

Worden wij beter van embryonale stamcellen?

De Academische Boekengids 34, augustus 2002, pp. 4-5, 14.

Stamcellen, in het bijzonder embryonale stamcellen, staan volop in de belangstelling van de wetenschap en de media. Bij chronische aandoeningen als de ziekte van Parkinson, dwarslaesie, hartfalen en suikerziekte zou therapie met behulp van stamcellen van belang kunnen zijn. Deze ziekten worden veroorzaakt door het verlies van één celtype. Vervanging van de verloren cellen zou in principe de ziekte kunnen genezen. Maar hoe realistisch zijn de veronderstelde therapeutische toepassingen van stamcellen? En wat zijn embryonale kiemcellen?

Stamcellen zijn primitieve cellen die we in alle organismen vinden. Zij zijn in staat om zich te delen, en dus meer stamcellen te produceren, maar ze kunnen zich ook gaan specialiseren en veranderen in bijvoorbeeld hersencellen, hartcellen, spiercellen of niercellen. Er zijn in principe twee typen stamcellen: 'pluripotente' en 'multipotente' stamcellen. Pluripotente stamcellen zijn alleen te vinden in hele vroege embryo's en hebben de potentie *alle* weefsels van het volwassen organisme te vormen. Multipotente stamcellen bevinden zich in de foetus en het volwassen organisme, en kunnen zich slechts in een beperkt aantal celtypen en weefsels specialiseren.

Multipotente stamcellen zijn erg belangrijk voor het repareren van weefsel: na een sneetje in een vinger beginnen stamcellen van de huid zich te delen en te specialiseren om zo de beschadigde cellen te vervangen en de wond te dichten. Pluripotente stamcellen, de embryonale stamcellen, ES-cellen genoemd, zijn slechts zeer kort aanwezig in een embryo, namelijk tot enkele dagen na de bevruchting. Als ze uit het embryo gehaald worden in dit zogeheten *blastocyst* stadium (figuur 1) en in speciale kweekvloeistof worden gebracht, groeien ze eindeloos door totdat ze een signaal of stimulant krijgen om zich te gaan specialiseren en in een ander celtype te veranderen. De signalen kunnen afkomstig zijn van stoffen die aan de kweekvloeistof worden toegevoegd of, als de cellen getransplanteerd worden in een (defect) orgaan van een volwassene, van het omringende (beschadigde) weefsel. ES-cellen vormen zich op deze wijze om tot bijvoorbeeld hartcellen, die dan spontaan beginnen te kloppen, of tot zenuw-(hersen)cellen, waarbij lange zenuwuitlopers worden gevormd. De identificatie van deze signalen en de vraag hoe ze optimaal gebruikt kunnen worden om de gewenste cellen te maken, is op dit moment onderwerp van veel onderzoek.

Naast de ES-cel is er nog een andere pluripotente menselijke cel bekend en dat is de *embryonale kiemcel*. Deze cellen zijn in het laboratorium gekweekt uit de zogenaamde oerkiemcellen die worden geïsoleerd uit de geslachtsorganen van een geaborteerde foetus (figuur 1). Normaliter ontwikkelen deze cellen zich tot de geslachtscellen, dus tot eicellen en sperma. Maar als dit materiaal in een vroeg stadium uit de foetus gehaald wordt en in kweek wordt gebracht onder toevoeging van specifieke groeistoffen, 'ontstaan' cellijnen die tamelijk sterk lijken op ES-cellen. Omdat hierbij geaborteerde foetussen worden gebruikt, zijn er meestal minder ethische bezwaren tegen isolatie en gebruik van deze cellen dan tegen isolatie en gebruik van ES-cellen die uit een, althans na implantatie in de baarmoeder, levensvatbare blas-tocyst worden gehaald. Wetenschappelijk gezien vertonen embryonale kiemcellen echter enkele afwijkingen vergeleken met ES-cellen; het is daarom nog niet duidelijk of ze wel geschikt zijn voor therapeutische transplantatie.

Menselijke ES-cellen en teratocarcinoma

Het lijkt misschien dat de menselijke ES-cellen, voor het eerst beschreven in een publicatie in het tijdschrift *Science* van James Thomson (Universiteit van Wisconsin, VS) in 1998, min of meer uit de lucht kwamen vallen. Niets is echter minder waar. Net als met veel andere spectaculaire doorbraken in het wetenschappelijk onderzoek, zoals bijvoorbeeld het schaap Dolly, is er een lange geschiedenis aan voorafgegaan. In dit geval betreft dat onderzoek in de tumorbiologie, maar vooral onderzoek op het gebied van *in vitro* bevruchting (IVF of reageerbuisbevruchting).

Bijna twintig jaar geleden werden de eerste ES-cellen uit een muizen-embryo gehaald en in kweek gebracht. De muis is een veelgebruikt proefdier en toevallig ook een dier waarin zich een zeer bijzondere tumor - een *teratocarcinoma* - kan ontwikkelen. Dit is een tumor met een zeer snel groeiende populatie van stamcellen, die ervoor zorgt dat de tumor snel groter wordt. Ook bevat deze tumor allerlei gespecialiseerde cellen, zoals spier- en hersencellen en herkenbare structuren, zoals bot, tanden en haren. In feite lijkt dit op een ongestructureerde foetus. De stamcellen van genoemde tumor kunnen in kweek gebracht worden (figuur 1) en maken dan nog steeds de verschillende celtypen die in de tumor en in een embryo te vinden zijn. Dit type tumor ontwikkelt zich uit mannelijke of vrouwelijke geslachtscellen. Patiënten met dergelijke tumoren kunnen tegenwoordig goed behandeld worden - zoals het voorbeeld van de wielrenner Lance Armstrong op spectaculaire wijze laat zien.

Rond de tijd dat het onderzoek met teratocarcinoma-cellen op gang kwam, was IVF al tot een klinisch bruikbare techniek ontwikkeld. Toepassing op steeds grotere schaal had tot gevolg dat er vroege, menselijke embryo's overbleven. Met het oog op eventuele toepassingen van menselijke ES-cellen in

celtransplantatietherapie werden al meer dan vijftien jaar geleden pogingen gedaan om zulke cellen te isoleren uit deze IVF *rest-embryo's*, maar toen zonder succes. Door inmiddels ontwikkelde invriestechieken voor *rest-embryo's*, in principe ten behoeve van de eigenaar-paren, is er nu een grote voorraad aan *rest-embryo's* als potentiële bron voor de isolatie van ES-cellen.

Nadat in november 1998 de eerste succesvolle isolatie van humane ES-cellen uit *rest-embryo's* werd gerapporteerd door de groep van James Thomson, duurde het nog tot april 2000 voordat dit resultaat werd bevestigd door gezamenlijk onderzoek van groepen uit Australië en Singapore. In deze publicaties werd beschreven dat de cellen inderdaad min of meer onsterfelijk zijn en dat ze allerlei celtypen en weefsels kunnen maken als ze in een muis gespoten worden, waarbij zich dan, bijvoorbeeld na injectie onder de huid, een teratocarcinoma vormt. Deze specialisatie zag men ook in een kweekfles na een chemische stimulans.

De isolatie en kweek van menselijke ES-cellen is een eerste, belangrijke stap op weg naar een op ES-cellen gebaseerde therapie. Een eerste proef, maar dan met teratocarcinoma-stamcellen, loopt al twee jaar in de Verenigde Staten. In deze proef hebben elf beroerte-patiënten een transplantatie in hun hersenen gekregen met gespecialiseerde zenuwcellen, afkomstig van teratocarcinoma-stamcellen. De eerste uitkomsten zijn onlangs gepubliceerd. In de hersenen van de patiënten zijn de getransplanteerde cellen nog steeds terug te vinden. Geen enkele patiënt heeft een nadelig effect ondervonden. Twee patiënten vertonen zelfs enige verbetering van hun symptomen. Uit proeven met muizen is echter eerder gebleken dat het risico van tumorvorming bij gebruik van een teratocarcinoma-stamcel vele malen groter is dan wanneer een ES-cel wordt gebruikt. Het is dus een meevaller dat bij genoemde transplantatie kennelijk geen ongedifferentieerde stamcellen zijn meegekomen die tumorvorming hadden kunnen veroorzaken. De studie kan beschouwd worden als een eerste begin van een therapie voor een aandoening waaraan tot nu toe weinig kan worden gedaan. De belangstelling om ES-celtherapie toe te passen in een vergelijkbare klinische trial is uiteraard zeer groot, omdat met zulke cellen het risico van tumorvorming nagenoeg uitgesloten is.

Therapeutische toepassingen bij de mens

Oerkiemcellen ontwikkelen zich in het embryo van de muis kort na implantatie in de baarmoeder, ongeveer 7,5 dag na de bevruchting (figuur 2). Aanvankelijk bevinden zij zich buiten de geslachtsorganen in wording maar vervolgens migreren ze daarheen via de darm. In 1992 is het gelukt deze cellen, net nadat ze in het embryo te vinden zijn, in kweek te brengen. Binnen enkele dagen krijgen zij eigenschappen die op het eerste gezicht niet te onderscheiden zijn van een ES-cel, zoals het vermogen om altijd maar door te blijven groeien, de potentie om zich in kweek te specialiseren en de aanwezigheid van bepaalde biochemische merkmoleculen op het celoppervlak. Ook kwam vast te staan dat embryonale kiemcellen wel degelijk deel kunnen nemen aan de embryonale ontwikkeling, zoals blijkt uit de vorming van zogenaamde chimere embryo's (dat wil zeggen samengesteld uit eigen en ingespoten cellen) na het injecteren van deze cellen in een blastocyst. In 1998 bleek dat ook uit menselijke foetussen embryonale kiemcellen kunnen worden geïsoleerd en dat deze cellen grote overeenkomsten vertonen met menselijke ES-cellen. Nader onderzoek met embryonale kiemcellen van de muis in chimera's heeft intussen verschillende afwijkingen in nakomelingen aangetoond, waardoor toch aan de bruikbaarheid van de menselijke embryonale kiemcellen moet worden getwijfeld. Veel onderzoek met menselijke embryonale kiemcellen is nog niet gedaan, zodat nog moet blijken in hoeverre zulke cellen een reële optie vormen voor celtransplantatietherapie.

De laboratoriumrat en -muis zijn de dieren waarop de eerste proeven met celtransplantatietherapie zijn uitgevoerd. De rat is dan vaak het ontvangende dier van ES-cellen afkomstig van de muis. Al een aantal jaren geleden heeft men laten zien dat ES-cellen van de muis zich tot zenuwcellen kunnen ontwikkelen en enige tijd in leven blijven nadat ze in de hersenen van een rat getransplanteerd zijn. Recent (1999) zijn ratten met een dwarslaesie op deze wijze therapeutisch behandeld. De ES-cellen zijn eerst in een kweekfles aangezet om zich te specialiseren tot zenuwcellen en deze zijn vervolgens naar de plek van de dwarslaesie getransplanteerd. Een aantal weken later bleken de behandelde ratten in staat om hun voorheen verlamde achterpoten weer enigszins te gebruiken. Vertaald naar de situatie bij de mens betekent dit nog lang geen goed nieuws voor dwarslaesie-patiënten. Wel is het te verwachten dat als gevolg van dit type transplantatie bijvoorbeeld een betere controle over de blaasfunctie zou kunnen ontstaan, wat al een verbetering voor deze patiënten zou betekenen. Een kritische kanttekening hierbij is dat de hierboven beschreven proef is uitgevoerd in ratten met een 'verse' dwarslaesie. Bij de meeste dwarslaesie-patiënten bestaat de oorspronkelijke beschadiging al veel langer en heeft het gebied zich inmiddels gevuld met littekenweefsel. Onnodig te zeggen dat er veel meer onderzoek nodig is!

Multiple sclerose (MS) is ook een aandoening die genoemd wordt in verband met stamceltherapie. Bij deze ziekte wordt het myeline-eiwit, dat een soort isolatielaag vormt rond de zenuwen, langzaam afgebroken, waardoor de elektrische geleiding via de zenuwen naar de spieren niet meer goed werkt. Als bepaalde gespecialiseerde cellen, ontstaan uit ES-cellen, worden getransplanteerd in ratten, is het myeline-eiwit weer te vinden. De getransplanteerde cellen maken dit ter plekke. Te veel optimisme is ook hier niet op zijn plaats: het is immers nog onduidelijk welke transplantatietechniek zou kunnen leiden tot re-myelinatie van grote aangetaste delen van het centrale zenuwstelsel. Aangezien het hier een auto-immuun ziekte betreft, is een ander probleem hoe herhaalde vernietiging van het getransplanteerde celmateriaal kan worden voorkomen.

Misschien is transplantatie van alvleeskliercellen die insuline maken bij diabetes (Type 1) wat minder problematisch. Onlangs is gebleken dat deze cellen zich kunnen specialiseren uit ES-cellen van de muis. Ze lijken sterk op de verdwenen cellen, produceren insuline en doen dat door te reageren op de glucose-spiegel in het bloed na transplantatie bij een muis met deze aandoening. Maar ook hier is de weg naar toepassing bij de mens nog lang. Een ander voorbeeld: in muizen met een hartbeschadiging vergelijkbaar met een hartinfarct, zijn hartcellen (*cardiomyocyten*) afkomstig van ES-cellen van de muis in staat gebleken om zich in het beschadigde hart te nestelen. Onduidelijk is nog of deze cellen ook daadwerkelijk de hartfunctie kunnen versterken.

Andere chronische aandoeningen die in aanmerking zouden kunnen komen voor stamceltherapie zijn de ziekte van Parkinson en reuma. Onlangs (december 2001) zijn de eerste uit menselijke stamcellen afkomstige zenuwcellen getransplanteerd naar de hersenen van jonge muizen. De getransplanteerde cellen bleken de transplantatie naar de hersenen te overleven en werden niet afgestoten. Ook behielden ze de specifieke eigenschappen van een zenuwcel. Een voorzichtige conclusie is dus dat de eerste transplantaties van celmateriaal gespecialiseerd vanuit menselijke ES-cellen goed afgelopen zijn. Nu is het wachten op het grootschaliger kweken voor transplantatie naar grotere diersystemen om vervolgens ook daar naar functieherstel te kijken. Het herhalen van transplantatie behoort natuurlijk ook tot de mogelijkheden. Hierbij kan de 'onsterfelijkheid' van ES-cellen van groot belang zijn.

Weefselafstoting bij transplantatie en therapeutisch kloneren

In het geval van de hersenen hebben we te maken met een bijzondere situatie, omdat daar getransplanteerd weefsel niet wordt afgestoten. Maar voor transplantatie naar andere plaatsen in het lichaam is 'matching' tussen donor en ontvanger noodzakelijk. In verband met de problemen rond afstoting komen ook de beladen begrippen '*reproductief en therapeutisch kloneren*' aan de orde. Reproductief kloneren is de techniek die heeft geleid tot de geboorte van het schaap Dolly, waarbij een kern van een lichaamscel gebruikt werd om een compleet dier te maken. Bij therapeutisch kloneren is het niet de bedoeling om een nieuw individu te maken, maar om een blastocyst te verkrijgen waaruit weer ES-cellen geïsoleerd kunnen worden (figuur 2). In de praktijk betekent dit dat een eicel wordt ontdaan van haar eigen kern en dat daarvoor in de plaats een kern van bijvoorbeeld een huidcel (van de patiënt) wordt geplaatst. Hierbij ontstaat een soort 'embryo' zonder bevruchting en een stroomstootje is dan voldoende om de ontwikkeling tot een blastocyst te laten beginnen. ES-cellen uit een dergelijke blastocyst zijn genetisch identiek aan de patiënt waarin ze getransplanteerd kunnen worden en dus vindt er geen afstoting plaats. In het geval van de muis en een apensoort zijn reeds ES-cellen uit zulke gekloneerde embryo's geïsoleerd (figuur 2). Bij de mens is dit tot nu toe niet gelukt.

Onlangs is gepubliceerd dat 'reparatie' van het genetisch materiaal van een op bovenstaande wijze verkregen ES-cel van de muis mogelijk is. Huidcellen van een muis met een mutatie in een gen actief in het immuunsysteem werden gebruikt om ES-cellen uit een gekloneerd embryo te isoleren. Vervolgens werd het defecte gen in de ES-cel vervangen door een gezond gen en werd specialisatie tot bloedvormende cellen op gang gebracht. Deze cellen werden daarna gebruikt voor transplantatie naar het beenmerg van de muis met het genoemde genetische defect. Na transplantatie werd repopulatie van het beenmerg door deze cellen aangetoond, hoewel het onvoldoende was om het immuunsysteem weer effectief te laten functioneren. Dit experiment illustreert hoe toekomstig onderzoek op dit terrein waarschijnlijk zal verlopen. Daarbij moet worden geconstateerd dat de efficiëntie van het therapeutisch kloneren in het algemeen zeer laag is en dat het bij de mens (nog) niet is gelukt. Bovendien zijn er voor het therapeutisch kloneren eicellen nodig en die zijn bij de mens ook weer niet zo gemakkelijk te verkrijgen.

Eerder werd de aanwezigheid van multipotente stamcellen in verschillende organen en weefsels van volwassenen genoemd. Niet alleen de huid heeft stamcellen, maar ook de hersenen, het beenmerg, de skeletspieren en een aantal andere weefsels die in staat zijn om te *regenereren*. Zij zijn echter in zeer kleine aantallen aanwezig en dit aantal neemt ook nog af naarmate iemand ouder wordt. Ze zijn moeilijk te herkennen en dus ook moeilijk te isoleren. De meest gunstige situatie doet zich voor bij het beenmerg, omdat met beenmergcellen al veel ervaring is opgedaan bij transplantaties, zoals bij de behandeling van leukemie. Ook zijn er andere voorbeelden, van transplantatie en functioneel herstel bij een hartinfarct in de muis tot het terugvinden van gespecialiseerde cellen in ver uitlopende weefsels na injectie van beenmergcellen in de bloedbaan. Dit verschijnsel illustreert een duidelijk vermogen bij deze cellen om zich te specialiseren. Bij apen zijn ook stamcellen uit de hersenen geïsoleerd en gebruikt bij Parkinson-achtige aandoeningen bij deze dieren. Het grote probleem is dat dit type stamcellen bijna niet meer te vinden is bij oudere mensen en grote chirurgische ingrepen nodig zouden zijn om ze te bemachtigen.

Een zeer recente - mogelijk controversiële - vondst op dit gebied is dat embryonale en beenmerg-stamcellen met gewone lichaamscellen onder kweekomstandigheden kunnen fuseren en dan de eigenschappen van beide celtypen laten zien. In hoeverre dit een rol zou kunnen spelen bij bovengenoemde observaties dat beenmergcellen kenmerken vertonen van cellen in het orgaan waar zij zich bevinden na transplantatie, is nog onduidelijk. Een andere weg is een aantal jaren geleden al bewandeld, toen er voor de behandeling van de ziekte van Parkinson foetaal hersenweefsel, afkomstig van abortussen, met enig succes is getransplanteerd in de hersenen van een klein aantal patiënten. Het grote probleem hierbij is dat er wel tien foetussen nodig zijn voor de behandeling van één patiënt. Daarom zijn oplossingen met cellen uitgerust met een eindeloze capaciteit om te kunnen delen - zoals

ES-cellen of stamcellen uit het beenmerg - te prefereren.

De stand van zaken en het maatschappelijk draagvlak voor ES-celonderzoek

Menselijke ES-cellen zijn pluripotent, onsterfelijk en kunnen met hoge efficiëntie (50%) geïsoleerd worden uit ingevroren rest-embryo's. Zowel ES-cellen als stamcellen uit het beenmerg bieden potentiële mogelijkheden voor toepassing bij de behandeling van verschillende chronische aandoeningen via celtransplantatietherapie. In beide gevallen is (veel) meer onderzoek nodig. Er is nu onvoldoende basiskennis beschikbaar om al een keus te maken. Hoewel het waarschijnlijk is dat ES-cellen uiteindelijk bij een breder scala van aandoeningen toegepast kunnen worden, is er op dit moment veel meer klinische ervaring met transplantatie van beenmergcellen. Gezien de positieve resultaten met transplantatie van teratocarcinoma-cellen in patiënten na een beroerte, is het waarschijnlijk dat op korte termijn vergelijkbare klinische trials zullen beginnen met ES-cellen. Andere chronische ziekten, zoals die van Parkinson, zouden ook in aanmerking kunnen komen, aangezien er in de hersenen nauwelijks sprake is van afstoting. Voor de meeste andere aandoeningen moet men denken aan een beduidend langere termijn waarop toepassing in de kliniek zullen worden gerealiseerd.

In het najaar van 2001 werd in ons land een wetsvoorstel over het gebruik van rest-embryo's met ruime meerderheid door de Tweede Kamer aangenomen. De Eerste Kamer volgde kortgeleden, op 18 juni 2002, eveneens met een ruime meerderheid. De embryowet is vergelijkbaar met de al van kracht zijnde wetgeving in Groot-Brittannië, met uitzondering van het onderdeel *therapeutisch kloneren*. Het parlement aanvaardde daarmee de relatieve beschermwaardigheid van het embryo ten opzichte van de potentiële voordelen voor de chronisch zieke patiënt. Tegenstanders blijven met name de christelijke partijen voor wie het embryo absolute bescherming verdient vanaf de bevruchting. Therapeutisch kloneren blijft de eerste drie tot vijf jaar na inwerkingtreding van de embryowet verboden, maar de regering kan na die periode door een koninklijk besluit daarin verandering aanbrengen. Voorafgaand aan de behandeling in de Tweede Kamer was er een maatschappelijke discussie en heeft de Gezondheidsraad in zijn advies een grondige evaluatie gemaakt van de klinische, ethische en maatschappelijke voor- en nadelen van onderzoek met rest-embryo's.

Waarschijnlijk door deze discussies is er voor Nederlandse onderzoekers weinig te merken geweest van maatschappelijke weerstand, zeker niet tegen het gebruik van reeds (elders) geïsoleerde cellijnen. In november 2000 heeft het Hubrecht Laboratorium in Utrecht twee (en later vier) humane ES-cellijnen van de eerdergenoemde Australische/Singapore groep voor eigen onderzoek geïmporteerd. De desbetreffende lijnen zijn opgenomen in een officieel register dat in de Verenigde Staten is samengesteld, en komen derhalve ook in aanmerking voor mogelijke financiering van gemeenschappelijk onderzoek met onderzoeksgroepen in de VS. Zoals dat meestal gebeurt, heeft ook het stamcelonderzoek, mede door de enorme media-aandacht bij het publiek, tot overtrokken verwachtingen geleid. Het in stelling brengen van de sterke patiëntenlobby in de Verenigde Staten als wapen in de strijd om de politiek aldaar van het belang van stamcelonderzoek te overtuigen, heeft hiertoe bijgedragen. Nu moet ernaar worden gestreefd om de verwachtingen over dit veelbelovende, maar nog lang niet volwassen onderzoeksterrein tot de juiste proporties terug te brengen. Tegelijkertijd zal maatschappelijk en ethisch verantwoord onderzoek in deze sector dienen te worden gestimuleerd.

Christine Mummery en **Paul van der Saag** zijn senior onderzoekers aan het Hubrecht Laboratorium, Nederlands Instituut voor Ontwikkelingsbiologie, Utrecht.