

EPIGENETICA EN ZIEKTE

Erfelijke factoren buiten het DNA verklaren ziekten

Epigenetica als onderzoeksterrein is hot. Het onderzoek naar erfelijke eigenschappen die niet verankerd zijn in het DNA, komt pas net goed op gang. Toch zijn er al medicijnen die ingrijpen op het epigenoom.

EVERT PRONK

Tien jaar geleden was het nog vloeken in de kerk: beweren dat verworven eigenschappen overerfbaar zijn. Alsof Jean Baptiste Lamarck (1744-1829) gelijk zou hebben dat giraffen zo'n lange nek hebben omdat hun voorouders deze steeds verder rekten om bij hoge blaadjes te komen. Te gek voor woorden. Inmiddels zijn er wetenschappers die het hardop durven te zeggen. Niet dat giraffen zo aan hun lange nek komen, maar wel dat verworven eigenschappen kunnen overerven.

Onderzoekers van Duke University toonden een paar jaar geleden aan dat genetisch identieke moedermuizen door een verschil in dieet, nakomelingen krijgen met een anders gekleurde vacht. Als de zogeheten agoutimuizen voor en tijdens de zwangerschap veel foliumzuur eten, krijgen ze donkerbruine nakomelingen in plaats van lichtbruine. Wel een beetje raar, maar nog niet onvoorstelbaar. Genen staan immers onder invloed van externe factoren. Maar nu dit. Het verschil in vachtkleur houdt vervolgens nog generaties stand. Bovendien blijkt uit analyse van het DNA dat er aan de volgorde van de 'genetische code' niets is veranderd.

Wat is er bij de agoutimuizen gebeurd? Hoewel er niets aan de volgorde van het DNA is gewijzigd, is er wel iets met de bouwstenen aan de hand. Niet met de nucleotiden A, T en G, maar wel met cysteïne (C). In tegenstelling tot bij de lichtbruine muizen vonden de onderzoekers bij de donkerbruine dat aan de nucleotiden in het gen dat codeert voor de vachtkleur, methylgroepen vastzaten. Het gen dat normaliter zorgt voor een lichte vacht is hierdoor direct of indirect -

daar is men nog niet volledig uit - geïnactiveerd. De methylering blijkt bovendien te worden doorgegeven aan het nageslacht. En dat alles door voeding. Foliumzuur is namelijk rijk aan methylgroepen.

TWEELINGEN VERANDEREN

Genen met methylgroepen aan de cysteïnes blijken dus inactief. Hoe wijdverspreid en belangrijk dit fenomeen is, toonden Spaanse onderzoekers onlangs in een artikel dat online werd gepubliceerd in *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Zij lieten zien dat de mate van DNA-methylatie bij een-eiige tweelingen in de loop der jaren sterk verandert. Een bevruchte eicel heeft nog een epigenetische code. Tijdens de ontwikkeling van het embryo wordt deze code grotendeels verwijderd en vervolgens ontstaat er een nieuwe. De Spaanse onderzoekers lieten zien dat bij drie-

rol spelen bij een aantal ontwikkelingsstoornissen zoals het Angelman-syndroom en het syndroom van Beckwith-Wiedemann. Deze ziekten hebben gemeen dat er zogeheten *imprinted genes* bij betrokken zijn. Bij gezonde mensen is een kopie van het gen afkomstig van ofwel de moeder ofwel de vader, gemethyleerd en inactief. Dat moet ook, want een overdosis aan genproduct van deze genen is ongezond. Echter, als er bij de bevruchting op epigenetisch niveau iets niet goed gaat en de methylgroepen verdwijnen, ontstaan de aandoeningen.

De bovengenoemde ontwikkelingsstoornissen komen waarschijnlijk relatief vaker voor na in-vitrofertilisatie (IVF). Het vermoeden is dat er in de kunstmatige omgeving van de bevruchting op epigenetisch niveau iets misgaat. Onderzoekers van de Vrije Universiteit Amsterdam toonden twee jaar geleden

Verworven eigenschappen kunnen overerven

jarige een-eiige tweelingen het methylatiepatroon nog nagenoeg gelijk is. Bij een-eiige tweelingen van 50 jaar zijn er onder invloed van externe factoren grote verschillen in methylering ontstaan en daarmee ook in genactiviteit. De een-eiige tweelingen gaan in de loop van de tijd als het ware minder op elkaar lijken. Deze moleculaire veranderingen aan het DNA of aan structuren betrokken bij het aflezen van het DNA heet epigenetica.

Maar wat heeft epigenetica van doen met ziekte? Van alles. Het is duidelijk dat epigenetische factoren een belangrijke

aan dat retinoblastomen relatief vaker voorkomen bij kinderen die na IVF zijn geboren. In die publicatie en het commentaar erop in *The Lancet* wordt de oorzaak voor deze bevinding gezocht in de medicijnen die zijn gebruikt voor de IVF-behandeling. In latere publicaties is geopperd dat het ook het gevolg kan zijn van epigenetische factoren.

TUMORGROEI

Dat epigenetische factoren een rol spelen bij het ontstaan van kanker, zoals een retinoblastoom, is niet verwonder-

lijk. Bij deze vorm van kanker is een tumorsuppressorgen betrokken. Als een dergelijk gen is uitgeschakeld doordat er een methylgroep aan bindt, dan is een belangrijke bescherming tegen tumor-groei verdwenen.

‘We denken dat de epigenetica heel belangrijk is bij het ontstaan van kanker’;

Sommige leukemiepatiënten hebben baat bij ingrepen op het epigenoom

benadrukt prof. Henk Stunnenberg. ‘Ter illustratie; de American Association for Cancer Research is momenteel bezig met het opstellen van een *white paper* waarin ze aangeven dat er 1 à 2 miljard dollar nodig is voor onderzoek naar epigenetica.’

Stunnenberg is hoogleraar moleculaire biologie aan het Nijmegen Center for Molecular Life Sciences en sinds kort ook aan het UMC St Radboud. Met een internationaal consortium doet hij epigenetisch onderzoek. Stunnenberg is de coördinator van het project HEROIC (*Highthroughput Epigenetic Regulatory Organisation In Chromatin*) waarvoor de Europese Gemeenschap een subsidie van 12 miljoen euro heeft toegezegd.

Het internationale consortium richt zich op methylatie maar ook op andere epigenetische factoren. ‘De vraag is of methylering de oorzaak of het gevolg is van de ziekte. DNA-methylering is weliswaar wat we zien bij afwijkingen, maar we willen weten wat daaraan voorafgaat. Wij kijken daarom ook naar andere factoren waarvan wel duidelijk is dat ze een primaire rol spelen in epigenetische processen zoals het aan- en uitzetten van genen.’

Stunnenberg geeft een kort college over die andere factoren. ‘DNA ligt in de cel verpakt in zogeheten nucleosomen. Hierbij zijn de nucleotiden gewikkeld om vier eiwitten, die histonen heten. In deze verpakte vorm zijn genen niet af te lezen. Wij doen onderzoek naar de factoren die betrokken zijn bij het afleesbaar maken - uitpakken - en weer inpakken van het DNA. Het is al bekend dat dit gaat via de staarten van histonen die uit het nucleosoosom steken. Aan deze staarten kunnen - net zoals een methylgroep aan een cysteine - allerlei ‘epigenetische moleculaire verbindingen’ hangen die signalen aan de

omgeving afgeven. ‘Ze vormen een soort streepjescode die bijvoorbeeld aangeeft dat een onderliggend gen in deze cel niet wordt gebruikt omdat het een spiercel betreft. Of juist dat dit gen na replicatie moet worden geactiveerd voor verdere specialisatie van de cel. Dit is in elke cel anders. We hebben dus één genoom

maar potentieel miljoenen epigenomen. Bovendien verandert het epigenoom in de loop van de tijd.’

MILJOENEN COMBINATIES

‘Er zijn zo’n vijftig modificaties zoals acetylering, ubiquitineren, methylering, fosforylering bekend’, legt Stunnenberg uit. ‘Samen met de vier histonen betekent het dat er in theorie enkele miljoenen combinaties mogelijk zijn. Voor zover we weten zijn het er niet zo veel, maar er zijn combinaties van modificaties die leiden tot activering van genen en deactivering van genen. Wij willen weten hoe de biochemische samenstelling van die epi-

genetische laag er nu precies uitziet. Met andere woorden: wáár op het genoom hangen welke barcodes. Dat kunnen we met biochiptechnologie onderzoeken.’

HEROIC houdt zich bezig met het epigenoom van de muis. ‘Hiervoor hebben we gekozen omdat we muizen genetisch kunnen manipuleren. We kunnen kijken wat er met het epigenoom gebeurt als we bepaalde genen uitschakelen. Een andere reden is dat Amerikaanse onderzoeksconsortia al met een stuk of twaalf laboratoria een groot onderzoek naar humane epigenetische factoren aan het doen zijn. Dit project heet ENCODE wat staat voor *Encyclopedia of DNA Elements*.’

OUDERWETS

Een tweede epigenetisch project waarin Stunnenberg participeert, gaat over de epigenetische behandeling van neoplastische ziekten. Nu al klinisch onderzoek terwijl de epigenetica nog in de kinderschoenen staat? ‘Het is een beetje ouderwetse geneeskunde. We weten weliswaar niet precies wat er gebeurt, maar het is wel duidelijk dat bijvoorbeeld een deel van de patiënten met leukemie baat heeft bij middelen die ingrijpen op het epigenoom.’

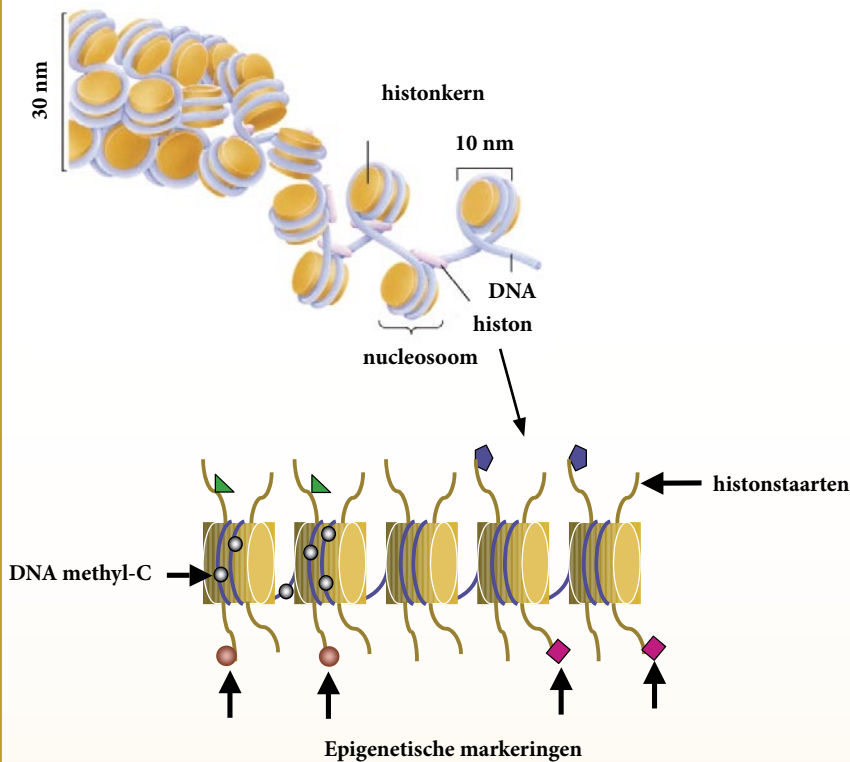
Twee epigenetische geneesmiddelen die momenteel voorhanden zijn in >>

Prof. dr. Henk Stunnenberg: ‘Epigenetische factoren zijn belangrijk bij het ontstaan van kanker’.



BEELD: DE BEELDEDAKTE, ERIK VAN T'HELENAAR

NUCLEOSOMEN EN HISTONEN



Het DNA is in de verpakte vorm (nucleosoom) niet af te lezen. Moleculen aan de staarten van histonen die uit de nucleosomen steken, bepalen of een gen wel of niet wordt afgelezen.

ARJEN BRINKMAN, NIMMIGEN CENTER FOR MOLECULAR LIFESCIENCES

hoogde gevoeligheid voor de epigenetische middelen die we nu kennen, moet je uitzoeken wat er in het epigenoom precies mis is om te kijken of daarop valt in te grijpen. Dat is veel lastiger. Bij het Angelman-syndroom zul je vermoedelijk dergelijk diepgravend onderzoek moeten doen.'

De komende jaren zal, net zoals voor het genoom is gedaan, het epigenoom in kaart worden gebracht. De kennis over de DNA-regulerende factoren leidt volgens Stunnenberg tot nieuwe inzichten in het genoom. 'Wij hebben in cellen van een gezonde proefpersoon onderzocht waar op het X-chromosoom staarten van een histon zijn geacetyleerd. Dit laat zien waar op dat chromosoom actieve genen liggen. Als je daar de kaart met bekende genen overheen legt, dan zie je dat er ook histonen zijn geacetyleerd in gebieden waar helemaal geen genen liggen. Of tenminste; geen genen die voor eiwitten coderen. Wat daar aan de hand is? Er ligt daar belangrijke informatie opgeslagen die niet via eiwitten wordt gecommuniceerd. Dat is voor sommigen even wennen. De wereld is eiwitgericht. Maar het is nu al duidelijk dat een van de miRNA's (miRNA's zijn korte RNA-moleculen waarvoor de code in het DNA ligt, *EJP*) een cruciale rol speelt in de hematopoese. Het is een kortlevend RNA-product en geen eiwit. *So what!*

'Behalve de 30.000 eiwitcoderende genen zijn er waarschijnlijk min-

klinische tests, zijn de deacetylase-inhibitoren trichostatine A (TSA) en het voormalige anti-epilepticum valproïnezuur (VPA). Stunnenberg: 'Een acetylgroep aan een staart van een histon betekent activering van een gen. Deacetylering leidt tot inactiviteit. Met TSA en VPA kun je dat proces tegengaan. Het wordt nu in tal van trials bij verschillende tumoren getest.'

Epigenetische factoren zijn in alle cellen continu in de weer. Toch treden er bij gebruik van VPA en TSA geen ernstige bijwerkingen op. 'De middelen zijn weliswaar nog niet specifiek, maar dat blijkt bij leukemie geen probleem omdat een kankercel hypergevoelig is voor het ingrijpen op het epigenoom. Met een lage dosis kun je apoptose veroorzaken. Waarom dat zo is, weten we nog niet, maar dat zal patiënten een rotzorg zijn.'

VPA en TSA zijn volgens Stunnenberg geen wondermiddelen. 'Voor genezing moet je net als bij chemotherapie alle cellen raken. Het zal eerder een toevoeging zijn aan bestaande therapieën. In combinatietherapieën is bovendien de kans op resistentie lager.'

Een ander epigenetisch medicijn is azacitidine. Dit middel is vorig jaar door de FDA goedgekeurd voor de behandeling van de preleukemische beenmergfafwij-

king myelodysplastisch syndroom. Het middel kan methylgroepen verwijderen en daarmee genen reactiveren.

IN KAART BRENGEN

Volgens Stunnenberg is de epigenetica ook van belang bij andere aandoeningen dan kanker en afwijkingen met *imprinted genes*. 'Je kunt geen ziekte bedenken of er moet een verandering in het epigenetische patroon zijn opgetreden. De ceileigenschappen zijn veranderd dus er is ook iets met het epigenoom. VPA wordt op experimentele basis ook toegepast bij psoriasis. Dat kan omdat daarbij sprake is van hyperproliferering. Dit kun je epigenetisch blokkeren. Als de ziekte echter niet gepaard gaat met een ver-

'Bij elke ziekte treedt er een verandering in het epigenetische patroon op'

stens evenveel genen die coderen voor miRNA's, siRNA's (short interfering RNA's, *EJP*) of andere regulerende RNA's. Deze bepalen vermoedelijk de expressie van de eiwitcoderende genen. De kennis over genen, eiwitten, regulatie van DNA via epigenetische factoren, zal ons steeds meer inzicht verschaffen in ziektes en steeds meer aanknopingspunten voor behandelingen.' ■

Relevante artikelen over epigenetica vindt u via www.medischcontact.nl/dezeweek.

