

Over kankeronderzoek, gendiagnostiek,
erfelijkheidstesten en doelgerichte therapieën

Genen, fout DNA en kanker

Inhoudsopgave

Voorwoord	3
Kanker de wereld uit. Science fiction?	
Doen wat moet, en laten wat niet moet	4
Ronald Plasterk over fundamenteel onderzoek naar wat cellen doet ontsporen	
Een ongeluk komt nooit alleen	8
Kapot DNA, ook bij ontstaan borstkanker factor van betekenis	
Knock-outs en knock-ins	12
Anton Berns over gebruik van muismodellen bij kankeronderzoek	
Enorm grote genen	16
Hoe gaan erfelijkheidstesten in hun werk en wat betekenen de uitslagen?	
Beter dan een kristallen bol	20
Micro-array techniek voorspelt gedrag tumor en voorkomt overbehandeling	
Nog steeds goeddeels onbegrepen, het zoeken gaat door	24
Sabine Linn over de mechanismen van hormoonresistentie	
Het gaat niet om hoe hoog iemand verdraagt, maar hoe laag effectief is	28
Doelgerichte middelen vereisen trials met andere opzet	
Alleen de notaris heeft de sleutel	32
Floor van Leeuwen over dilemma's bij gebruik van menselijk materiaal	
Colofon	36

Kanker de wereld uit. Science fiction?

Nog niet zo lang geleden kon je dood gaan aan een eenvoudige bacterie infectie. Met de ontdekking van antibiotica zijn dergelijke ziektes tegenwoordig goed te bestrijden. Een vergelijkbaar verhaal is er voor AIDS: een dodelijke ziekte, maar sinds een aantal jaren met een cocktail van nieuw ontwikkelde medicijnen langdurig te onderdrukken. Kanker daarentegen is helaas nog steeds een ziekte met te vaak een dodelijke afloop. De voorspelling is echter dat uiteindelijk ook daarvoor specifieke medicijnen gevonden worden die deze ziekte zullen genezen of langdurig onderdrukken. Gezien het voorgaande een niet al te gewaagde voorspelling. Maar waarom zijn die medicijnen er dan nog niet? Wat is er anders bij kanker waardoor dit proces zoveel moeizamer verloopt en zoveel langer duurt? Dat komt omdat kankercellen ontzettend veel lijken op normale lichaamscellen, waardoor het lastig is medicijnen te ontwikkelen die alleen kankercellen doden. Maar mede door genomics onderzoek is het de laatste jaren mogelijk de kleine verschillen tussen normale cellen en tumorcellen in kaart te brengen en steeds beter te begrijpen waarom een kanker cel ontspoorde. Met die kennis is het mogelijk nieuwe doelgerichte medicijnen te ontwikkelen. Een recent succes is de ontwikkeling van trastuzumab (Herceptin), een medicijn dat wordt ingezet als er sprake is van een overexpressie van een specifieke receptor,

HER2. Aanvankelijk alleen voor de behandeling van gemetastaseerde borstkanker, bleek dit jaar dat het middel ook doeltreffend is als aanvullende behandeling na operatie, bestraling en eventueel chemotherapie. Om kanker beter te bestrijden blijkt eigenlijk een heel palet aan verschillende medicijnen nodig, al naar gelang de specifieke eigenschappen van de tumor. Die medicijnen moeten allemaal nog ontwikkeld worden. En misschien dat we in de toekomst de diagnose kanker kunnen afdoen met een recept voor de apotheek, maar voordat het zover is, is nog heel veel onderzoek nodig. Ook genomics onderzoek kan daarvoor een belangrijk deel aan bijdragen. Wat een uitdaging!

Het Cancer Genomics Centrum (CGC) specialiseert zich in dergelijk onderzoek; op dat gebied is het dan ook een van de topcentra. Opgezet onder auspiciën van het Nederlands Regie-Organ Genomics is het CGC een samenwerking van researchgroepen uit het Nederlands Kanker Instituut Amsterdam, het Erasmus Medisch Centrum Rotterdam, het Hubrecht Laboratorium Utrecht en het Universitair Medisch Centrum Utrecht. Het doel van het centrum is het goede kankeronderzoek dat al in Nederland gebeurt verder te versterken. Dit al goede onderzoek is mede te danken aan de inspanningen van KWF Kankerbestrijding, die een groot deel van het kankeronderzoek in Nederland financiert. Naast het dóen van onderzoek,



Hans Bos

wil het CGC ook laten zien wat modern kankeronderzoek inhoudt en wat de mogelijkheden en onmogelijkheden zijn.

Met dit boekje, uitgebracht ter gelegenheid van het symposium 'Genen, fout DNA en kanker' dat in samenwerking met de Borstkanker Vereniging Nederland op 15 oktober 2005 plaatsvindt, biedt het CGC u graag een aantal impressies van activiteiten aan waarmee het centrum en zijn deelnemende instituten zich bezighouden.

Hans Bos
Wetenschappelijk directeur
Cancer Genomics Centre

Hoogleraar ontwikkelingsgenetica Ronald Plasterk is directeur van het Hubrecht laboratorium in Utrecht, een in de ontwikkelingsbiologie gespecialiseerd onderzoeksinstituut. Aan hem de vraag wat het nut van fundamenteel kankeronderzoek nu eigenlijk is en welke rol ontwikkelingsbiologie daarin speelt. “Wij bestuderen universele regelmechanismen in de ontwikkeling van een cel en kijken naar de overlap van ontwikkelingsbiologie en oncologie. Die is heel groot.”

Aan het onderzoeksgebied ontwikkelingsbiologie is onlosmakelijk de kernvraag verbonden ‘hoe kan er uit een bevruchte eicel een volledig ontwikkeld dier ontstaan, met alle daarbij behorende gespecialiseerde weefsels?’ Hoe ontstaat bijvoorbeeld een spiercel en hoe wordt die ertoe gebracht te doen wat hij moet doen, namelijk zich samentrekken? En hoe wordt hij ervan weerhouden om niet te doen wat niet zijn taak is. Een hormoon afscheiden bijvoorbeeld? Of zich tot een tumor ontwikkelen?

Tweede jeugd

“Aanvankelijk waren de ideeën over het verband tussen ontwikkelingsbiologie en kankerbiologie heel simpel. Zo’n honderd jaar geleden dacht men dat een kankercel een cel was die zich dedifferentieerde. Dat wil zeggen: zich niet ontwikkelde, maar terugging naar de staat van oercel in een embryo. Cellen



Ronald Plasterk

Doen wat moet, en laten

Ronald Plasterk over fundamenteel onderzoek naar wat cellen doet ontspreken

in een embryo moeten zich heel snel kunnen delen, weefsel opleveren. Op een gegeven moment zijn ze volwassen en daarmee wat ze moeten zijn. Zeg een

spiercel. De hypothese toentertijd was dat een kankercel dat eigenlijk was vergeten, een tweede jeugd beleefde en weer terugkeerde naar die embryo-



achtige toestand. Een heel interessante gedachte, maar helaas wat al te simpel.”

Sleutelgenen

Toch zat men er niet helemaal naast, want een kankercel doet inderdaad dingen die hij als volwassen cel niet, maar in embryonale toestand wél hoort te doen, namelijk zich heel snel delen, zich ergens opnieuw vestigen en daar nieuwe groei veroorzaken. Dat komt omdat de basale regelmechanismen die een cel maken tot wat hij is (spiercel), dezelfde mechanismen zijn die een cel kunnen maken tot wat hij níet behoort te zijn (kankercel). **Oncogenen** spelen daar een belangrijke rol in.

“Dat zijn sleutelgenen die, wanneer ze ontregeld raken, een cel gek kunnen maken en dingen laat doen die niet de bedoeling zijn. Vergelijk het maar met een huis waar de bewoners gestoord raken van de deurbel die door een stukje kauwgum alsmaar lawaai blijft maken.

Dat stukje kauwgum veroorzaakt dat alleen maar op die deurbel, niet alle plekken in dat huis zijn daar gevoelig voor. Hetzelfde is het geval in een cel, waar een oncogen zo’n gevoelige plek is die maakt dat een normale lichaamscel kan ontsporen tot een kankercel.”

Celdeling onder water

Veel van dit soort onderzoek gebeurt met proefdieren. Het gaat erom dat die zoveel mogelijk lijken op een mens, liefst een gewerveld dier dus met overeenkomstige organen. Het geval wil dat de mechanismen waarmee de informatie in genen vertaald wordt naar celfunctie, in de evolutie vrijwel gelijk zijn gebleven tussen verwante diersoorten. Daarom is de zebravis, een gewerveld visje waarmee sinds begin negentiger jaren veel gewerkt wordt, geschikt voor vele doeleinden. Zoals de mechanismen van het ontstaan van kanker bestuderen.

wat niet moet

Ongeveer 100 jaar geleden kreeg men kennis van het bestaan van **genen**; rond 50 jaar geleden ontdekte men de structuur van het **DNA**, ons vermogen om het te veranderen (recombinant DNA techniek) bestaat ongeveer 25 jaar en onze kennis van de volledige genetische code in het menselijke DNA pas vijf jaar. Dat laatste wordt het **genoom** van de mens genoemd.

Op zoek naar genen met sleutelrol

Kanker is een ziekte van **genen**.

Met name van genen die betrokken zijn bij **celdeling**, celontwikkeling (differentiatie) en celoverleving. Hierin kunnen **mutaties** optreden waardoor zij ofwel overactief worden of juist hun functie verliezen. Beide processen leiden tot een ongecontroleerde groei van cellen: kanker.

Dat is bekend. Maar welke genen spelen nu precies een sleutelrol bij het ontstaan van kanker? En welke invloed hebben ze vervolgens op het verloop van deze ziekte? En in welke fase? Om dit beter te begrijpen is onderzoek naar genen en wat deze doen binnen complexe organismen als de mens noodzakelijk.

Een goed startpunt is dan de ontwikkelingsbiologie, de discipline die zich richt op de fundamentele vraag: ‘wat stuurt de cel’. Daarmee stuit je al snel op processen die ook bij het ontstaan van kanker een cruciale rol spelen.

Doen wat moet, en laten wat niet moet

Het mooie is dat het zebravisvrouwtje eitjes legt in het water en het mannetje daar zijn sperma overheen spuit. De rest van de embryonale ontwikkeling speelt zich allemaal, vanaf de eerste **celdeling**, zichtbaar af waardoor het een zeer praktisch diermodel is om onderzoek aan te



doen. De zebravis heeft echter geen borsten, dus voor onderzoek naar borstkanker is het niet geschikt. Het zebravis-onderzoek sluit echter goed aan bij onderzoek aan muizen dat eveneens veel belangrijke informatie over het ontstaan van kanker oplevert (zie pagina 12).

Lukraak

Maar waarom is fundamenteel onderzoek eigenlijk nodig?

“Ruwweg kun je kankeronderzoek splitsen in twee benaderingen. Bij de eerste is het uitgangspunt de geconstateerde kanker die je weg wilt hebben.

Bijvoorbeeld door deze weg te snijden, te bestralen, of door een giftige stof in te brengen in de hoop dat deze giftiger

is voor de tumor dan voor de patiënt. Vanuit deze benadering komen tot nu toe de meeste therapieën, echter zonder de kennis waar die tumor door is ontstaan. Daardoor ontstond allengs de opvatting dat het wel wat veel ging lijken op het repareren van een kapotte machine door ertegenaan te schoppen. Nogal lukraak dus. Dat kan lang goed gaan, en er was ook nog geen andere benadering beschikbaar, maar op een gegeven moment houdt het op.”

Begrip als basis

Die andere benadering is veel fundamenteeler en kijkt heel gedetailleerd naar waarin kanker bijvoorbeeld verschilt van infectieziekten. Die worden veroorzaakt door bacteriën, levende wezens die op alle punten verschillen van onze eigen lichaamscellen. Dan is het relatief gemakkelijk een stof te vinden – zoals een antibioticum – die deze bacteriën doodt. Kankercellen daarentegen zijn cellen van onszelf, die voor 99,9 procent hetzelfde zijn als alle andere lichaamscellen maar waarin het misloopt door enkele mutaties in het DNA. Daarom is het ook zo moeilijk om die kankercellen specifiek aan te pakken zonder schade te doen aan de rest van het lichaam. Pas nu beginnen we te snappen waarom tumorcellen gek gaan doen en waarin ze genetisch verschillen van normale lichaamscellen, zoals bijvoorbeeld in hun microRNA profiel.

Vanuit deze kennis wordt het mogelijk om gerichte therapieën te ontwikkelen, die de tumor bij de basis aanpakken.

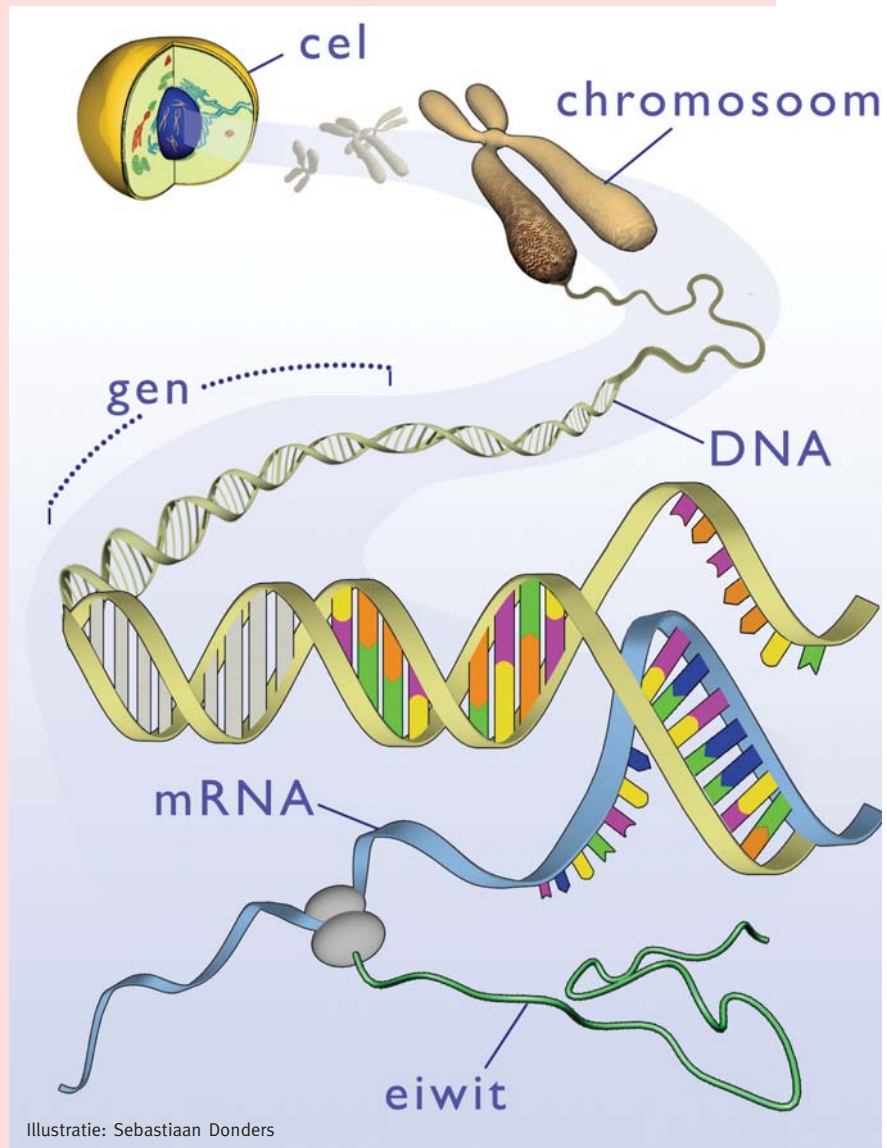
Therapie

Helaas is het is heel moeilijk aan te geven hoeveel tijd eroverheen gaat voordat dit soort fundamentele onderzoek concrete gevolgen heeft voor kankerpatiënten en tot een therapie leidt. “Soms duurt dat tientallen jaren, soms gaat dat tamelijk snel, soms uit een onverwachte hoek. Van dat laatste zijn de uitkomsten van een recent onderzoek een goed voorbeeld. Mijn collega Hans Clevers heeft met behulp van muizen aangetoond dat een experimenteel middel oorspronkelijk bedoeld voor de ziekte van Alzheimer, mogelijk tegen darmkanker werkt. Dit komt omdat het middel een **enzym** remt dat ook een rol speelt in het ontstaan van darmtumoren. Er is echter nog veel onderzoek nodig om te laten zien dat dit middel ook bij mensen werkt.”

Al met al is Ronald Plasterk overtuigd van het belang van kankeronderzoek. “Het fundamentele kankeronderzoek is beslist een optimistisch soort onderzoek in die zin dat het om een vooruitgangdenken van het meest primitieve type gaat, namelijk dat je vanuit begrip van het probleem tot oplossingen kunt komen. En ook ik ben daar heilig van overtuigd.”

Een lesje in erfelijk materiaal

De oorsprong van kanker is terug te vinden in het DNA, dat in elke celkern van het lichaam voorkomt. Als drager van erfelijke informatie bevat DNA alle gegevens die nodig zijn om de cel op het juiste moment te laten delen en hem zijn specifieke functie te laten uitvoeren. Het DNA is te vergelijken met een lange opgerolde spaghetti die opgedeeld is in 46 pakketjes, de **chromosomen**. Op die sliert ligt alle genetische informatie opgeslagen in de vorm van genen, stukken DNA die de code bevatten voor het maken van een eiwit. Van die code wordt een kopie gemaakt in het boodschapper-RNA (mRNA). Dat dient als een soort tolk bij de vertaling van de informatie in het DNA naar de **eiwitten**, de werkpaarden in de cel die de celfunctie regelen. Daarnaast bestaat er nog een andere klasse van kort RNA, het zogeheten microRNA, dat niet als tolk fungeert maar juist in staat is het boodschapper-RNA te remmen of zelfs te vernietigen. Waardoor een bepaald eiwit niet of minder gemaakt wordt. Onlangs is uit onderzoek gebleken dat kankercellen minder microRNA's bevatten dan normale lichaamscellen. Bovendien blijkt het profiel van alle microRNA's die in een tumor aanwezig zijn heel goed inzicht te geven in het type kanker. Mogelijk kan de analyse van die korte RNA's daarom een belangrijke bijdrage gaan leveren aan een goede diagnose van kanker.



Een ongeluk komt nooit alleen

Kapot DNA, ook bij ontstaan borstkanker factor van betekenis

Dertig jaar onderzoek naar de rol die DNA speelt bij het ontstaan van kanker heeft de kennis daarover enorm doen toenemen. Met name blijken beschadigingen in dat DNA van cruciaal belang. Beschadigingen die een speciale reparatiedienst normaliter snel en adequaat herstelt. Maar helaas, niets is perfect; soms werken onderdelen van die reparatiedienst niet naar behoren of ze zijn er gewoon niet. En omdat een ongeluk nooit alleen komt blijft het niet bij een niet-gerepareerd DNA, maar is dat de eerste schakel in een keten van gebeurtenissen die uiteindelijk resulteert in tumorvorming. Vraag is: waardoor beschadigt dat DNA nu precies en (hoe) kunnen we dat voorkomen?

Voor het ontstaan van een mens is maar één bevruchte eicel nodig, waarbij in de celkern een set van **chromosomen** van moeder en vader zijn samengebracht. Die deelt zich tot twee **cellen**, die zich delen tot vier cellen, die zich delen tot ...etc. etc. Kortom, een eindeloos aantal celdelingen. Tijdens elke **celdeling** wordt het **DNA** in de chromosomen gekopieerd en precies gelijk verdeeld over de twee dochtercellen. Een proces dat zich ontelbare keren herhaalt en levenslang door gaat, maar in de volwassen mens alleen

om overbodige oude of kapotte cellen te vervangen.

Bedreigingen voor DNA

Dat er tijdens dat alsmat doorlopend kopiëren iets fout kan gaan ligt meer voor de hand dan dat het niet gebeurt. Reken maar mee: ons lichaam is opgebouwd uit honderdduizend miljard cellen met in elke cel twee strengen DNA met ieder ruim drie miljard bouwstenen. De schatting is dat per deling drie fouten in het DNA ontstaan! Daarbij kan één fout al ernstige gevolgen hebben,

zoals het ontstaan van ziekte. Een nog belangrijkere bedreiging voor het DNA – en dus onze **genen** – zijn factoren van binnenuit of van buitenaf die voor beschadigingen in het DNA zorgen. Op de meeste daarvan kunnen we zelf geen invloed uitoefenen. Zoals agressieve producten van zuurstof die automatisch vrijkomen bij onze ademhaling. Maar ook verschillende soorten straling – röntgen- en UV- , evenals bepaalde stoffen in sigarettenrook en chemotherapie zijn zulke bedreigende factoren. Radiotherapie kan dus eveneens leiden tot DNA-beschadigingen, maar de kans op langdurige effecten hiervan is gelukkig zeer klein (zie kader). Naast deze factoren ontstaan er tevens spontaan schades in het DNA. Huidige schattingen gaan ervan uit dat het om tienduizenden schades per dag gaat, en dan in het DNA van iedere cel.

Recept voor zelfreparatie

Het DNA fungeert als het computercentrum dat alle processen aanstuurt en is



Jan Hoeijmakers

het enige onderdeel van een cel dat niet opnieuw aangemaakt kan worden. Dit betekent dat het wel gerepareerd móet worden wil een cel naar behoren (blijven) functioneren. Nu is het mooie dat alle cellen zelf een reparatiedienst hebben die voor herstel van de beschadigingen zorgt zodat het DNA in tact blijft. Die dienst bestaat uit zogeheten DNA-reparatie-**enzymen, eiwitten** die de beschadigingen herkennen en direct uitrukken voor herstelwerkzaamheden na een ongeval. Het aardige is dat de **genen** voor die eiwitten weer op het DNA opgeslagen liggen: het DNA bevat dus ook het recept om zichzelf na een beschadiging weer te kunnen repareren. Een computer die geen monteur nodig heeft maar in staat is zelf voor reparatie te zorgen. Daar kunnen de computer-technici nog wat van leren.

Reparatie-enzymen

Sinds korte tijd heeft fundamenteel onderzoek naar het ontstaan van kanker een grote vlucht genomen. Maar zo'n 35 jaar geleden, toen kennis hierover nog maar in de kinderschoenen stond, was al wel bekend dat bepaalde enzymen hier een rol in spelen. Om welke enzymen het gaat was echter nog een groot vraagteken. Dat veranderde toen bij onderzoek naar huidtumoren bleek dat het ontstaan daarvan rechtstreeks verband heeft met het falen van die reparatiedienst. Toen werd duidelijk dat door een erfelijke

Bijwerkingen van radiotherapie

Curatieve bestraling

Op borstsparende behandelingen volgt altijd curatieve bestraling van de borst; na een amputatie soms. Afhankelijk van de situatie van de lymfeklieren in de oksel, volgt er tevens bestraling van de lymfklierstations. Het doel van deze radiotherapeutische behandeling is het doden van kleine hoeveelheden achtergebleven tumorcellen die met de huidige onderzoeksmethoden niet zijn aan te tonen. Soms wordt daarbij een serie uitwendige bestralingen gecombineerd met een inwendige bestraling. Zonder bestraling bestaat er een kans van ongeveer 25 procent op hernieuwde tumorgroei in de borst. Na bestraling daalt deze tot onder de 5 procent.

Acuut reagerend weefsel

Onvermijdelijk zal bestraling ook schade aanrichten aan gezonde cellen. Het gaat daarbij om acute bijwerkingen, die al tijdens de bestralingen zelf optreden en in de eerste weken na afloop en late bijwerkingen die pas na

Een ongeluk komt nooit alleen

afwijking in één of meer van de genen met het recept voor een reparatie-enzym, de reparatiedienst zijn werk niet kan doen. Als gevolg daarvan stapelen de DNA-beschadigingen zich op en ontstaan meer en meer fouten in andere genen. Daardoor krijgen cellen verkeerde boodschappen en gaan zich ongeremd delen met een tumor als uiteindelijk resultaat. Inmiddels zijn er zo'n tachtig enzymen bekend die tot de reparatiedienst behoren. Van sommige is hun rol duidelijk, van andere zijn de details nog niet volledig in kaart gebracht.

Ophoping van fouten

Ook staat nu vast dat bepaalde vormen van erfelijke borstkanker, bijvoorbeeld die veroorzaakt worden door een aangeboren fout in het **BRCA1 of -2 gen**, te wijten zijn aan een defecte reparatiedienst. Dat wil zeggen: het BRCA1 of -2 gen codeert voor een eiwit dat betrokken is bij de reparatie van DNA. Is iemand draager van zo'n defect gen, dan verloopt het repareren van bepaalde DNA-beschadigingen niet goed in het borstweefsel. Door de ophoping van fouten in hun 'computer', het DNA dus, ontspreiden cellen tot het uiteindelijk kankercellen zijn.

Om iets te kunnen ondernemen voor genezing, betere diagnose of preventie is kennis van wat er nu precies fout is in de tumorcellen en hoe die fout is ontstaan een voorwaarde. Pas dan is

het mogelijk gericht te zoeken naar een remedie, manieren om borstkanker te voorkomen, in een vroeg stadium te ontdekken of een leefstijladvies te geven aan iemand met een verhoogd risico. Als uit het DNA-reparatie onderzoek blijkt dat een vrouw een heel grote kans heeft al jong borstkanker te krijgen vanwege een BRCA1 of -2 mutatie, is op dit moment alleen preventie door bijvoorbeeld – hoe ingrijpend ook – het afzetten van de borst mogelijk of regelmatige controle. De verwachting (en deels gelukkig al realiteit) is dat er betere mogelijkheden komen om vast te stellen wat bij deze erfelijke vorm van borstkanker de meest kansrijke behandeling is.



Peter Jansen



enkele maanden of zelfs jaren de kop kunnen opsteken. Acute bijwerkingen zijn tijdelijk en staan (bijna) volledig herstel meestal niet in de weg. Ze treden vooral op bij snel delende **cellen**. De huid is een mooi voorbeeld van dergelijk acuut reagerend weefsel. In de onderste laag van de opperhuid bevinden zich zulke sneldelende cellen: basale of stamcellen. Gezonde cellen waarvan in de loop van de serie bestralingen een tekort ontstaat omdat zij worden gedood. Meestal reageert de huid in het bestraalde gebied twee tot vier weken na de eerste bestraling. Eerst kleurt hij rood en ontstaat er extra pigmentatie. Vervolgens schilfert de huid af en uiteindelijk kunnen er pijnlijke, natte plekken ontstaan waarbij de opperhuid geheel verdwenen is door het tekort aan huidcellen. Deze huidreacties zijn het sterkst in huidplooien in het bestraalde gebied. Als gevolg van de ontstekingsreactie kan de borst ook iets opzwellen door extra vochtvorming. Meestal is de huid ongeveer vier weken na afloop van de bestraling weer genezen en zijn ook de pijnklachten verdwenen. De extra pigmentatie is soms echter nog maanden tot jaren zichtbaar.

Late effecten

In de huid kunnen tevens late effec-

ten ontstaan, zoals verminderde pigmentatie, verhoogde kwetsbaarheid (dunnere opperhuid), haaruitval en uitval van zweet- en talgklieren. Ook vorming van sterk gekronkelde en onregelmatige bloedvaatjes in de lederhuid, die door de opperhuid heen schijnen, komt voor. Vaak wordt de bestraalde borst door lichte schrompeling van de onderhuidse weefsels iets kleiner dan de niet-bestraalde.

Lymfoedeem is een bij velen bekende late bijwerking van operatie en bestraling van de lymfklierstations. Toch is de kans hierop kleiner dan 15 procent waarbij de ernst van het oedeem ook nog eens sterk kan variëren.

Nog veel kleiner, namelijk ongeveer 0.05 procent, is de kans dat na vijftien tot vijftientig jaar door bestraling van het borstklierweefsel in het bestraalde gebied een secundaire tumor – dus een andere soort dan waarvoor iemand oorspronkelijk is bestraald – ontstaat. Dat is mede afhankelijk van de stralingsdosis en genetische factoren en meestal is het een **sarcoom**. Oorzaak hiervan is beschadiging van het DNA van naburige, gezonde cellen tijdens de bestraling. Zijn er teveel van dergelijke beschadigingen, dan kan de DNA-reparatiedienst (zie hiernaast) het werk niet meer aan. Met als

gevolg dat ook gezonde cellen met een voorheen goed functionerende reparatiedienst ontsporen.

Afhankelijk van de soort kanker die dan ontstaat, het stadium daarvan en de conditie van de betreffende patiënt, is genezing van zo'n secundaire tumor al of niet mogelijk.

Gelukkig bestaan er steeds betere en vooral preciezer op de tumorcellen gerichte bestralingsmethodes, waardoor DNA-schade goeddeels is te vermijden. Methodes zoals de **‘image guided radiotherapy’**, die trouwens ook, of met name ontwikkeld zijn om de bijwerkingen hart- en longschade te voorkomen.

Palliatieve bestraling

Is een borsttumor in andere weefsels en organen als botten, longen, lever en hersenen, uitgezaaid, dan is curatieve bestraling niet meer mogelijk. Bij lokale klachten echter, zoals pijn als gevolg van een botmetastase of kortademigheid door een uitzaaiing die de luchtwegen dichtdrukt, kan palliatieve bestraling uitkomst bieden. Omdat de serie benodigde bestralingen dan veel kleiner is en de gegeven dosis veel lager dan bij curatieve bestralingen zijn ook de acute bijwerkingen veel geringer. De huidreactie bijvoorbeeld beperkt zich meestal tot wat roodheid van het bestraalde gebied.

Knock-outs en knock-ins

Anton Berns over gebruik van muismodellen bij kankeronderzoek



Anton Berns

Sinds 1999 is moleculair geneticus Anton Berns wetenschappelijk directeur van het Nederlands Kanker Instituut/Antoni van Leeuwenhoek ziekenhuis. Daar introduceert hij in 1985 de zogenoemde genetisch gemodificeerde muismodellen ten behoeve van kankeronderzoek en ontwikkelt hij deze met zijn groep verder. Wat moeten we ons daarbij voorstellen? Hoeveel muizen heeft hij daarvoor nodig? Zijn er ook andere diersoorten mogelijk voor het goede doel: steeds meer kankerpatiënten genezen? “We zoeken altijd naar het meest geschikte systeem. En hoewel dat soms fruitvliegjes kunnen zijn, is vooral de muis van onschatbare waarde.”

Al meer dan een eeuw worden met name muizen intensief voor kankeronderzoek ingezet en bestaat er internationaal veel uitwisseling. Wereldwijd zijn de betreffende laboratoria op de hoogte van elkaars muizenpopulatie, hun stambomen en hun eigenschappen.

Eindeloos broertjes en zusjes kruisen

Om kankeronderzoek te kunnen doen zijn ‘zuivere’ stammen van belang. Ten eerste voor de reproduceerbaarheid van de resultaten van een experiment. Ten tweede krijg je zo stammen met bepaalde, uitgesproken gevoeligheden, zoals een hele hoge frequentie van borstkanker. Meestal komt zo’n gevoeligheid tot stand door selectie van een aantal normaal voorkomende **genen**. Daarvoor worden muizen die vroeg borstkanker ontwikkelen steeds verder gekruist. Vervolgens zijn er vele generaties broertjes en zusjes aan de beurt waardoor

een zogenaamde inteeltstam ontstaat. Daarbinnen zijn de dieren genetisch identiek en vertonen dezelfde eigenschappen, inclusief de kans op het ontwikkelen van een bepaalde ziekte. Zo bestaan er honderden muizenstammen, ieder met zijn eigen specifieke kenmerken.

Tòch besmettelijk

Bij bovengenoemd fokproces werd onder andere ontdekt dat een aantal kankersoorten, waaronder bepaalde borstkankers, door ‘celextracten’ van de ene muizenstam op de andere overdraagbaar zijn. “Door de hiervoor verantwoordelijke virussen te kennen hebben we veel geleerd over de oorzaak van kanker” vertelt Berns, “ook voor de grote meerderheid waarbij geen virussen betrokken zijn.”

Wat blijkt? De muizenvirussen nemen informatie – dat wil zeggen genen – op van de gastheer/vrouw en dragen deze over op een ander dier. Al in de jaren ‘70 was het mogelijk om deze relatief bescheiden genetische informatie te analyseren. Daardoor kwam men tumorbevorderende genen op het spoor, de

zogenaamde oncogenen. De ontdekking dat deze eveneens in het **genoom** van de gastheer voorkomen, ook dat van mensen, betekende de Nobelprijs voor de Amerikanen Varmus en Bishop. “Je kunt je voorstellen dat als die soort genen op een andere manier ontregeld raakt, dit ook tot kanker kan leiden. En dat blijkt ook zo te zijn.” Berns benadrukt dat het hier niet om erfelijke vormen van kanker gaat, maar om sporadische die ontstaat door toevallige mutaties in het **DNA**. “Zonder proefdieren waren we hier niet in zo’n vroeg stadium achtergekomen.”

Genetisch nabouwen

Binnen de gefokte muizenstammen werden speciaal stammen geselecteerd waarin een bepaalde kankersoort veel of weinig voorkomt. Dat kan omdat genen die het ontstaan van die kankersoort vergemakkelijken, actiever zijn of genen die kanker onderdrukken minder actief. Toch blijft het ook dan een kwestie van kans; om kanker te krijgen moeten er door allerlei oorzaken nieuwe **mutaties** ontstaan in tumoronderdrukkende (zie hierna) of tumorbevorderende

Gelukkig ontstaat kanker niet door maar één mutatie, want dan was niemand een lang leven beschoren. Er moet sprake zijn van meerdere mutaties in de loop van je leven. Vandaar dat kanker eerder een ziekte is van ouderen dan van jongeren.

Muizen en kankeronderzoek

Sinds de invoering ervan roept gebruik van proefdieren in brede kring weerstand op, met als regel: hoe dichter bij de mens hoe groter de weerstand. Muizen zijn de kleinste zoog(knaag)dieren met een genoom dat sterk lijkt op dat van de mens. Dat maakt de muis zowel uit ethische als economische overwegingen een voor de hand liggend proefdier voor kankeronderzoek. Dan de aantallen: per kankerpatiënt worden ongeveer twee muizen voor onderzoek gebruikt. In het NKI/AVL betekent dat een constante voorraad van 25 duizend muizen en in Nederland gaat het in totaal om zo’n 150 duizend. Dat valt dus nogal mee, aldus Anton Berns. “Zeker als je dat vergelijkt met de 50 miljoen muizen die katten en andere roofdieren ombrengen. Daarbij is gebruik van proefdieren hier aan de meest strikte, uitgebreide en bureaucratische regelgeving gebonden die veel tijd en energie kost. In geld uitgedrukt betekent dat voor het NKI/AVL zo’n half miljoen euro per jaar. Natuurlijk is het welzijn van de dieren belangrijk evenals toetsing. En als een onderzoeker het prettig zou vinden om op dieren te experimenteren, zou er iets mis met hem zijn. Maar kort door de bocht gezegd is het in Nederland gemakkelijker om te experimenteren met mensen dan met muizen.”

Knock-outs en knock-ins

genen. De voor deze ‘gevoeligheid’ verantwoordelijke genen zijn lastig op te sporen bij de mens, zeker die welke de kans op kanker slechts licht verhogen. Omdat, ondanks omvangrijke populatiestudies, de resultaten nog bescheiden zijn, kunnen muizen ook hier een belangrijke bijdrage leveren. Vandaar dat het gebruik van muizen om tumorontwikkeling ‘genetisch’ na te bouwen een grote vlucht heeft genomen. Hierbij worden de mutaties die bij kanker in de mens veelvuldig voorkomen in de muis gereproduceerd. De kanker die dan ontstaat vertoont grote gelijkenis met die bij de mens. Dat maakt het mogelijk allerlei aspecten van tumorontwikkeling die voor analyse ontoegankelijk zijn bij de mens, toch te bestuderen.

Onderdrukkend of activerend

“Dat moeten we ons zo voorstellen”, legt Berns uit. “In tumoren die ook bij mensen ontstaan, hebben mutaties in het DNA twee soorten effect. De één is dat de mutatie genen kapot kan maken en ze daarmee op non-actief zet zodat ze hun werk niet meer kunnen doen. De andere heeft als effect genen juist actiever te maken. Nu zijn er genen die als taak hebben te voorkomen dat **cellen** gaan delen. Dat zijn de **tumorsuppressor** of onderdrukkende genen. Zijn deze niet meer actief, dan gaan cellen juist wel delen. De actieve elementen, dat wil

zeggen de oncogenen, hebben het tegenovergestelde effect, namelijk de cel aanzetten tot delen. Om kanker op te wekken zijn meestal mutaties in beide type genen nodig.

Twee routes

“Stel”, vervolgt Berns, “we bootsen in een muis een specifieke, menselijke soort borstkanker na, met dezelfde fouten in het DNA. Door middel van **genetische modificatie** worden deze fouten heel specifiek in het genoom van de muis aangebracht waardoor deze een kans van 100 procent heeft op die kanker. Maar dat wil niet zeggen dat er geen andere mutaties nodig zijn. Die blijken spontaan op te treden en daarvoor wordt geselecteerd tijdens de tumorontwikkeling zodat we ze relatief makkelijk kunnen identificeren. Vervolgens kijken we of die mutaties ook bij mensen een rol spelen. Dat is de ene route. De andere is om het muismodel te gebruiken om interventies uit te testen: welke genen moeten we aanvallen om die ongebreidelde celdeling te stoppen? Dit laatste is erg belangrijk voor het ontwikkelen van gerichte behandelingen. Immers, tegen de tijd dat we normaliter een tumor bij een mens vinden, is die genetisch gezien zo’n puinhoop van ontregelde genen dat het vaak lastig is om uit te zoeken wat de meest geschikte doelen zijn om de therapie op te richten.”

Een belangrijke rol bij deze aanval is het zogenaamde **stamcelcompartiment** van waaruit tumorgroei wordt gevoed. Als een behandeling goed aanslaat verdwijnt de tumor weliswaar, maar de vraag is of ook die stamcellen verdwenen zijn. Als die ongevoelig zijn voor de behandeling is de kans groot dat de kanker vroeg of laat terugkomt.

Dieren onontbeerlijk

“Door onze studies in genetisch gemoedificeerde muizen”, besluit Berns, “krijgen we steeds meer inzicht in ontstaan, groei en instandhouding van een tumor en wordt duidelijk welke genen daar een kritische rol bij spelen. Juist genen die daarbij nodig zijn vormen veelbelovende doelen voor therapie, ook voor erfelijke borstkanker. Zo zijn er op dit moment studies met muismodellen die indrukwekkende resultaten van bepaalde behandelingen laten zien. Dergelijke spontane muismodellen ontwikkelen specifieke kankers en verschaffen ons inzicht in hoe nieuwe medicijnen werken, hoe tumorcellen toch ontsnappen aan een bepaald middel en maar dóór blijven groeien, hoe er **resistentie** tegen bepaalde chemotherapie ontstaat of welke bijwerkingen te verwachten zijn. Maar ook – en dat gebeurt steeds meer in behandelingen – wat het effect van een combinatie van middelen is. Dat kunnen zowel combinaties van al beken-

de en bewezen medicijnen zijn, maar ook van bekende en nieuwe. En ook hier zijn dieren weer onontbeerlijk bij, bijvoorbeeld om vast te stellen hoe de verschillende medicijnen elkaar beïnvloeden. Dat kun je onmogelijk bij patiënten doen.

De farmaceutische industrie toont dan ook steeds meer belangstelling voor het gebruik van spontane muismodellen. En dat is voor de ontwikkeling van behandelingen van groot belang want die muismodellen lijken steeds meer op mensen met kanker zodat je echt appels met appels kunt vergelijken.”

Revolutie in muizengenetica

Waar muismodellen van werkelijk onschatbare waarde zijn, is in het onderzoek met behulp van ‘**knock-outs**,’ en ‘**knock-ins**’. Neem de knock-out muis. Dat deze mogelijk werd, was te danken aan de techniek om een deel van een bepaald gen uit het **chromosoom** te verwijderen. En dat was weer mogelijk door de ontwikkeling van **embryonale stamcellijnen** die eindeloos in het laboratorium kunnen worden gekweekt, en waaruit weer een muis kan ontstaan. Simpel gezegd gaat het erom

heel specifiek mutaties aan te brengen in bepaalde individuele genen van een embryonale stamcellijn waaruit dan weer een muis ontstaat met die specifieke mutatie in alle lichaams-cellen. En dan maar kijken wat er gebeurt. Net zoals je dat zou doen bij een complexe elektronische schakeling in een tv-apparaat, met talloze transistors waarvan je geen idee hebt wat hun functie is. Haal je telkens één transistor eruit, dan blijkt wat er nog wel werkt en wat niet meer. Je kunt dan voor verrassingen komen te staan en dat gebeurde dan ook bij deze knock-out muizen. Verwijdering van genen waarvan men dacht dat ze belangrijk waren, bleek lang niet altijd een groot effect te hebben. Deze knock-out studies hebben doen beseffen hoe weinig er eigenlijk bekend is over de functie van genen, maar ook dat studies in gekweekte cellen daar in veel gevallen geen goed zicht op geven. Door het maken van knock-outs van tumoronderdrukkende genen is het wel mogelijk hun rol bij het ontstaan van kanker in detail te bestuderen. Intussen zijn er methoden ontwikkeld om genen alleen in bepaalde celtypen in de muis aan en uit te schakelen en daarmee heel specifieke vormen van kanker op te wekken.



Illustratie: Renee van Amerongen

Enorm grote genen

Hoe gaan erfelijkheidstesten in hun werk en wat betekenen de uitslagen?



Hanne Meijers

Doorgaans krijgt de erfelijke vorm van borstkanker veel media-aandacht. Daardoor lijkt het alsof dit erg vaak voorkomt of dat een groot aantal vrouwen tot een familie met erfelijke borstkanker behoort. Dat is echter niet het geval; bij ongeveer vijf tot tien procent van alle vrouwen met borstkanker is een erfelijke aanleg de oorzaak. Wel is het zo dat als er sprake is van een dergelijke aanleg, dit ook een erg hoog risico met zich meebrengt, zeker voor jonge vrouwen. En hoewel families vaak een emotionele periode doormaken tijdens een erfelijkheidsonderzoek, kiezen de meeste van hen toch voor het willen weten en zijn zij soms teleurgesteld als er geen aantoonbare aanleg aanwezig is. Vandaar dat onderzoek naar nu nog onbekende aanlegfactoren alsmaar doorgaat.

In de jaren negentig van de twintigste eeuw kwam kennis van, voorlichting over en voorspellend **DNA**-onderzoek naar erfelijkheid in relatie tot (borst)kanker in een stroomversnelling. Inmiddels hebben ruim tienduizend families in Nederland zich laten testen op een aanwezige aanleg voor zowel borst- als eierstokkanker. Dit omdat deze kankersoorten vaak tegelijk voorkomen binnen één familie. In duizend tot tweeduizend van deze families bleek een aantoonbare **BRCA1 of -2 genmutatie** aanwezig te zijn.

Ziektegeschiedenissen

Als een gezonde vrouw vermoedt dat er in haar familie sprake is van een erfelijke vorm van borstkanker, vraagt haar arts haar allereerst om een familiebeeld te schetsen wat betreft ziektegeschiedenissen. Bijvoorbeeld welke, en hoeveel naaste vrouwelijke verwanten borstkanker hebben gehad en op welke leeftijd. Zo kan hij achterhalen of deze vrouw zich terecht zorgen maakt. Want zorgen en emoties spelen in deze beginfase van een mogelijk erfelijkheidsonderzoek al een grote rol. Stel, er is zo'n onderzoek gewenst. Wie moet dan de, soms

zelfs uit het oog verloren, familieleden informeren? En willen die allemaal wel weten of ze drager of draagster zijn van de erfelijke eigenschap? Wie van de vrouwen loopt er een hoog risico op het krijgen van borst- en/of eierstokkanker? En wat kunnen ze eigenlijk doen als ze dat weten?

Persoonlijke gevolgen

Ook als familieleden meewerken aan een erfelijkheidsonderzoek, is daarmee nog niet gezegd dat iedereen zelf ook bloed moet laten afnemen voor een DNA-test. Wel behoort dat – ook bij gezonde familieleden – tot de mogelijkheden nadat binnen een familie een **mutatie** is gevonden als verklaring voor de aanwezige borstkanker. Vanwege de wellicht grote persoonlijke gevolgen is begeleiding, ofwel genetische counseling hierbij beslist een noodzaak. Al was het maar om te wijzen op de vooraf niet in te schatten consequenties van de uitslag, ook als deze negatief is. Blijkt iemand wel draagster, dan speelt haar psychische gesteldheid, maar ook haar situatie daar een belangrijke rol in. Bijvoorbeeld ten opzichte van haar dochters of in verband met moeilijkheden bij het afsluiten

Genetica, wat is dat?

De wetenschap die erfelijkheid – waaronder het DNA – bestudeert heet genetica. DNA is het materiaal dat in de vorm van een chemische lettercode erfelijke informatie bevat voor het lichaam. Om het lichaam in stand te houden en goed te laten functioneren moeten lichaams**cellen** weten wat ze moeten doen. Zijn er eventuele mutaties in het DNA, dan neemt de leesbaarheid van die informatie af en raken de cellen in de war. Soms is een onbeperkte **celdeling** – met als uiteindelijk resultaat een tumor – daarvan het gevolg. Van erfelijke borstkanker zijn de twee bekendste DNA-mutaties die in het het BRCA1 gen op **chromosoom 17** en het BRCA2 gen op chromosoom 13. Draggers van deze mutaties kunnen zowel vrouwen als mannen zijn. Vrouwen hebben in dat geval vanaf hun vijfentwintigste jaar een verhoogd risico op het krijgen van borst- en eierstokkanker.

Draagsters van een BRCA1 mutatie hebben volgens schatting een lifetime (dat wil zeggen tot hun zeventigste levensjaar) risico op borstkanker van ongeveer 50 - 85 procent en op eierstokkanker van 40 - 65 procent. Bij draagsters van een BRCA2 mutatie liggen beide percentages lager; die op eierstokkanker zelfs aanzienlijk lager. Vergelijk dit met het risico op het krijgen van **sporadische** borstkanker – een lifetime risico van 10 procent – en het wordt duidelijk waarom erfelijk belaste vrouwen zich zorgen maken.

Over 't algemeen wordt aangenomen dat de prognose van door deze mutaties veroorzaakte borstkanker niet verschilt van die bij sporadische borstkanker. Op dit moment loopt er een landelijk onderzoek om te testen of dit klopt of dat de prognose juist slechter is (zie pagina 34).

Enorm grote genen

van een levensverzekering. Zo zijn er nog tal van andere (praktische) consequenties die de wetenschap dat je erfelijk bent belast kan meebrengen.

Duur van DNA-onderzoek

Momenteel duurt DNA-onderzoek bij het eerste familielid zeker vier tot zes maanden. Dat komt onder andere door dat de BRCA1 en -2 **genen** enorm grote genen zijn; BRCA1 bevat meer dan vijfduizend **DNA-basen** en het BRCA2 meer dan tienduizend. Deze zijn niet in één keer te bekijken, maar vergen een analyse in series met verschillende methoden. Het vereist dus erg veel speurwerk om mogelijke defecten te achterhalen. Is een genmutatie eenmaal bekend – en dus waarnaar gezocht moet worden – dan is de screenende test van deze genen bij overige familieleden veel simpeler en ook veel korter van duur. Aanvankelijk dachten genetici dat alleen subtiele veranderingen – zoals het wegvallen van één enkele base – het defect was, maar gaandeweg ontdekte men dat ook het wegvallen van grote stukken DNA van 120 tot meer dan 1500 basen mogelijk is. Hiervoor waren dan weer nieuwe series tests nodig die werden toegevoegd aan de bestaande, waarmee ook eerder geteste families opnieuw werden onderzocht. Naar verwachting zal de test door steeds verder gaande technologie de komende jaren veel minder tijd vergen, mogelijk maximaal enkele weken.

Combinatie laagrisico factoren

Tot voor enkele jaren geleden waren er regelmatig families waar wel duidelijk een erfelijke factor meespeelde bij het voorkomen van borst- en eierstokkanker, maar waar geen bekende genmutatie aantoonbaar was. Inmiddels is o.a. door onderzoek van Hanne Meijers-Heijboer en Jan Klijn van het Erasmus Medisch Centrum in Rotterdam bekend dat er ook sprake kan zijn van een samenspel van meerdere aanlegfactoren. Weliswaar vormen deze ieder op zich een klein risico, maar in combinatie met elkaar toch een hoog. In families met een dergelijke **polygene aanleg** werd als één van de betrokken genen het **CHEK2** gen gevonden, een van die laagrisico vatbaarheidsgenen. Mutaties hierin veroorzaken een tweemaal verhoogd risico op borstkanker ten opzichte van het normale risico. Ook kwamen er berichten over enkele families met veel borstkanker maar geen BRCA1 en -2 mutaties; daar zou sprake zijn van twee mutaties in het zogenaamde ATM gen, wat een vergelijkbaar risico op borstkanker geeft als mutaties in BRCA1 en -2. In een later onderzoek onder bijna duizend vergelijkbare families bleken die mutaties echter even vaak aanwezig in deze families als in gezonde personen. Daardoor staat nu vast dat ze geen wezenlijke bijdrage leveren aan een erfelijke aanleg voor borstkanker.

Uiteraard gaat onderzoek naar andere erfelijke aanlegfactoren alsmaar door. Zoals naar de zogenaamde ‘unclassified’ varianten van BRCA1 en -2, waarvan de betekenis nog niet duidelijk is. Deze maken zo’n tien tot twintig procent uit van de mutaties in deze beide genen. Of naar andere laagrisico aanlegfactoren zoals CHEK2, zodat op termijn zinvolle DNA-diagnostiek ook in families met meerdere laagrisico aanlegfactoren mogelijk wordt.



Illustratie: 'Stamboom', M. van Dongen

De ervaring is dat families DNA-onderzoek vooral zo waarderen omdat deze hen een soort zekerheid verschaft en de betreffende vrouwen risicoverminderende maatregelen kunnen nemen. Wat meestal neerkomt op ofwel preventieve borstamputatie – waarvoor een kleine minderheid kiest – of intensieve controle van de borsten gedurende het hele leven.



Laura van 't Veer



Els Berns

Beter dan een kristallen bol

Micro-array techniek voorspelt gedrag tumor en voorkomt overbehandeling

Of je op enig moment in je leven borstkanker krijgt is vrijwel niet te voorspellen. Heb je het eenmaal, dan wordt de tumor verwijderd en krijg je in veel gevallen een aanvullende behandeling om te voorkomen dat de kanker terugkomt of uitzaait. Maar hoe weet de behandelend arts of jij dat risico ook echt loopt? Op welke gronden raadt hij toch maar die zware chemokuur aan? Raadpleegt hij soms heimelijk een waarzegster die voor hem in haar kristallen bol kijkt en jouw toekomst daar in ziet? Een bizarre gedachte, maar binnen afzienbare tijd is er een techniek voorhanden die daar een beetje aan doet denken, maar beslist beter lijkt te voorspellen dan de kristallen bol.

Vijftig jaar na de ontdekking van het bestaan en de functie van het **DNA** blijkt deze vondst de basis voor een geheel nieuwe onderzoeksrichting naar het verloop van ziekten zoals borstkanker. Een richting die zowel enkele Amerikaanse onderzoekers opgingen, als onderzoekers van twee Nederlandse kankerinstellingen. Dit artikel baseert zich op het werk van deze Nederlandse groepen, vooral omdat beide onderzoeken als voordeel hebben

dat ze **genoombreed** zijn opgezet. Dat wil zeggen dat in een keer het hele genenpatroon – de zogenoemde ‘vingerafdruk’ van de tumor(cel) – is te overzien. Daardoor zijn ze bijzonder sterk in het maken van een prognose en hebben een groot onderscheidend vermogen, ook wat betreft de overleving van groepen patiënten met een goede en slechte prognose.

Zaait de tumor uit of niet?

Alle functies van onze lichaams**cellen** worden aangestuurd door de **genen** daarin. Deze kunnen echter door allerlei oorzaken beschadigd raken. Een opeenstapeling van veranderingen en daardoor een gestoorde genenactiviteit is er de oorzaak van dat de cellen ongebreideld gaan delen en er een tumor ontstaat. Daar kunnen vele (deels nog onbekende) genen een rol bij spelen, die ook elkaars werking onderling beïnvloeden. Maar evenals de gestoorde activiteit van bepaalde genen het ontstaan van kanker bepaalt, doet dit het ook voor het uitzaaïen. Met dit gegeven als basis gebruikten Laura van 't Veer, Marc van de Vijver en René Bernards van het Nederlands Kankerinstituut/Antoni van Leeuwenhoekziekenhuis (NKI/AVL) samen met hun collega's en een Amerikaans bedrijf een geheel nieuwe diagnostische technologie, de **micro-array** techniek. In 2002 maakten zij de resultaten van hun onderzoek bekend.

Zeventig genen in Amsterdam

Kort gezegd maakt deze techniek, tezamen met behulp van geavanceerde bio-informatica, het mogelijk de activiteit van tienduizenden genen in stukjes weefsel gelijktijdig te beoordelen. Iets dat voorheen onmogelijk was: omdat elke cel zo'n 35.000 genen bevat, konden men ze nooit in onderlinge samenhang bekijken. Er kwamen twee patronen van genenactiviteit aan het licht, de zogenaamde **genexpressieprofielen**. Eén daarvan doet zich voornamelijk voor bij patiënten die na hun operatie/radiotherapeutische behandeling uitzaaïngen hadden gekregen. Veel van de overactieve genen in deze profielen blijken bij te dragen aan celvermeerdering, binnendringen van naastgelegen weefsel en het maken van nieuwe bloedvaten. Het andere profiel is van toepassing op patiënten die grote kans hebben ziektevrij te blijven. De studie werd uitgevoerd op stukjes borsttumorweefsel die vanaf 1980 waren bewaard van in het NKI/AVL behandelde patiënten. Deze vrouwen waren allemaal jonger dan 55 jaar, hadden bij diagnose een tumor kleiner dan 5 cm, geen uitzaaïngen in de lymfeklieren en van allen was het latere ziektebeloop bekend. Met de twee gevonden genexpressie profielen, bestaande uit 70 genen, konden de onderzoekers in 90 procent van de gevallen correct, retrospectief voorspellen dat de ziekte niet

Wel/geen adjuvante behandeling

Al jarenlang beslissen oncologen op grond van enkele factoren wie er wel of geen **adjuvante** chemo- of hormoontherapie krijgt geadviseerd na een borstoperatie en eventueel bestraling en zo ja, welke. Het gaat dan om factoren die een prognose kunnen geven over het beloop van de ziekte en die de kans op uitzaaïngen in de toekomst kunnen voorspellen. De leeftijd van de betrokken patiënt speelt daar bijvoorbeeld in mee, evenals haar menopauzale status en natuurlijk diverse tumorkenmerken. Zoals grootte van de tumor, wel of geen uitzaaïngen in de lymfeklieren, stadium van de ziekte en hormoongevoeligheid gebaseerd op de hormoon**receptor** status. Sinds enige tijd wordt ook getest of een patiënt een overexpressie heeft van het HER2/neu eiwit (zie pagina 28).

Beter dan een kristallen bol

binnen vijf jaar terug zou komen. Veruit superieur dus aan de traditioneel gehanteerde factoren.

En zesenzeventig in Rotterdam

Maar ook in het Rotterdamse Erasmus MC zaten ze niet stil. Evenals in het NKI/AVL bestaat daar een archief van in dit geval sinds 1978 opgeslagen (borst)tumorweefsel. Met behulp daarvan identificeerden John Foekens, Els Berns, Jan Klijn en hun collega-onderzoekers, met een andere micro-array, een genexpressieprofiel dat uit 76 genen bestaat en maakten dit begin 2005 bekend. Slechts drie van deze 76 genen zijn hetzelfde als die in het Amsterdamse profiel, maar beide genensets geven wel de activiteit van dezelfde biologische pro-

cessen (zoals celvermeerdering) aan. Ook blijken beide profielen een even sterke prognostische waarde te hebben. Wellicht is het mogelijk om alle relevante genen uit de profielen samen op een chip aan te brengen. Waar het Rotterdamse profiel in verschilt van het Amsterdamse is dat het was getest op zowel **pré-** als **postmenopauzale** vrouwen met grote en kleine tumoren, waardoor het op alle vrouwen van toepassing is.

Klinische toepassing

Hoe veelbelovend deze nieuwe technologie ook is, de grote vraag blijft natuurlijk wanneer borstkankerpatiënten hier van kunnen profiteren en oncologen de kennis van de micro-array techniek breed kunnen en willen gaan toepassen

in hun klinische praktijk. Dat wil zeggen: wanneer laten zij zich in hun advies aan borstkankerpatiënten met negatieve okselklieren voor adjuvante chemo- of hormonale therapie leiden door de uitkomsten van het genexpressie profiel in plaats van de nu gehanteerde criteria? Ondanks gebleken enthousiasme onder artsen om met de nieuwe gegevens te werken, gebeurt dit in Nederland voorlopig alleen in studieverband met als doel de waarde van deze micro-array test verder te onderzoeken.

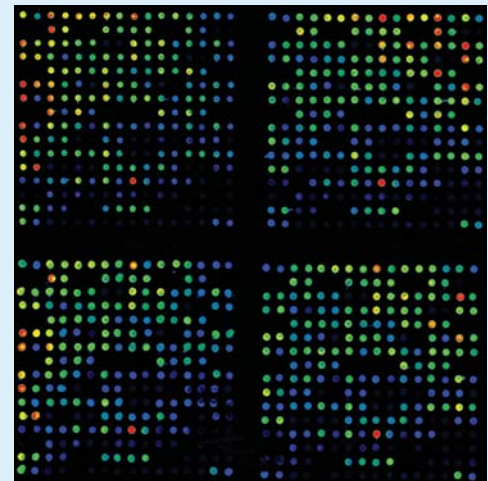
Op weg naar individuelere behandeling

Toch zijn de onderzoekers hoopvol gestemd. Het is bijvoorbeeld denkbaar dat er chips op de markt komen die zowel het beloop van de ziekte als de

In één klap

Zo gaat die micro-array techniek in zijn werk

De array – ofwel bepaling of rangschikking – speelt zich af op een chip van enkele vierkante centimeters; vandaar de naam micro-array. Op die chip wordt menselijk DNA aangebracht: van elk van de ongeveer 35.000 genen een klein, karakteristiek stukje. Van elk gen is de plaats op die DNA chip precies bekend. Vervolgens wordt er fluorescerend gemaakt RNA – afkomstig van de actieve genen in een cel – uit tumorweefsel op de chip gedruppeld. Dat RNA bindt aan overeenkomstig DNA op de chip, waarna met behulp van een laser is af te lezen welk RNA aanwezig is in de tumor. Op deze manier is het mogelijk de activiteit van vele genen in één klap precies te bepalen. Door alle gegevens in een computer aan elkaar te verbinden wordt het mogelijk om op basis van het genenactiviteitspatroon van de tumor te voorspellen hoe de tumor zich zal gaan gedragen, welk risico op uitzaaiingen er bestaat en hoe de patiënt zal reageren op een behandeling.



Illustratie: Micro-array Faciliteit UMC Utrecht

respons op de behandeling kunnen voorspellen (*who to treat en how to treat*). Dit laatste is al het geval wat betreft de respons op de tamoxifenbehandeling. Begin dit jaar maakte de Rotterdamse groep bekend dat zij een profiel hadden gevonden van 44 genen waarmee de respons op dit middel te voorspellen is. Daarnaast zijn er resultaten van kleine studies die aantonen dat ook respons op andere behandelingen te voorspellen zijn. In de toekomst zullen dit soort profielen een welkome aanvulling betekenen om de behandeling van patiënten verder te verbeteren. Niet alleen om de beste therapie voor de groep met een hoog risico op terugkeer van de kanker vast te stellen, maar ook die voor elke individuele patiënt apart. Daarnaast kunnen relevante, nog niet ontdekte genen dienen bij de ontwikkeling van doelgerichte therapieën. Omdat deze zijn toegesneden op de individuele situatie van de patiënt kunnen deze therapieën samen met de micro-array techniek bijdragen aan het stoppen van de tot nu toe bestaande, maar in veel gevallen dus onnodige overbehandeling. En hiervan profiteren vele van de wereldwijd een miljoen vrouwen die jaarlijks de diagnose borstkanker te horen krijgen.

Criteria

In Europa staan de factoren die een prognose kunnen geven en de kans op uitzaaiingen kunnen voorspellen bekend als de St. Gallen criteria. Zij zijn genoemd naar de Zwitserse plaats St. Gallen waar experts uit de hele wereld regelmatig overleg hebben over het definiëren van standaardindicaties voor adjuvante therapieën. Met deze internationaal erkende indicaties werken de meeste Europese landen dan ook, wat neerkomt op een adjuvante **systemische** behandeling voor 85 procent van de borstkankerpatiënten die geen uitzaaiingen naar de lymfeklier hebben.

Nederland wijkt daar iets van af: hier geldt de afspraak dat alleen patiënten die een kans van ten minste 20 procent hebben dat de ziekte in tien jaar terugkomt, een adjuvante behandeling krijgen geadviseerd. Bij minder dan 20 procent kans daarop wordt dat niet gedaan vanwege een te grote toxiciteit in relatie tot de winst die

ermee te behalen is.

Ondanks – of juist door – deze afspraken krijgen veel te veel vrouwen, ook zij die géén uitzaaiingen in de okselklieren hebben, voor de zekerheid toch maar een chemo- of hormoontherapie geadviseerd. Er is dus sprake van overbehandeling. Dat hier iets in moest veranderen, daar waren onderzoekers vijftien jaar geleden al van overtuigd. Vanaf dat moment zochten zij naar nieuwe **moleculaire** celbiologische factoren met een prognostische en voorspellende waarde, maar alleen de hormoonreceptor status en de HER2/neu overexpressie bleken daaraan te voldoen. Wat wel mogelijkheden biedt is de recente vinding van de micro-array techniek. Volgens de huidige gegevens kan bij toepassing van deze techniek bij 30-35 procent van de borstkankerpatiënten waarvan de lymfeklieren niet zijn aangedaan adjuvante systemische behandeling achterwege blijven.

Hoewel er hormoongevoelige borstkankerpatiënten zijn die lange tijd overleven op tamoxifen of aromataseremmers, falen deze middelen bij andere patiënten uiteindelijk doordat tumorcellen er resistent voor worden. Onderzoek hoe dit te boven te komen is verschillende richtingen opgegaan. Volgens Sabine Linn, internist-oncoloog in het Nederlands Kankerinstituut, is per individu kijken naar de specifieke biologische eigenschappen van de tumor van belang. “Idealiter zou je al voor de start van de behandeling willen weten of een hormoonreceptorpositieve tumor zal reageren op ofwel tamoxifen of aromataseremmers of dat hij resistent is.”

Nog steeds goeddeels onbegrepen, het zoeken gaat door

Sabine Linn over de mechanismen van hormoonresistentie

Omdat bij zowel de oude als de nieuwe hormonale middelen **resistentie** kan optreden, is het voor de komende jaren van groot belang met de kennis van het biologisch gedrag van borstkanker uit te zoeken wat de mechanismen van resistentie zijn. Om resistentie uit te stellen, is een mogelijke strategie het combineren van een nieuw doelgericht middel zoals trastuzumab

(Herceptin) met een hormonale therapie. Er zijn aanwijzingen dat de **oestrogeen-receptor**, zelfs wanneer tamoxifen eraan gebonden zit, een ander zogenoemd **signaaltransductiepad** dat groei bevordert – zoals dat van HER2 – soms kan stimuleren. Door dit tweede pad nu te blokkeren kan de **cel** geen gebruik maken van het groeistimulerende effect van HER2 via de oestrogeenreceptor.



Sabine Linn

Aan- en uitknopjes

Dit vereist enige uitleg, en die geeft Sabine Linn. “Ter verduidelijking moeten we naar de regulatie van celdeling kijken. Daarbij spelen de signaaltransductiepaden waarlangs boodschappen – signalen – hun weg vinden binnen een cel een belangrijke rol. Meestal te beginnen bij de **membraan**, waarop een heleboel eiwitten – **receptoren** – liggen. Vergelijk ze maar met aan- en uitknopjes.

Normaliter staan zij ‘uit’ totdat een **eiwit** zich eraan bindt waardoor ze aangaan, en daardoor een signaal afgeven. Dat gaat via allerlei tussenstappen, ook weer eiwitten die allemaal niks liggen te doen maar geactiveerd door het signaal aan ‘t werk slaan. Deze keten van activiteit geeft uiteindelijk een signaal aan de celkern. Zo’n signaal bestaat uit een opdracht om te delen, maar ook om vaatnieuwvorming te stimuleren en het veiligheidsmechanisme dat ervoor zorgt dat de cel zichzelf vernietigt als deze ontaardt, buiten werking te stellen. Deze laatste opdracht is gevaarlijk, maar in normale cellen zijn er allerlei overkoepelende controles, zodat het nooit echt mis gaat. In kankercellen zijn deze controles al verloren gegaan en ontstaat ongeremde groei. Tamoxifen verhindert dat het oestrogeenreceptor signaaltransductiepad actief wordt door aan de oestrogeenreceptoren te binden. Trastuzumab verhindert activatie van het HER2 signaaltransductiepad. Is de kankercel afhankelijk

Hormonale behandeling

Voor veel vrouwen met een hormoonreceptorpositieve borstkanker geldt tamoxifen als het hormonale middel zowel **adjuvant** als bij uitzaaiingen. In eerste instantie – nadat het middel zo’n dertig jaar geleden op de markt kwam – leek het uitsluitend geschikt te zijn voor zo’n 80 procent van de **postmenopauzale** vrouwen. Later bleek dat rond 60 procent van **premenopauzale** borstkankerpatiënten eveneens hormoonreceptorpositieve tumoren heeft.

Kern van hormonale behandeling is het tegengaan van de kankerbevorderende invloed van een hormoon – zoals oestrogeen – op de borstkankercellen. Dit kan op twee manieren: door het blokkeren van de oestrogeenreceptoren in de tumor of door remming van de productie van oestrogeen in het lichaam. Tamoxifen werkt op de eerste manier, aromataseremmers op de tweede. Beide zorgen ervoor dat een sterk verminderd aantal kankerbevorderende signalen afkomstig van dat hormoon oestro-

geen, de borstkankercellen bereikt. Voor postmenopauzale vrouwen met uitzaaiingen zijn de aromataseremmers eerste keus als standaardbehandeling; niet alleen zijn zij gemiddeld iets langer effectief, maar ook hebben zij iets minder – maar wel andere – bijwerkingen dan tamoxifen. Ook in adjuvante setting blijkt dit middel een iets betere ziektevrije periode te geven bij postmenopauzale vrouwen. Deze groep krijgt momenteel in de regel twee jaar tamoxifen en daarna drie jaar aromataseremmers. In de helft van de gevallen is een hormoonreceptorpositieve tumor toch resistent voor een van beide middelen, ofwel primair, dus van meet af aan, of na verloop van tijd. Bij aromataseremmers treedt deze resistentie iets later op en slaat de behandeling bij iets meer vrouwen aan dan tamoxifen. Onverlet blijft dat onderzoek naar de complexe mechanismen die zowel de ontvankelijkheid voor hormonale therapie veroorzaken als de resistentie daarvoor nog lang niet ten einde is.

Nog steeds goeddeels onbegrepen, het zoeken gaat door

van een of beide paden, dan zal hij niet meer kunnen delen in aanwezigheid van beide middelen wat soms zelfs leidt tot afsterven van de kankercel.”

Aankleuren

Hoe meer oestrogeenreceptoren, hoe meer afhankelijk de kankercel is van dat ene signaaltransductiepad en hoe groter ook de kans dat de tamoxifen behandeling aanslaat. De hoeveelheid receptoren is met speciale kleuringen van het tumorweefsel zichtbaar te maken. Uit

onderzoek is gebleken dat als het aantal receptoren voorbij een ondergrens komt, de tumor niet meer op tamoxifen reageert, maar soms nog wel op een aromataseremmer.

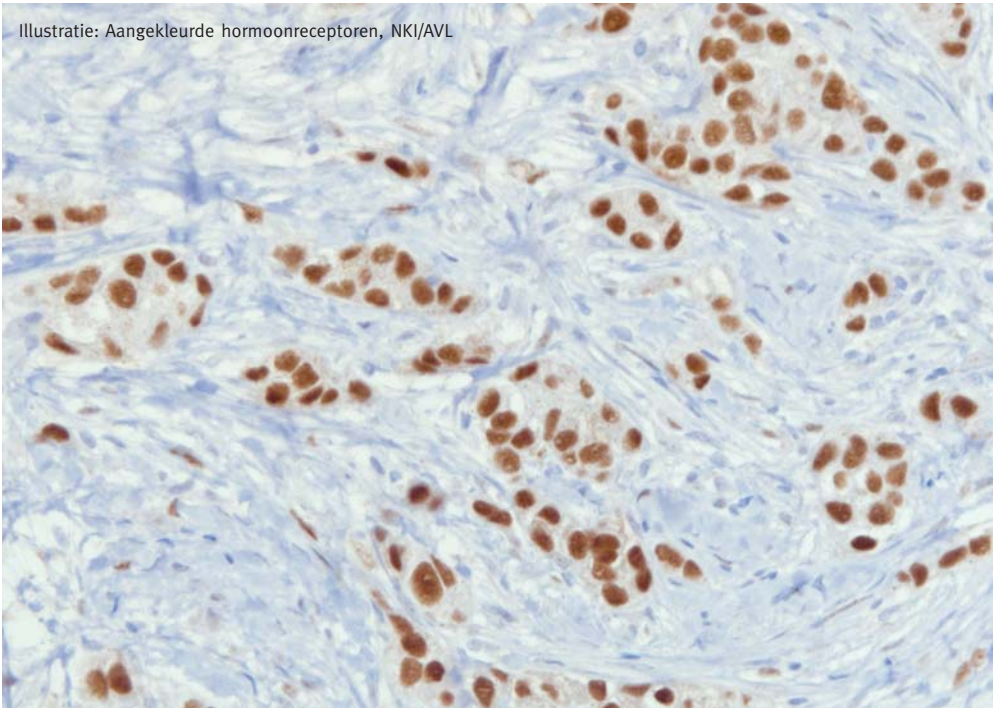
Bij een adjuvante behandeling is tamoxifen in staat om alle **micrometastasen** te doden, maar zijn er **macro-metastasen**, uitzaaiingen dus, dan gaat het om zo ontzettend veel tumorcellen dat tamoxifen het niet meer redt. Ook niet met een hogere dosis. En hoewel er dus veel vrouwen lange tijd mee door

kunnen leven, is genezing bij niemand meer mogelijk.

Ook van meet af aan

Resistentie treedt niet alleen na verloop van tijd op; van 50 procent van de hormoonreceptorpositieve borstkankerpatiënten met uitzaaiingen is de tumor van het begin af aan resistent voor tamoxifen. Bij aromataseremmers is dat rond 45 procent. “Niet zo’n groot verschil dus”, vervolgt Linn. “Resistentie treedt trouwens ook op tijdens een adjuvante behandeling, want daarbij wordt ongeveer een derde van de sterfte voorkomen (en twee derde dus niet). Voor beide settings geldt dat de helft van de patiënten die reageren op een aromataseremmer, dit ook op tamoxifen doen en vice versa. Hoewel we niet weten of het om dezelfde vrouwen gaat, is wel zeker dat er altijd een groep buiten de boot valt. Bij deze laatste groep werkt een hormonale behandeling niet meer omdat de kanker niet langer voornamelijk afhankelijk is van de hormoonsignalering, die aan- en uitknopjes dus. Dit heeft te maken met de volgorde van de behandeling: patiënten die eerst tamoxifen krijgen, en daarop responderen, kunnen door de tamoxifenbehandeling een zodanige selectie van resttumor

Illustratie: Aangekleurde hormoonreceptoren, NKI/AVL



krijgen, dat deze, wanneer hij weer uitgroeit, gevoelig is voor een aromataseremmer. Behandeling met eerst een aromataseremmer kan een andere selectie van kankercellen geven, waardoor uiteindelijk andere patiënten gevoelig zullen zijn voor tamoxifen daarna. Uiteraard kunnen het ook wel dezelfde patiënten zijn, maar dit is niet bij mensen uit te zoeken, hooguit in diermodellen. Voor de groep die buiten de boot valt komt hormonale behandeling dus niet meer in aanmerking. Voor deze hormonale therapie resistentie zijn verschillende mogelijke oorzaken. Bijvoorbeeld: Zijn er nog andere mechanismen aan 't werk, dan maken die gebruik van andere knopjes om die aan te zetten. Een voorbeeld daarvan is een hormoonreceptorpositieve tumor met daarnaast overexpressie van een ander receptoreiwit, zoals het HER2/neu (zie pagina 28)."

Het resistent worden van kankercellen voor een behandeling is ook te verklaren door een falende DNA-reparatiedienst (zie pagina 8). Foutjes in het DNA kunnen er toe leiden dat de behandeling de kankercel niet zo snel doodmaakt. Bijvoorbeeld doordat door DNA-beschadiging de pomp die het geneesmiddel weer uit de cel duwt harder gaat werken en de cel daardoor in snel tempo resistent voor die behandeling maakt.

Twee hypothesen

Hoewel er nog maar weinig bekend is over de oorzaak, zijn er wel hypothesen om resistentie na een aanvankelijke respons te verklaren. Een daarvan is dat de tumor uit verschillende subgroepen kankercellen bestaat met elk zijn eigen eigenschappen. 99,9 procent van de cellen is hormoongevoelig, maar net die ene subgroep heeft een andere eigenschap en is van 't begin af aan resistent. De patiënt wordt behandeld en bij controle blijkt bij radiologisch onderzoek geen kanker meer zichtbaar op de foto; er is sprake van een complete remissie. Echter, als die subgroep van resistente kankercellen minder dan een bepaald aantal cellen telt, zijn deze niet zichtbaar en hebben ze alle gelegenheid uit te groeien en zich te verspreiden. Een andere theorie gaat uit van stamcellen. Het is bekend dat gewone cellen in veel van onze organen elk zo'n stamcel hebben, een soort reservecel die, als de gewone cel afsterft, weer een nieuwe cel aanmaakt. De hypothese is dat ook kankercellen zo'n stamcel hebben waaruit iemands tumor ooit is ontstaan. Afhankelijk van hoe de veranderingen in het DNA daarin hebben plaatsgevonden, is deze stamcel van meet af aan al of niet resistent voor tamoxifen. Is hij resistent, dan kun je wel vaak de dochtercellen van die stamcel vernietigen, maar de stamcel zelf nooit. Daarmee is dat type kanker niet te genezen met tamoxifen. Volgens Linn een vereenvou-

digd model, maar wel uitgangspunt voor veel onderzoek.

Dilemma?

Bij postmenopauzale vrouwen vormen aromataseremmers een onderdeel van de adjuvante behandeling. Standaard voor deze groep is twee en een half jaar tamoxifen, gevolgd door eenzelfde periode aromataseremmer; behalve als zij ook HER2-positief zijn, dan krijgen zij het laatste middel gedurende vijf jaar. Maar hoe zit dat bij hormoonreceptorpositieve premenopauzale vrouwen? Bij hen werken aromataseremmers alleen als zij kunstmatig in de overgang worden gebracht door de werking van de eierstokken uit te schakelen, met alle bijwerkingen van dien. En hoewel tamoxifen alleen ook overgangsklachten geeft, nemen deze klachten duidelijk toe wanneer aromataseremmers gecombineerd worden met (tijdelijke) uitschakeling van de eierstokken. Om deze toename van bijwerkingen te accepteren, dient er wel een grotere kans op genezing tegenover te staan. Bedraagt die grotere kans slechts 1 à 2 procent, waarmee het restrisico op het terugkrijgen van de ziekte bijvoorbeeld van 11 naar 10 procent verschuift, dan is het voor een jonge vrouw de vraag of zij veel winst behaalt met een aromataseremmer. Om hier duidelijkheid over te krijgen loopt op dit moment een grote internationale vergelijkende **trial**.

Het gaat niet om hoe hoog iemand verdraagt, maar hoe laag effectief is

Doelgerichte middelen vereisen trials met andere opzet

Was het besef dat kankers in verschillende organen elk een eigen aanpak nodig hebben al een grote stap voorwaarts, de aanname dat borstkanker niet één ziekte is, maar verschillende subtypes die toevallig ontstaan in hetzelfde orgaan leidde wederom tot nieuwe inzichten. Zoals de noodzaak om die subtypes doelgericht op een specifiek molecuul en op verschillende niveaus aan te pakken: op eiwit- of RNA-niveau, of op DNA-niveau. Onderzoek daarnaar bracht tevens veranderingen in de opzet van de klassieke driefasen trials teweeg.

Sinds de beschrijving van de volledige genetische code in het **DNA** van de mens is het steeds beter mogelijk om op **moleculair** niveau naar kanker te kijken. Dat wil zeggen: wat verandert er in het DNA en/of **RNA** en welke invloed heeft dat op **eiwit** – het eindproduct van een **gen** – dat weer het gedrag van een kankercel bepaalt. Dit soort onderzoek kijkt vooral naar de andere samenstelling van het RNA en eiwitten in kankercellen ten opzichte van gezonde borstcellen. Zo bleek bijvoorbeeld dat in ongeveer 25 procent van alle borsttumoren een bepaald eiwit

in hoge mate aanwezig is, nu bekend als HER2/neu overexpressie.

Levenswerk

Na deze ontdekking toonde de vinder van dat HER2 eiwit, Dennis Slamon, ook de sterke ongunstige prognostische factor van het eiwit aan. Borstkankerpatiënten met HER2 overexpressie, zo waren zijn bevindingen, overlijden vroeger en krijgen eerder uitzaaiingen. Hetgeen wijst op het belang van het eiwit voor de groei en agressiviteit van de tumor.

Inmiddels was bekend dat HER2 ook

een **receptor** is die een signaal doorgeeft aan de kern van de cel om te gaan delen (zie pagina 25). Slamon maakte het tot zijn levenswerk een doelgerichte behandeling te ontwikkelen die specifiek alleen dat eiwit aanpakt. Door samenwerking met een gespecialiseerd bedrijf was het vervolgens mogelijk een antilichaam tegen die receptor te maken.

Klein deeltje muis

Dat begon met muizen die het menselijke HER2 eiwit ingespoten kregen waartegen zij antistoffen aanmaakten. Maar deze kun je bij mensen niet gebruiken, omdat die op hun beurt weer antistoffen zouden aanmaken tegen de muizen-antistoffen. Door een ingewikkelde techniek is het mogelijk die muizen-antistof op een mensen-antistof te laten lijken. Dat wil zeggen: het belangrijkste deel, dat specifiek is voor de binding aan het HER2 eiwit, is maar heel klein en kan daarom van een muis zijn. De rest van het antilichaam bestaat uit een humaan deel, want dat

Waar komt dat neu toch vandaan?

Het HER2 eiwit wordt vaak aangeduid als HER2/neu. Is HER2 iets anders dan HER2/neu? Nee, die naam is gekozen omdat meestal meerdere onderzoeksgroepen tegelijk naar hetzelfde op zoek zijn. Zo ook bij dit – aanvankelijk natuurlijk naamloze – eiwit. Dit kreeg van de ene groep de naam Neu en van de andere HER2. Om verwarring te voorkomen is afgesproken om het HER2/neu te noemen.

doet in de herkenning van het HER2 eiwit niet ter zake. Vervolgens was het moment aangebroken voor een fase I **trial**. Het middel, dat de naam trastuzumab (Herceptin) kreeg, bleek goed verdraagbaar met relatief weinig bijwerkingen. Vervolgens toonde een fase II onderzoek aan dat het aansloeg bij rond 30 procent van de deelnemers. Daarna gaf Slamon de aanzet voor een fase III studie waarbij een combinatie met chemotherapie vergeleken werd met chemotherapie alleen. Die combinatie testte hij met paclitaxel en andere chemotherapie.

Hoe laag is effectief

De combinatie met paclitaxel werkte goed: deze leverde een verlenging van overleving op van gemiddeld een half

Trials: drie fasen, tot nu toe elk met een vaste opzet

Hebben bij de ontwikkeling van nieuwe medicijnen de laboratoriumfase en die met proefdieren een positief effect, dan komt het middel in aanmerking om in trials, verdeeld over drie fasen, bij mensen uit te testen.

Bij een fase I trial is altijd een kleine groep patiënten betrokken voor wie geen standaardbehandeling (meer) voorhanden is. Hoe verdragen zij de nog niet op mensen geteste behandeling? Hoe gedraagt het middel zich binnen het lichaam en welke toedieningsvorm is het meest geschikt? Ook het testen van dosering en toedienings-schema vallen in deze fase, evenals welke bijwerkingen er optreden en hoe de patiënten deze verdragen. Stap voor stap wordt naar de hoogst mogelijke (verdraagbare) dosering gezocht. Fase I kan zich ook richten op een ander toedieningsschema van een bestaande behandeling of nieuwe combinaties. Welke hoogst mogelijke dosis wordt in deze nieuwe toedieningsvorm nog goed verdragen? En wat is de hoogst mogelijke dosis in een nieuwe combinatie en dan ook nog goed te verdragen?

Vaak volgt uit fase I voor welke type

kanker een middel het best inzetbaar is, waardoor in fase II patiënten deelnemen met die bepaalde kankersoort. Deze ook weer beperkte groep patiënten, ook weer met uitzaaiingen, wordt getest op de werkzaamheid van een nieuwe behandeling of een combinatie van een nieuw middel met een bestaande behandeling. Pas in fase III zijn grote aantallen patiënten, vaak in internationaal verband, betrokken. Dit om een nieuwe behandeling in een eerder geteste dosis te vergelijken met een standaardbehandeling. Wat geeft de beste kansen op langere overleving of terugdringen van de ziekte met de minste bijwerkingen? Door de resultaten uit de twee eerste fasen is de verwachting dat de nieuwe behandeling in elk geval niet slechter is dan de standaard.

Wie beslist om mee te doen aan een trial stemt hiermee in door een handtekening te zetten na volledig op de hoogte te zijn gebracht. Dit is het zogenaamde **informed consent**. Omdat nieuwe, doelgerichte middelen in ander-soortige fase I trials getest worden, is aanpassing van de voorlichting hierover dringend gewenst.

Het gaat niet om hoe hoog iemand verdraagt,

jaar. Dat gaf aanleiding om de therapie internationaal ook als **adjuvante** behandeling te onderzoeken. De resultaten daarvan – een daling van ongeveer 50 procent op de kans in de eerste jaren de ziekte terug te krijgen – werden onlangs bekend. Welke combinatie met klassieke chemotherapie de beste resultaten geeft is nog een punt van onderzoek, evenals de vraag in welke dosis. Moet je in een combinatie de standaard (hoogst mogelijke) dosis aanhouden die goed werkt bij een therapie alleen en daar de eveneens hoogst mogelijke

dosis van het tweede middel aan toevoegen? Of moet je beide enigszins naar beneden brengen omdat je anders teveel van het lichaam vergt? Ook worden recent regelmatig een of twee bekende middelen gecombineerd met een nieuw, doelgericht middel. Voor dergelijke combinaties is een nieuw soort studie nodig, anders dan een klassieke fase I of II studie. Immers, je test in ieder geval een of twee middelen waarvan de effectiviteit al bekend is, waardoor er dus al meer zicht is op een responskans. De patiënten beginnen bij-

voorbeeld met een lage dosis van (standaard) paclitaxel, aangevuld met een standaard dosis trastuzumab in combinatie met een nieuw middel, bijvoorbeeld lonafarnib. Het doel is om in die combinatie de optimale doses van alle drie de middelen te vinden. Daarbij kijk je wat betreft het nieuwe middel behalve naar hoe hoog iemand verdraagt, ook naar hoe laag effectief is. Dat gebeurt door na te gaan bij welke minimale dosis het molecuul waartegen het nieuwe middel gericht is, volledig wordt geblokkeerd in normale lichaams-



Jan Klijn

Herceptin. Hoe verder?

Al in 1988 ontwikkelde Marc van de Vijver van het Nederlands Kanker Instituut/Antoni van Leeuwenhoek ziekenhuis (NKI/AVL) met zijn medewerkers een betrouwbare test voor het aantonen van de expressie voor de receptor van de HER2/neu groeifactor op de tumorcel**membraan**. Deze expressie bleek vooral verhoogd bij agressieve vormen van vroege stadia van borstkanker in de klierbuizen van het borstklierweefsel. Enige jaren later toonden John Foekens, Els Berns en Jan Klijn van het Erasmus MC-Daniel den Hoed aan, dat HER2/neu-positieve tumoren bij borstkankerpatiënten gepaard gaan met een slechte prognose. Ook bleken deze pa-

tiënten minder gevoelig voor met name tamoxifen. Nadat in het buitenland de eerste studies met trastuzumab (Herceptin) waren begonnen, startten negen Nederlandse ziekenhuizen, waaronder de beide kankercentra, in 1999 eveneens met een eerste studie bij patiënten met uitzaaiingen van HER2/neu-positieve tumoren. De resultaten waren positief en zeer bemoedigend. Trastuzumab bleek als enkelvoudige therapie effectief bij zwaar voorbehandelde patiënten, had weinig bijwerkingen en versterkte de effectiviteit van standaardvormen van chemotherapie. In 2001 werd het middel in Nederland geregistreerd en in 2002 ontving het de

maar hoe laag effectief is

cellen, zoals wangslimvlies, huid, of witte bloedcellen.

Surrogaatmeting

Het mooie van deze doelgerichte benadering is dat hij zoekt naar het cruciale eiwit dat de cel tot agressief gedrag aanzet. Schakel je dergelijke eiwitten uit, dan ontnem je die kankercel zijn kracht. Of dit is gelukt en of de juiste dosering is bereikt is mogelijk af te meten in ander weefsel dan borstkankerweefsel, zoals hiervoor genoemd. Een methode waar nog wel veel onderzoek

naar nodig is. Als die eiwitten er maar tot expressie in komen is zo'n surrogaatmeting in ander weefsel waarschijnlijk voldoende. Dat kan heel simpel in slijm zijn of zelfs in de huid.

Deze doelgerichte benadering kon alleen tot ontwikkeling komen door het inzicht dat er verschillende subtypen borsttumoren bestaan die elk een aanval op een specifiek molecuul vereisen. Meestal gebeurt dat op eiwitniveau. Maar soms ook op DNA niveau, zoals bij erfelijke borstkanker veroorzaakt door een fout in

het **BRCA1 of -2 gen**. Daarvan is nu bekend dat de genproducten – de eiwitten aangemaakt door de genen – een functie hebben in de reparatie van het DNA (zie pagina 9). Bij dat subtype van borstkanker werkt het DNA reparatiemechanisme niet goed waardoor de kankercellen, in ieder geval in het laboratorium, extreem gevoelig zijn geworden voor bijvoorbeeld PARP (poly (ADP-ribose) polymerase) inhibitors. Dit zijn moleculen die een cruciale rol spelen bij alternatieve DNA reparatiesystemen, als het systeem via BRCA1 of -2 niet meer werkt.

Galenus-prijs als meest innovatieve geneesmiddel. De afgelopen jaren waren zes Nederlandse centra betrokken bij een internationale adjuvantstudie (HERA-trial), waarvan eind mei de eerste studieresultaten gepresenteerd werden tezamen met die van twee Amerikaanse trials. Inmiddels zijn deze ook gepubliceerd. De resultaten waren niet minder dan spectaculair; de kansen op terugkeer van de borstkanker bleken al na twee jaar follow-up gehalveerd. Toch waren er ook problemen. Al in 2003 waarschuwde Jan Klijn dat de toepassing van de HER2/neu-test en het gebruik van deze nieuwe, doelgerichte therapie in veel Nederlandse ziekenhuizen ernstig

achterbleef. Een onderzoek uit juni 2005 van de BorstkankerVereniging Nederland bevestigde dit. Intussen verbeterde de situatie gelukkig wel. Zo is sinds januari 2005 de HER2/neu-test bij de standaarddiagnostiek van borstkanker opgenomen in de NABON richtlijnen, zet Marc van de Vijver zich sterk in voor een goede nationale kwaliteitscontrole van de test en accepteren alle oncologische beroepsgroepen de behandeling met trastuzumab als standaardtherapie. Niet alleen bij patiënten met uitzaaiingen maar ook als adjuvante therapie van een patiënt met een HER2/neu-positieve tumor. Echter, de (complete) vergoeding van de kosten voor dit dure geneesmid-

del is vooralsnog onzeker. Hoe nu verder? Belangrijk is uit te zoeken in welke behandelingsschema's met chemotherapie en/of hormonale therapie trastuzumab het meest effectief is en hoe resistentie voor dit middel is te voorkomen. Belangrijk is ook te weten of doorgaan met het middel bij vervolghandelingen met chemotherapie wegens tumorprogressie in aanmerking komt. Dit om ook de effectiviteit van vervolghtherapieën te verhogen. In dit kader lopen er op initiatief van de Borstkanker Onderzoek Groep (BOOG) Nederland verschillende studies, onder andere naar de toepassing van trastuzumab vóór operatieve behandeling.

Alleen de notaris heeft de sleutel

Floor van Leeuwen over dilemma's bij gebruik van menselijk materiaal



Floor van Leeuwen

Stel je wilt onderzoek doen naar verschil in prognose en ziekteverloop van borstkanker bij 'gewone' borstkankerpatiënten in vergelijking met die waarbij een erfelijke aanleg bestaat. Dit vanuit de vraagstelling of je vrouwen met een erfelijke aanleg mogelijk intensievere therapie moet geven als hun prognose slechter zou zijn. Voor zo'n onderzoek is gebruik van lichaamseigen weefsel noodzakelijk. Een gevoelig onderwerp dat is omringd met allerlei privacybeschermende maatregelen. Wetgeving op dit gebied laat echter al tien jaar op zich wachten. Epidemioloog Floor van Leeuwen van het Nederlands Kanker Instituut/Antoni van Leeuwenhoek Ziekenhuis (NKI/AVL) maakt zich hierover ernstig zorgen. "Niet alleen over die trage voortgang, maar ik ben ook bang dat als de wet er eenmaal is, deze strenger zal zijn dan hoe we nu, naar tevredenheid van zowel betrokken patiënten als onderzoekers, te werk gaan."

In tegenstelling tot de geen-bezwaar werkwijze van de Code Goed Gebruik, vreest Floor van Leeuwen dat de toekomstige wet expliciete toestemming zal eisen van elke patiënt voor alle eventuele nieuwe onderzoeken die met haar restmateriaal worden uitgevoerd. "Niet alleen geeft dat een administratieve rompslomp, maar het zou tevens een enorme tijdsinvestering vergen aan bijvoorbeeld voorlichting,

waar geen financiële middelen tegenover staan. Ook wordt de (ex-)patiënt dan steeds weer lastig gevallen met brieven over haar ziekte, terwijl ze daar juist afstand van wil nemen."

Richting onderzoek onbekend

"Nu gebruiken we dat restmateriaal gecodeerd, waarvoor geen expliciete toestemming nodig is. Het grote voor-

Onderzoek met restmateriaal

Wie onderzoek wil doen met behulp van menselijk materiaal doet dat nu volgens de Code Goed Gebruik. Een code die enige jaren geleden is ontwikkeld door de Federatie van Medisch Wetenschappelijke Verenigingen en alle voorwaarden omschrijft waaraan 'nader gebruik van lichaamsmateriaal voor wetenschappelijk onderzoek' moet voldoen.

Wat is nader gebruik en wat zijn die voorwaarden? Meestal blijft er bij het diagnostisch onderzoek voor therapeutische doeleinden waarbij bloed of een stukje lichaamswefsel wordt weggenomen, wat van dat materiaal over. Of de behandeling zelf bestaat uit het verwijderen van zelfs een heel orgaan. Dit wordt restmateriaal genoemd. Dat wordt in de eerste plaats bewaard omdat het van groot belang kan zijn als vergelijkingsbron voor het geval dat de patiënt later opnieuw klachten krijgt. Zo kan bij een borstkankerpatiënt die veel later ergens een verdachte klier ontwikkelt, worden nagegaan of dit een geheel andere aandoening betreft dan wel een terugkomen van de oorspronkelijke borstkanker. Tevens is dit restmateriaal goed bruikbaar voor allerlei wetenschappelijke doeleinden.

Naar schatting is 2-3 procent van alle vrouwen met borstkanker draagster van een **BRCA1 of -2 mutatie**. Zij hebben levenslang een veel hoger risico op het krijgen van borstkanker dan niet-draagsters, en wel 50 - 85 procent. Tot op heden is echter nog niet duidelijk of deze borstkankerpatiënten andere tumorkarakteristieken hebben en mede daardoor een ander ziekteverloop dan de borstkankerpatiënten met sporadische borstkanker. Hiervoor is onderzoek met opgeslagen lichaamsmateriaal nodig.

Ook medische onderzoekers die niet direct betrokken zijn bij de behandeling kunnen een verzoek indienen tot gebruik van dat restmateriaal. Maar voordat de onderzoekers dit verstrekt krijgen en gebruiken, moet eerst vaststaan dat het betreffende onderzoek aan een aantal voorwaarden voldoet.

Geen bezwaar

Een van de belangrijkste daarvan is dat de patiënt geen bezwaar heeft tegen nader gebruik van haar materiaal; het gaat hier om een passieve instemming, zodat er, uitzonderingen daargelaten, geen expliciete toestemming nodig is voor specifiek onderzoek. Ter bescherming van de privacy is dat materiaal gecodeerd zodat de gegevens voor de onderzoeker anoniem zijn; koppeling van materiaal aan persoonsgegevens is alleen mogelijk met behulp van een sleutel die door de verstrekker van de gegevens wordt bewaard. Als in het restmateriaal zogenaamde gevoelige bepalingen zijn gedaan, bijv. drager-schap van overerfbare afwijkingen, dan kan de onderzoeker overwegen de sleutel in bewaring te geven bij een notaris zodat niemand de uitslag tot de persoon kan herleiden. Over de precieze procedure hiervoor is onlangs een artikel gepubliceerd in de Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde. Verder moet het onderzoek worden verricht aan de hand van een onderzoeksprotocol met daarin een beschrijving van de wetenschappelijke aspecten. Daarnaast zijn de onderzoekers onderworpen aan een klachtenregeling en moet in veel gevallen een medisch-ethische toetsingcommissie toestemming hebben gegeven. Zo'n toetsingscommissie moet aan bepaald vereisten voldoen wat betreft samenstelling; zo komt een aantal leden, meestal een ethicus en een jurist, altijd van buiten de onderzoeksinstelling.

Alleen de notaris heeft de sleutel

deel voor patiënten is dat de vooruitgang van de medische wetenschap daardoor snel kan plaatsvinden. Indien er een nieuw onderzoeks idee is, bijvoorbeeld een nieuwe **tumormarker** of een nieuwe methode in de **DNA** diagnostiek waardoor de prognose of de reactie op een bepaalde therapie beter voorspelbaar is, kun je teruggaan naar de gegevens van mensen die zeg de afgelopen tien jaar overleefd hebben. En dan kun je kijken naar de verschillen tussen hen en degenen die niet overleefd hebben. Als je nieuwe patiënten voor zo'n onderzoek zou moeten werven vanaf het moment dat de nieuwe vinding beschikbaar is, dan ben je zo weer tien jaar verder voordat zo'n studie resultaten laat zien. Niet alleen heel inefficiënt, maar ook een rem op de huidige, technologische ontwikkelingen in de wetenschap. En vaak weten we van tevoren niet voor welk soort onderzoek je mate-

riaal wilt gebruiken en toestemming zou moeten vragen. Niemand weet immers welke richting onderzoek opgaat, zeker met de steeds nieuwere technologische mogelijkheden. Denk maar aan de **micro-arrays**, daarvan wisten we tien jaar geleden niet eens wat dat waren. Die ontdekking was alleen maar mogelijk omdat we zonder expliciete toestemming restmateriaal konden gebruiken dat vanaf 1980 was verzameld, zonder dat toen bekend was waarvoor."

Alleen klinisch

Als voor elke toepassing van restmateriaal toestemming nodig is van de patiënt, dan is de grootste zorg van Van Leeuwen dat behandelend artsen – de verstrekkers van het materiaal dus – er uit tijdgebrek de patiënten niet om zullen vragen. "Dan hebben we wel materiaal, want dat blijft voor klinische doelen hopelijk minstens 25 jaar bewaard,

maar we mogen het alleen klinisch, voor de patiënt zelf, gebruiken. Een stap achteruit dus. Terwijl er zulke goede privacybeschermende methoden zijn om bij gevoelig onderzoek in te zetten."

Gevoelig onderzoek: sleutel bij notaris

Als voorbeeld noemt Van Leeuwen een retrospectief onderzoek van het NKI en een aantal andere ziekenhuizen en instellingen. "Daarin kijken onder andere mijn collega's Marjanka Schmidt, Laura van 't Veer, Rob Tollenaar en ikzelf naar het ziektebeloop bij borstkankerpatiënten met BRCA1 en -2 mutaties. De vraagstelling is of deze patiënten, zoals wel wordt aangenomen, een slechtere prognose hebben dan patiënten met een **sporadische** borstkanker en wellicht een ander soort therapie nodig hebben. Hiervoor onderzoeken we momenteel landelijk restmateriaal uit de periode

Bewaartermijnen

Zoals hierboven al gezegd, restmateriaal wordt eveneens bewaard voor klinische doeleinden. Bijvoorbeeld ingeval de tumor bij een patiënt terugkomt, of als er uitzaaiingen optreden. Maar met de bewaartermijn voor dat restmateriaal is niet alles koek en ei, zo weet Van Leeuwen. "Stel we willen dat materiaal opnieuw bekijken met later beschikbaar gekomen technieken. In het AVL is dat mogelijk, omdat het capaciteit heeft voor het onbeperkt bewaren van materiaal. Maar bij kleinere, of niet-academische ziekenhuizen – en vooral als er fusies zijn – verdwijnt er behoorlijk wat, vaak samen met de

medische dossiers. En dat heeft consequenties, juist voor de patiënten bij wie bijvoorbeeld de kanker terugkomt en er niets meer te vergelijken valt. En dan heb ik het nog maar niet over klinisch en epidemiologisch onderzoek zoals ik dat doe. Wat die dossiers aangaat adviseerde de Gezondheidsraad om deze minstens 25 jaar te bewaren, maar het ministerie van VWS heeft daar 15 van gemaakt. Het waarom van dit willekeurige aantal is volstrekt onduidelijk, en het belemmert in ernstige mate de vooruitgang van het medisch-wetenschappelijk onderzoek. En ik vrees dat het met de bewaartermijn voor lichaamsmateriaal niet veel anders zal gaan."

Onderzoeksresultaten van (klinisch) epidemiologisch onderzoek zijn zelden direct te vertalen in veranderingen voor de behandeling of preventie van ziekten bij de in het onderzoek betrokken patiënten. Onderzoeksresultaten waarvoor dat wel geldt, moeten tot veranderingen leiden ten gunste van alle patiënten en niet alleen voor hen die in het onderzoek zijn betrokken. In principe krijgen patiënten dus nooit informatie over de onderzoeksresultaten tenzij iemand heeft aangegeven dat wel te willen. Bijvoorbeeld omdat zij gebruik wil maken van nieuwe inzichten voor haar individuele behandeling als juist háár lichaamsmateriaal een nieuw kenmerk laat zien dat voor haar toekomstige gezondheid van direct belang is. Maar als de onderzoeksresultaten beschikbaar komen hebben de patiënten doorgaans

de behandeling al jaren tevoren achter de rug. Aanvullende behandelingen hebben dan geen zin meer. Nieuwe informatie hoeft ook niet per se voordelig te zijn, zeker als het gaat om erfelijke eigenschappen die ook voor kinderen of familieleden van belang zijn. Misschien is het informatie die dwingt preventieve maatregelen te overwegen zoals een borstamputatie, of die verplicht is te melden bij het afsluiten van een verzekering en de verzekeraar deze weigert of een hogere premie berekent. Of misschien moet iemand haar leefstijl aanpassen om minder risico te lopen op het krijgen of verergeren van een ziekte. Daarom zal iedere patiënt er anders over denken of zij zulke informatie wel wil ontvangen en wordt deze alleen verstrekt, als dat echt is gewenst en er een medische noodzaak voor is.

1970-1994 van een ongeselecteerde groep van vijfduizend vrouwen die jonger waren dan 50 jaar ten tijde van hun diagnose. Daarmee kunnen we bepalen welke vrouwen draagster zijn van BRCA1 of -2 mutaties en hoe hun ziekteverloop was of is. Let wel, het gaat hier grotendeels om vrouwen en hun families die dit meestal zelf niet weten en waar dus nooit familieonderzoek is gedaan. Buitengewoon gevoelig dus. We hebben dan ook lang nagedacht of we dit wel mochten doen en ons voorstel hōe we het zouden doen aan onze ethiekcommissie voorgelegd. Die ging akkoord, met name vanwege de procedure die uitgaat van gecodeerde gegevens waarvan de sleutel bij een notaris bewaard wordt. Zo is gegarandeerd dat de onderzoeker, ook niet met veel moeite, achter de identiteit van die vrouwen kan

komen. Heel uniek in Nederland, maar beslist aan te bevelen voor andere onderzoeken.”

Geen onrust zaaien

Deze procedure zorgt ervoor dat het bestand van het NKI met daarin alle gevonden mutaties, alleen in aanwezigheid van die notaris gekoppeld kan worden aan de patiëntengegevens wat betreft ziekteverloop en overleving. Dit is de enige manier om te achterhalen welke vrouwen daadwerkelijk al of geen mutaties hebben. Wordt met die kennis iets richting die vrouwen gedaan? Nee, legt Van Leeuwen uit, “we kijken in dit onderzoek niet naar alle bekende mutaties. Daarom kunnen we de vrouwen bij wie we die mutaties niet vinden, niet zeggen dat ze ‘niets hebben’, want er is nog een kleine kans dat ze toch een

mutatie hebben En de vrouwen bij wie we wèl een mutatie vinden overval je met dat bericht natuurlijk enorm, zeker als er in hun familie helemaal geen borstkanker voorkomt. De kans op borstkanker bij draagsters van een mutatie loopt in de wetenschappelijke literatuur nogal uiteen. Daarbij kan er in een familie ook een remmend gen aanwezig zijn waardoor er bij andere familieleden geen vergroot risico bestaat. Dan zaai je alleen maar onrust waar geen opvang voor is. En families waar wel veel borstkanker voorkomt zitten, als zij nader DNA onderzoek wensen, meestal al in het traject van bijvoorbeeld een genetisch centrum en zijn op de hoogte van allerlei mogelijkheden. Na deze afwegingen hebben we dus besloten dat we de individuele resultaten van dit onderzoek niet terugkoppelen.”

Colofon

Genen, fout DNA en Kanker

Over kankeronderzoek, gendiagnostiek, erfelijkheidstesten en doelgerichte therapieën

Een uitgave ter gelegenheid van het symposium
'Genen, fout DNA en kanker', 15 oktober 2005
Aangeboden door het Cancer Genomics Centre,
in samenwerking met de BorstkankerVereniging Nederland

ISBN-10: 9081012215 (per 1.1.2007 ISBN-13: 9789081012218)

Tekst/organisatie

Tekst *N* Redactiewerk, Nicoline J. Ekama van Dorsten, Amsterdam

Eindredactie

Annelies Speksnijder, managing director Cancer Genomics Centre

Vormgeving

I am, AnneMARIKE Pieterse, Noorden

Fotografie

Henk Rougoor, Amsterdam

Druk

De Boer Ecodrukkers, Nieuwkoop



Deze uitgave is gedrukt op Reviva silk fsc gecertificeerd papier met bio-inkt op plantaardige basis, www.ecodrukkers.nl

Cancer Genomics Centre

Stratenum 3.223
Universiteitsweg 100
3584 CG Utrecht
www.cancergenomics.nl



BorstkankerVereniging Nederland
vereniging van borstkankerpatiënten en erfelijk belasten

