteel erg druk om deze muizen beter te maken met verbeterde behandelmethoden op basis van onze bevindingen in het laboratorium. Onze insteek is daarbij dat als we een muis kunnen genezen, dat we dan ook kans hebben dat dat bij een mens hopelijk ook gaat lukken. Dit muizenziekenhuis is momenteel operationeel, en u zult begrijpen dat dit een heel belangrijke schakel is tussen de basale vragen die we in het lab stellen: hoe praten cellen met elkaar, naar de translatie richting kliniek en patiënt, en op basis van dit soort technologieën hebben we

intussen nauwe samenwerkingen met verschillende farmaceutische industrieën opgezet om nieuwe behandelmethoden te testen. Dit is precies denk ik waar we als Experimentele Hematologielab sterk in zijn, om vanuit basale vraagstukken inzicht te krijgen in moleculaire mechanismen bij leukemie ontwikkeling, maar ook om vervolgens ook de vertaalslag te maken naar het ontwikkelen van nieuwe behandelmethoden die uiteindelijk in klinische trials in patiënten getest kunnen worden (Fig.19). Ik ben ook bijzonder content met ons afdelingshoofd Gerwin Huls, die hier ook in de directe toekomst serieus werk van wil maken en ik zie onze gezamenlijke efforts hierin dan ook met veel enthousiasme tegemoet.



Figuur 19

Een tweede uitdaging is, hoe we leukemiecellen kunnen onderscheiden van normale cellen. In de afgelopen 5 jaren hebben we ook daar veel tijd aan gependeed. En het resultaat daarvan is dat we nu een behoorlijk goed beeld hebben van de eiwitten die zich aan de buitenkant van de membraan van normale en leukemische cellen bevinden (Fig.20).



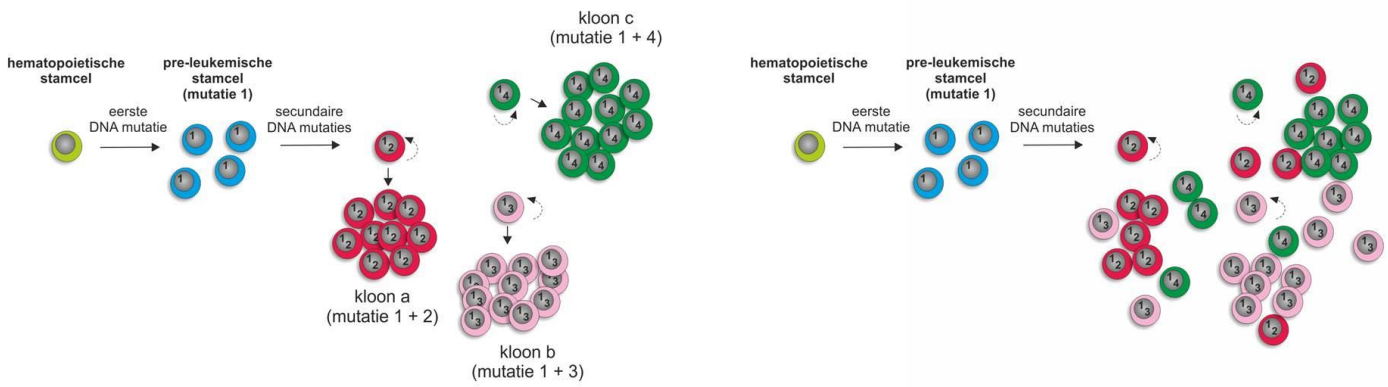
Identificatie van 60 leukemie-specifieke plasmamembraan eiwitten

Figuur 20

Van de pakweg 22.000 genen, waarvan zo'n 2500 coderen voor plasmamembraan eiwitten, hebben we nu zo'n 60 in het vizier waarmee we inderdaad de leukemiecél kunnen onderscheiden van een normale cel. Dit is bijzonder bruikbare informatie. Ten eerste kunnen we iets leren over de biologie, we kunnen nu proberen te begrijpen hoe leukemische cellen anders omgaan met signalen die ze ontvangen vanuit de beenmerg omgeving. Veel van die signalen worden namelijk in eerste instantie via plasmamembraaneiwitten doorgegeven naar binnenin de cel.

Ten tweede zijn deze markers bruikbaar omdat we in een diagnostische setting, voor – tijdens – en na de behandeling kunnen kijken of er nog sprake is van leukemiecélén in de patiënt. 5 markers van onze toplist van 60 worden intussen al twee jaar meegenomen in het routine diagnostisch lab onder leiding van Andre Mulder, wederom een samenwerking die zeer waardevol is, en ik denk dat we in de zeer nabije toekomst zullen kunnen beoordelen in hoeverre deze markers ons inderdaad in staat stellen om leukemiecélén te kunnen herkennen in een diagnostische setting. Ten derde, en nu heb ik het meer over toekomst plannen, zouden deze markers natuurlijk ook uitermate geschikt kunnen zijn om medicijnen naar de juiste cellen te brengen. Veel van de nieuwe compounds die effectief zijn tegen leukemische stamcellen die wij of anderen in de afgelopen jaren ontdekt hebben, hebben vaak ook toxische effecten op normale hematopoietische stamcellen. Normale en leukemische stamcellen verschillen in feite qua biologie niet zoveel van elkaar. Het is dus zaak om drugs naar de juiste cel te transporteren om zo leukemische cellen te raken maar normale cellen niet. Bijvoorbeeld door drugs te koppelen aan antilichamen, zogenaamde ADC – antibody drug conjugates – kunnen we zo wellicht tot een beter targeting komen, iets waar we intussen ook mee begonnen zijn. Maar ook andere opties zijn mogelijk, bijvoorbeeld door gebruik te maken van immuuntherapie, waarbij met behulp van antilichamen immuuncellen zoals natural killer cellen (NK) of reactieve T cellen specifiek naar de leukemiecélén gestuurd kunnen worden.

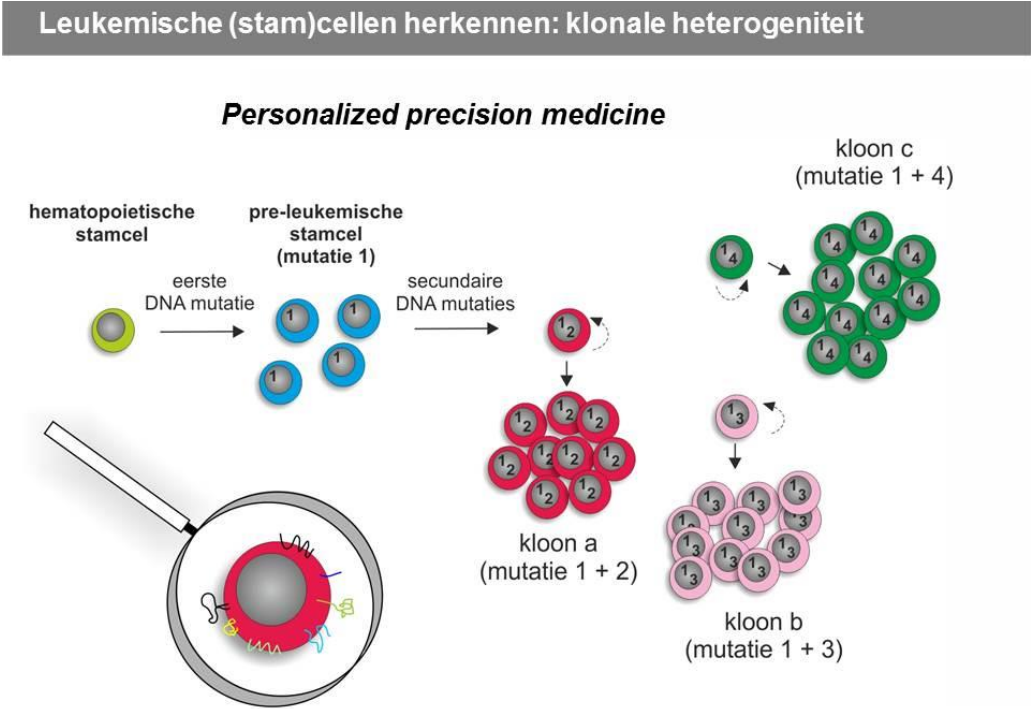
Leukemische (stam)cellen herkennen: klonale heterogeniteit



Figuur 21

Ik heb u deze slide (Fig.7) eerder laten zien, waarbij ik vertelde dat leukemie wordt gekarakteriseerd door een ophoping van niet-functionele immature leukemische blasten, en dat de leukemische kloon georganiseerd is volgens een bepaalde hiërarchie met aan het hoofd de leukemische stamcel. Maar zoals wel vaker, zit de werkelijkheid toch nog een stapje ingewikkelder in elkaar (Fig.21). Wat ik u nog niet verteld heb is dat leukemie weliswaar begint met 1 eerste founder mutatie, maar dat er daarna verschillende subkloons kunnen ontstaan, elk

met verschillende secundaire mutaties, allemaal binnen dezelfde patiënt. Dit weten we echt nog maar sinds de afgelopen jaren, met name door fantastisch werk gedaan door Mel Greaves in London. En omdat deze subkloons genetisch van elkaar verschillen, is hun biologie en ook hun gevoeligheid voor therapeutica ongetwijfeld anders. Deze slide ziet er misschien redelijk georganiseerd uit, maar in werkelijkheid zijn eigenlijk alle studies tot nu toe gedaan op een mix van deze cellen, en dat vertroebelt onze blik natuurlijk. Deze genetisch verschillende subkloons binnen patiënten zijn ontdekt op basis van DNA analyses, maar om deze mutaties in ons DNA te kunnen analyseren moet je het DNA er wel eruit halen en heb je geen levende cellen meer over waar je functionele proeven mee kunt doen. Door nu expressieprofielen van al onze markers te combineren zijn we nu ook het eerst in staat om deze klonale heterogeniteit in kaart te brengen, en belangrijker nog, om deze genetisch verschillende subkloons van een individuele patiënt als levende celpopulaties in handen te krijgen (Fig.22).



Figuur 22

Zo kunnen we ze in detail functioneel gaan bestuderen. Om een voorbeeld te geven: alle genexpressieprofielen van leukemie patiënten, dus het analyseren van welke genen wel of niet tot expressie komen, zijn tot nu toe altijd gedaan op deze bulk populaties, wat een soort van gemiddelde oplevert van de individuele kloons die hierin duidelijk van elkaar verschillen. Door eerst deze subkloons van elkaar te scheiden zijn we nu in staat om veel preciezer deze transcriptomen te bestuderen, en onze data laten zien dat deze kloons inderdaad soms erg van elkaar kunnen verschillen. Er wordt momenteel veel gedaan met big data, het integreren van zo veel mogelijk grote datasets om zo inzichten te krijgen in bepaalde ziekteprocessen. Maar dit lijkt me toch een typisch gevalletje van focussen op small data in plaats van big data, zou ik zeggen...

In de wandelgang wordt vaak gesproken over “personalized precision medicine”, en dat klinkt prachtig. Maar voor leukemie is dat zeker nodig denk ik. We kennen nu het spectrum van mutaties, het is nu zaak om per individuele patiënt, te bepalen van welke mutaties sprake is, ook

met het idee dat er meerdere genetisch verschillende subcloons kunnen bestaan die welk wellicht hun eigen behandeling behoeven. Doel uiteindelijk zal zijn om de therapieresistente cellen op te sporen, en daar de behandeling op te richten, oftewel: “persoonlijk en precies”.

Beste mensen, ik kom zo langzaam aan het eind van mijn oratie.

Ik wil het College van Bestuur van deze universiteit en de Raad van Bestuur van het UMCG bedanken voor het in mij gestelde vertrouwen door mij als hoogleraar Experimentele Hematologie te benoemen.

Lieve Marieke, lieve Sofie, lieve Lies, met jullie erbij is alles leuker. Ik ben ontzettend gelukkig met jullie om me heen.

And finally, my dearest labmembers. Current lab members, all of you here, past labmembers, also many of you here today, which I am very happy about. The outside world does not always realize what kind of mini-societies labs really are. We spend long hours every day to try to make new discoveries and to try to get more insight into the biological world around us, in our particular case how our blood exactly works. To discover.....is team work, and this becomes more and more true with the advancements of complicated technologies and approaches. I realize that this will start to sound a little cheesy, and I am not saying this to put you in a somewhat milder mood for whatever might happen later this evening, but I say it because I really mean it: I truly feel like I am standing here today on behalf of you, because you are the lab, I am only a small part of it. A good day in the lab for me, is when one of you enthusiastically comes running into my office with new data that either beautifully fits your hypothesis....or not at all....happens maybe bit more often. Together we then try to make some sense out of it all in front of the whiteboard and make new plans for additional experiments. Well....you jump into my office basically every day, so almost every day is a good day for me, thank you for that!

Dames en heren, ik heb gezegd