

# Malarialab LUMC op vaccinjacht

Onderzoek naar malaria is gecompliceerd. Met speciaal ontwikkelde technologie lukt het LUMC-onderzoeker dr. Chris Janse om malariaparasieten genetisch te modificeren, met hopelijk een kansrijk vaccin als resultaat.

*Door Els van den Brink, gepubliceerd in het Laboratorium Magazine van oktober 2010*

‘Binnen tien jaar hebben we een malariavaccin!’ Het is een veelgedane voorspelling die nu eindelijk reëel lijkt te zijn. “Het werd al geroepen toen ik in 1983 begon met dit onderzoek, maar ondertussen is het vaccin er nog steeds niet”, zegt dr. Chris Janse, hoofd van de Leiden Malaria Research Group in het LUMC. Hij kan dat wel verklaren. “Destijds wisten we nog veel te weinig af van de basale biologie van de malariaparasiet. Ondertussen hebben we een knaagdiermodel van malaria opgezet en zijn we zover dat we onze resultaten direct kunnen vertalen naar de humane parasiet.” Samen met het Amerikaanse bedrijf Sanaria en het UMC St Radboud ontwikkelt Janse een vaccin op basis van verzwakte parasieten met subsidie van Topinstituut Pharma. De resultaten bij knaagdieren zijn veelbelovend, de eerste testen bij menselijke vrijwilligers staan in de planning.

## Levenscyclus

Een malariavaccin is keihard nodig. Jaarlijks sterven ruim één miljoen mensen aan malaria. Vijfhonderd miljoen mensen raken geïnfecteerd. Geneesmiddelen zijn er wel, maar niet altijd tijdig voorhanden. “Veel geneesmiddelen blijken toch bijwerkingen te hebben of ze werken niet meer vanwege resistentie”, vertelt Janse.

De ontwikkeling van een malariavaccin is echter niet eenvoudig. De eerste complicerende factor is het feit dat de malariaparasiet een protozoa is, een eencellig organisme dat veel lijkt op menselijke cellen. Door die gelijkenis is het moeilijk om een doelwit te vinden dat echt specifiek is voor malaria. Een tweede complicerende factor is de complexe levenscyclus van de malariaparasiet. Deze doorloopt verschillende stadia, die niet alleen verschillen qua lokalisatie, maar ook qua verschijningsvorm en eiwitsamenstelling. De malariaparasiet dringt het lichaam van mens of dier binnen via een muggenprik, migreert vervolgens naar de lever en dringt tenslotte de rode bloedcellen binnen. Pas in dat laatste stadium ontstaan de bijbehorende ziekteverschijnselen zoals koorts, spierpijn en hoofdpijn. Als een andere mug deze patiënt steekt, komt de parasiet in de maag en daarna in de speekselklieren van deze mug. Die kan vervolgens weer andere mensen of dieren infecteren. Vanwege al deze verschillende stadia is het kweken van malariaparasieten in een laboratorium lastig. Janse en zijn collega’s kunnen de stadia in het bloed nabootsen, evenals een aantal stadia in de mug, maar voor de complete levenscyclus is dat *in vitro* nog niet mogelijk. De onderzoekers kweken de parasieten eerst in bloed. Die dienen ze dan via speciale membraanvoeders toe aan muggen, die tenslotte knaagdieren kunnen steken.

## Verstoppen

“Een vaccin op basis van één of enkele eiwitten zou wat mij betreft het mooiste zijn”, verzucht Janse. Dat zou ook het meest eenvoudig te produceren zijn. Helaas blijkt dat bij malaria erg lastig. Voor een dergelijk vaccin zijn eiwitten nodig die specifiek zijn voor malariaparasieten in alle verschillende stadia en die duidelijk herkenbaar zijn voor het immuunsysteem. Doordat malariaparasieten zich verstoppen in rode bloedcellen of levercellen en bovendien regelmatig de eiwitten op hun celoppervlak veranderen, zijn er nog geen eiwitten gevonden voor een effectief synthetisch eiwitvaccin.

## FLP-recombinase

In samenwerking met de groep van prof. Sauerwein van het UMC St Radboud werkt Janse daarom aan een vaccin op basis van verzwakte parasieten. Het bedrijf Sanaria verzwakt de parasieten in eerste instantie door bestraling, maar

Janse ontdekte dat dit ook mogelijk is door genetische modificatie. Dat klinkt eenvoudiger dan het in werkelijk is. Genetische modificatie mag dan zo langzamerhand een standaard techniek zijn in de life sciences, dat geldt beslist niet voor de genetische modificatie van malariaparasieten. Janse en zijn collega's ontwikkelden hiervoor speciale technologie. Door het weghalen van enkele genen konden ze de parasiet zodanig verzwakken, dat die hooguit de lever kan bereiken en dus geen ziekteverschijnselen kan veroorzaken. "We hebben dit al voor elkaar gekregen in knaagdieren, en zijn nu bezig met de humane variant", vertelt Janse. "Technisch is dit moeilijk. Bij genetische modificatie voeg je resistentiefactoren toe als selectiemarkers. Zo kun je gemodificeerde parasieten selecteren. Voor medische toepassing is het noodzakelijk om deze resistentiefactoren later te verwijderen. Dat is ons gelukt. De gebruikte methode was al bekend bij andere organismen, maar wij hebben dit ontwikkeld voor malaria, op basis van een bekend recombinase-enzym dat DNA kan wegknippen tussen twee specifieke DNA-sequenties."

### **Subsidie**

Janse en zijn collega Shahid Khan kwamen op het idee om tegelijkertijd met het verwijderen van genen ook andere genen toe te voegen, bijvoorbeeld om de immuunrespons te versterken of de overdracht van de parasiet naar andere personen te verminderen. Khan ontving hiervoor eind 2009 een subsidie van de Bill & Melinda Gates Foundation en hoopt binnenkort de eerste resultaten van dergelijke genetische modificaties te bekijken.

### **Back-up**

De daadwerkelijke toepassing van dit vaccin laat helaas nog even op zich wachten. De malariaparasiet blijkt een effectief back-upsysteem te hebben. De parasiet kan ondanks de verzwakkende genetische modificatie toch weer aansterken. Janse probeert daarom andere genen te vinden om de parasiet blijvend te verzwakken. Daarnaast kunnen subsidieverstrekkingen nog roet in het eten gooien. "De financiering van dit soort onderzoek verloopt moeizaam, omdat veel subsidies vooral gericht zijn op medische problemen in de westerse wereld", zegt Janse. Nu hij echter zo ver is gekomen, hoopt hij het vaccinontwikkelingstraject ook te kunnen afmaken.

### **Kunstmatig chromosoom**

Een van de nieuwste hoogstandjes op het gebied van genetische modificatie van malariaparasieten is de mogelijkheid om een compleet chromosoom bij de parasiet binnen te brengen. Deze technologie was al bekend bij gist, maar nog niet mogelijk bij malaria. Het voordeel is dat onderzoekers hiermee grotere stukken DNA kunnen inbrengen. Die kunnen bijvoorbeeld dienen voor onderzoek naar de ontwikkeling van resistentie tegen malariageneesmiddelen. Het LUMC neemt dan een resistente parasiet, hakt daarvan het genoom in stukken en brengt dat in gedeeltes in bij niet-resistente parasieten. Op die manier hoopt de onderzoeksgroep van Janse te achterhalen welke genen een rol spelen bij de resistentieontwikkeling.

### **Lichtgevende muizen**

Sinds een jaar of vijf kan Janse malariaparasieten labelen met lichtgevende eiwitten zoals *Luciferase* of *Green Fluorescent Protein (GFP)*. Zo kan hij levende parasieten niet alleen volgen in een fluorescentiemicroscoop, maar ook in levende muizen door middel van bioluminescentie. Deze lichtgevende eiwitten komen in alle stadia van de parasiet tot expressie, waardoor de onderzoekers de parasiet precies kunnen volgen vanaf het allereerste moment van infectie en nauwkeurig de effectiviteit van een vaccin kunnen testen. De gevoelige camera's van het IVIS imaging systeem kunnen die bioluminescentie van de parasieten met ingebouwd *Luciferase* of *GFP* gen precies volgen. Als de onderzoekers muizen bijvoorbeeld infecteerden door beten van muggen met deze gemodificeerde parasieten, konden ze na 48 uur de parasieten zien ophopen in de lever. Als ze echter muizen vooraf vaccineerden met verzwakte parasieten, zagen ze 48 uur na infectie helemaal geen parasieten in de lever, of hooguit nog een klein beetje.