

Commissie Dierproeven, Transgenese en Biotechnologie

Verslag van de expert meeting 'Toekomstscenario's voor biomedisch onderzoek op primaten' 28 mei 2002



Commissie Dierproeven, Transgenese en Biotechnologie

---

Verslag van de expert meeting 'Toekomstscenario's voor biomedisch onderzoek op primaten' 28 mei 2002



---

## Inhoud

Voorwoord 7

Inleiding

P.C. van der Vliet 9

Primaatmodellen voor de studie naar virusinfecties: kunnen we zonder hen?

A.D.M.E. Osterhaus 10

Primaten voor de studie van de immunologie van infectieziekten

T.H.M. Ottenhoff 13

Non-human primates in malaria research

O. Puijalon 15

Hepatitis C onderzoek en de noodzaak van het gebruik van primaten hierbij; zijn er alternatieven?

W.J.M. Spaan 17

Non-humane primaten in multiple sclerose (ms) onderzoek

J. D. Laman 19

Immunogenetica in primaten

R.E. Bontrop 22

Relevantie van primate studies voor klinische transplantaties

F.H.J. Claas 25

Is na-ape een alternatief? Ideeën over de alternatieven voor het testen van primaatspecifieke medicijnen tegen artritis

T.W.J. Huizinga 27

Het functioneren van primaten in een sociale context: de sociale ethologie en socio-ecologie van primaten

J.A.R.A.M. van Hooff 29

Hoe relevant zijn primaten in cognitief neurowetenschappelijk onderzoek?

V.A.F. Lamme 32

Vormen genetisch gemodificeerde muizen een alternatief voor biomedisch onderzoek met primaten?

A.J.M. Berns 34

Discussie 36

Verklarende woordenlijst 38

De sprekers 40

Samenstelling organiserende commissie 41



---

## Voorwoord

In de Centrale Commissie Dierproeven, het adviesorgaan dat het ministerie van vws adviseert inzake dierproeven, werd in 2001 geconstateerd dat de discussie in Nederland rond het gebruik van primaten in dierexperimenteel onderzoek zich aan het verharderen was. Om deze discussie weer op het juiste spoor te zetten heeft de afdeling Dierproefvraagstukken van de Universiteit Utrecht (uu) in 2002 het initiatief genomen om een aantal dialoogbijeenkomsten te organiseren over de toekomst van het onderzoek met primaten in Nederland. Dit project 'Primatenonderzoek in Nederland' stond onder leiding van prof. dr. Tj. de Cock Buning van de afdeling Dierproefvraagstukken van de uu. Het project bestond uit drie bijeenkomsten die alle in 2002 plaatsvonden. De eerste bijeenkomst had een inventariserend karakter en was bedoeld om in een informele sfeer van gedachten te wisselen over de toekomst van het primatenonderzoek in Nederland. De tweede bijeenkomst had als doel de wetenschappelijke aspecten van het toekomstige primatenonderzoek te bespreken. De derde bijeenkomst bestond uit een meer beleidsmatige discussie over dit onderwerp waarbij op basis van de eerste twee bijeenkomsten een aantal toekomstscenario's voor het Nederlandse primatenonderzoek is besproken. Het eindrapport van het project zal naar verwachting in het najaar van 2003 worden gepubliceerd.

De tweede bijeenkomst is in nauwe samenwerking met de heer De Cock Buning door de Commissie Dierproeven, Transgenese en Biotechnologie van de knaw op 28 mei 2002 georganiseerd. In de onderhavige publicatie zijn de lezingen, die op deze dag zijn gehouden, samengevat weergegeven, evenals de aansluitende algemene discussie. Deze samenvattingen zijn, in nauwe samenwerking met de sprekers, door het secretariaat van de Commissie Dierproeven, Transgenese en Biotechnologie opgesteld.

Prof. dr. A. J. van der Eb,  
voorzitter cdtb  
oktober 2003





---

## Inleiding

P.C. van der Vliet, dagvoorzitter, hoogleraar fysiologische chemie aan de Universiteit Utrecht en voorzitter van de Afdeling Natuurkunde van de knaw

Het gebruik van primaten in biomedisch onderzoek is een gevoelig en veel besproken onderwerp in Nederland. In de vele discussies die hierover gevoerd worden nemen vooral de ethische overwegingen een belangrijke plaats in en het maatschappelijk draagvlak voor de experimenten is niet erg groot. Hierdoor is er vaak commotie rond de werkzaamheden van het Biomedical Primate Research Center te Rijswijk (**bprc**). Toch overheerst in de wetenschappelijke wereld de mening dat bij onderzoek naar ziekten, die een gevaar voor de volksgezondheid vormen en bij patiënten een grote vermindering van kwaliteit van leven veroorzaken, het gebruik van primaten onmisbaar is. Op verzoek van de overheid is in 2001 een rapport verschenen van de knaw-Primatencommissie onder voorzitterschap van prof. dr. A. Berns over de noodzaak van het gebruik van primaten in biomedisch onderzoek. Hierin wordt geconcludeerd dat het wetenschappelijk biomedisch onderzoek waarbij gebruik wordt gemaakt van de chimpansee, beëindigd kan worden. Echter, het gebruik van andere niet-humane primaten wordt door de Primatencommissie van vitaal belang geacht voor het onderzoek naar de oorzaak van veel ziekten en voor het onderzoek naar verbetering van de orgaan- en weefseltransplantaties. Het advies werd grotendeels overgenomen door de Nederlandse overheid. Zij wil echter wel bewerkstelligen dat onderzoek met behulp van niet-humane primaten uiteindelijk geheel beëindigd wordt. Ze onderkent ook dat dit nu nog niet mogelijk is vanwege de noodzaak van het gebruik van primaten voor een aantal biomedische experimenten, en een gebrek aan goede alternatieven.

Tijdens dit symposium staat het belang van het gebruik van primaten in biomedisch onderzoek ter discussie. De nadruk ligt op specifieke gebieden in de gezondheidszorg waarin het gebruik van primaten nog steeds noodzakelijk is. De sprekers is gevraagd het belang van het gebruik van primaten in hun onderzoek weer te geven en mogelijke alternatieven voor dit gebruik te bespreken. Het gaat hierbij specifiek over de wetenschappelijke aspecten van het gebruik van primaten in biomedisch onderzoek. De politieke en ethische discussiepunten worden tijdens deze bijeenkomst niet besproken. Daarvoor is ruimte geweest in één van de andere bijeenkomsten die deel uitmaken van het project 'Primatenunderzoek in Nederland'.

---

## Primaatmodellen voor de studie naar virusinfecties: kunnen we zonder hen?

A.D.M.E. Osterhaus, hoogleraar Virologie aan het Instituut voor Virologie van de Erasmus Universiteit Rotterdam

Jaarlijks sterven er vele duizenden mensen aan infectieziekten als Acquired Immune Deficiency Syndrome (**aids**), mazelen en influenza. Hoewel het pokkenvirus is uitgeroeid, bestaan van dit virus nog voorraden die zijn opgeslagen in laboratoria. Hiervan wordt nu gevreesd dat ze in handen zullen komen van terroristen.

Veertig miljoen mensen zijn **hiv**-geïnfecteerd, drie miljoen mensen overlijden jaarlijks aan **aids**. Er bestaat een therapie, maar deze leidt niet tot volledige genezing en is onbereikbaar voor de meeste **aids**-patiënten vanwege de hoge kosten. Het is vooralsnog onbekend hoe we het menselijk lichaam kunnen beschermen tegen de **hiv**-infectie. Hiervoor is onderzoek nodig naar de virusgastheer interactie. Aan het Erasmus Medisch Centrum Rotterdam is door middel van *ex vivo* experimenten met humane bloedcellen een aantal cruciale aspecten van deze interactie in kaart gebracht.

Vervolgens zijn er vele *in vitro* studies gedaan waarbij gebruik werd gemaakt van klonen van cytotoxische T-lymfocyten en is een mathematisch model van de infectie ontwikkeld, waarin te zien is in welke mate, op welk tijdstip en met welke efficiëntie deze T-lymfocyten het virus kunnen bestrijden. Daarna zijn er experimenten uitgevoerd met Severe Combined Immunodeficient (**scid**)-muizen, die humane cellen bevatten en zijn er ook *in vivo* (**siv**) vaccinatie-experimenten met makaken uitgevoerd. Dit alles resulteerde in een gepatenteerde procedure waarbij de industrie fondsen beschikbaar stelt voor de eerste vaccinatie-experimenten met mensen.

Voor de verdere ontwikkeling van een vaccin tegen **aids** zijn primate modellen ook in de toekomst onontbeerlijk. Hoewel de werking van een ziekte of de eerste ontwikkeling van een vaccin in *ex vivo* studies op humaan materiaal wordt uitgevoerd, blijven experimenten op primaten noodzakelijk. Dit om de benodigde testen, zoals bijvoorbeeld verschillende doses bij een vaccinatieproef, uit te voeren. Het niet gebruiken van primate modellen zal de ontwikkeling van een vaccin met wellicht 5 jaar vertragen en dan zullen er zo'n 15 miljoen mensen extra sterven aan **aids**.

Vertegenwoordigers uit de groep der paramyxovirussen veroorzaken onder andere mazelen, waaraan per jaar bijna één miljoen kinderen overlijden. De uitroeiing van het mazelenvirus middels grootscheepse vaccinatie campagnes vordert, maar toch is er een nieuw vaccin nodig. Het levend mazelenvaccin zal moeten worden vervangen door een nieuwe generatie mazelenvaccins welke er ook op de lange termijn voor moet zorg dragen dat er geen aan het mazelenvirus verwante virussen uit de dierenwereld de vrijgekomen niche bij de mens zullen innemen. Tegenwoordig moet daarnaast rekening worden gehouden met (her)introductie van pathogenen in de menselijke populatie als gevolg van een bioterroristische aanslag, bijvoorbeeld met het pokkenvirus. Het enige geschikte model voor de ontwikkeling van een nieuw vaccin tegen mazelen en pokken is het makakaakmodel.

Eén tot twee procent van alle kinderen moet gedurende hun eerste levensjaar in het ziekenhuis behandeld worden voor een ernstige luchtweginfectie veroorzaakt door **rsv** (ook een paramyxovirus). Ontwikkeling van een **rsv** vaccin is moeilijk vanwege het risico van de inductie van immunopathologie: het optreden van gastheer afweerresponsen welke het verloop van de

infectie juist sterk verergeren. In de jaren zestig werd dit pijnlijk duidelijk in een rsv-vaccinatiestudie waarbij gevaccineerde kinderen niet beschermd waren tegen rsv-infecties maar juist een zeer ernstig verloop van de rsv-infectie vertoonden, soms zelfs fataal. Uit later onderzoek naar de werking van dit experimenteel vaccin werd duidelijk dat de resultaten verkregen met muismodellen niet altijd overeen komen met de bevindingen in runderen (bovine-rsv), wat extrapolatie naar de mens onzeker maakt. Bij experimenten met primaten worden na toediening van het destijds gebruikte experimentele vaccin lichamelijke reacties waargenomen die identiek zijn aan die van de kinderen in de fatale vaccinatiestudie. Het Erasmus Medisch Centrum is een samenwerking aangegaan met bedrijven die rsv-vaccins in ontwikkeling hebben, waarbij kandidaat vaccins in primaten worden getest. Dit resulteerde in het stopzetten van deze ontwikkeling bij één van de bedrijven aangezien er tijdens een primaatexperiment en in een fase 1 'clinical trial' een specifiek type immuunrespons werd gevonden welke geassocieerd is met een ernstig verloop van de rsv-infectie, zoals waargenomen in de beschreven vaccinatiestudie in de jaren zestig. Met behulp van deze proeven op primaten kunnen andere vaccins in ontwikkeling ook gescreend worden, waardoor eerder duidelijk wordt of ze werkzaam zijn en welke bijwerkingen verwacht kunnen worden.

Recent hebben wij een nieuw paramyxovirus, het humaan metapneumovirus, ontdekt dat veel lijkt op rsv. Het ziektebeeld is sterk vergelijkbaar met dat van rsv, wat de noodzaak voor de ontwikkeling van een vaccin aangeeft. Met behulp van experimenten op primaten kan naar immuunpathologische complicaties worden gezocht en kunnen kandidaat-vaccins snel getest worden. De vaccins kunnen theoretisch gezien ook op kinderen getest worden, maar dit is evenals bij de reguliere vorm van rsv erg riskant. Tevens zal het gehele proces van vaccinontwikkeling worden versneld als er gebruikt wordt gemaakt van experimenten met primaten.

Influenza heeft de afgelopen eeuw vele sterfgevallen veroorzaakt. De gedachte dat het influenzavirus kan overspringen van vogels op mensen werd in 1997 bevestigd toen in Hongkong een jongen stierf aan influenza. Dit virus doodde daar 6 mensen en infecteerde er 18. Alle kippen in de omgeving werden afgemaakt en uiteindelijk stopte dit de infectie. In een primaatmodel werd één groep primaten met het 'H3 virus' (het reguliere influenzavirus) en een andere groep met het 'H5 virus' (een veel sterkere, dodelijke variant) besmet. De tweede groep ontwikkelde precies hetzelfde ziektebeeld als de geïnfecteerde mensen in Hongkong. Afkomstig van vogels kan het influenza 'H5 virus' dus het menselijk lichaam infecteren en zich tevens handhaven met mogelijk fatale afloop. Met behulp van experimenten op primaatmodellen kan bekeken worden wat bepaalt dat mensen gevoelig voor influenza zijn, welke genen belangrijk zijn bij het overnemen van influenza door mensen van vogels en wat de precieze oorzaak van de ziekte is. Dit inzicht is van groot belang voor de ontwikkeling van een nieuwe generatie effectievere influenza vaccins.

Voor het begrijpen van het mechanisme van infectie en het ontwikkelen van vaccins tegen infectieziekten met een groot gevaar voor de menselijke gezondheid en de kwaliteit van leven is het gebruik van primaten onvermijdelijk doch noodzakelijk. Het gebruik van primaten is van belang om de pathogenese te bestuderen en om preventief deze ziekten te bestrijden. Maar het gebruik van primaten hiervoor moet onder strikte voorwaarden gebeuren: eerst moeten de mogelijkheden voor *ex vivo* experimenten met menselijk materiaal en het gebruik van andere proefdiermodellen uitgeput zijn. Dan pas is het geoorloofd om primaten in te zetten. Er mogen echter geen onnodige herhalingen van experimenten gedaan worden en de ethische normen voor het gebruik van proefdieren voor medisch onderzoek moeten worden gerespecteerd. In Europa is het gebruik van primaten in medische experimenten niet geaccepteerd wat als gevolg heeft dat onderzoekscentra,

waar primaten gebruikt kunnen worden, langzaam verdwijnen. Dit heeft consequenties voor het onderzoek naar en de ontwikkeling van vaccins tegen bovengenoemde ziekten. Sinds twee jaar is een niet meer weg te denken terroristische dreiging ontstaan wat naast de al bestaande behoefte aan vaccins en therapieën, de noodzaak van dit onderzoek nog eens onderstreept en wat duidelijk maakt dat het voortbestaan van primatencentra een absolute noodzaak is.

---

## Primaten voor de studie van de immunologie van infectieziekten

T.H.M. Ottenhoff, hoogleraar Immunologie aan de Universiteit Leiden

Tuberculose (tbc) is wereldwijd een groot probleem. Op dit moment is 1/3 van de wereldpopulatie besmet en sterven er jaarlijks twee tot drie miljoen mensen aan deze ziekte, voornamelijk in Afrika, in Zuidoost Azië en in Zuid-Amerika. Tuberculose is een infectieziekte die wordt veroorzaakt door de tuberculosebacterie (*Mycobacterium tuberculosis*). Een infectie met deze bacterie kan leiden tot een ernstige aantasting van de longen. Longtuberculose is de meest voorkomende vorm van tuberculose, maar de ziekte kan ook ontstaan in andere delen van het lichaam, zoals de nieren, gewrichten of lymfeklieren. Zonder goede behandeling kan de patiënt steeds ernstiger ziek worden en uiteindelijk overlijden.

Er wordt nog steeds gebruik gemaakt van het in 1920 ontwikkelde bcg-vaccin. Er is lang gedacht dat tbc vanzelf zou verdwijnen, zeker met behulp van de multi-drug behandeling, maar niets is minder waar: er komen juist, wereldwijd, patiënten bij. Dit is te wijten aan de grote migratiedrang die mensen over de gehele wereld hebben. Daarbij ontwikkelen zich steeds meer vormen van tbc die meervoudig resistent blijken te zijn. Vanwege de gedachte dat de ziekte vanzelf zou verdwijnen werd er niet veel aandacht aan de ontwikkeling van een nieuw vaccin besteed. Pas in 1993 werd, dankzij de World Health Organisation (who), het onderzoek naar vaccins gecontinueerd.

Bij het ontwikkelen van een vaccin is het noodzakelijk om de ontwikkelde kandidaat-vaccins op diermodellen te testen om de vaccins te optimaliseren en het meest belovende vaccin voor gebruik in een 'clinical trial' te selecteren. Maar voor de opheldering van mechanismen die ten grondslag liggen aan de ziekte is fundamenteel onderzoek noodzakelijk; de werking van de ziekte in het menselijk lichaam is nog niet goed bekend, er is nog veel te leren over een mogelijke bescherming tegen tbc in het menselijk lichaam, en het effect van eerdere blootstelling aan andere bacteriën en/of bcg-vaccinatie op vaccinatie met een nieuw vaccin is nog onbekend. Ook hiervoor zijn diermodellen noodzakelijk.

Eén van de in gebruik zijnde diermodellen is de genetisch aangepaste muis. Helaas is het effect van de tbc-infectie bij deze muizen erg afhankelijk van de muisstam die gebruikt wordt. Ook is de oorzaak van infectie bij de muis verschillend van die bij de mens, is het reactiveren van latente tbc in muizen zeer moeilijk te bewerkstelligen en is lange termijn onderzoek naar de effecten van vaccinatie niet mogelijk. Een ander nadeel van dit model is dat de muis geen cd1-, A-, B- en C-moleculen heeft. Wanneer deze belangrijk zijn bij de ziekteontwikkeling, is dat in muisexperimenten dus niet aan te tonen. Ook al zou dit in de toekomst kunnen worden opgelost door de muizen genetisch aan te passen, dan nog zullen veel onoverbrugbare verschillen tussen muizen en mensen blijven bestaan.

Naast de muis wordt ook het caviamodel gebruikt. Cavia's zijn zeer gevoelig voor tbc, maar hun immuunsysteem is slecht gekarakteriseerd waardoor het verkrijgen van inzichten in de mechanismen die hierin een rol spelen erg moeilijk is.

Het primaatmodel daarentegen bootst vele klinische en hispathologische aspecten van menselijke tbc na: het heeft een goed gekarakteriseerd immuunsysteem, tbc kan van nature in deze dieren voorkomen en de oorzaak van de ziekte is in deze dieren haast identiek aan die van mensen. Ook is de ziekteontwikkeling in de longen gelijkend op die bij de mens: een welhaast georganiseerde, duidelijk begrensde ontsteking. Dit in tegenstelling tot die bij een cavia, waar sprake is van een hevige, massale ontsteking. Omdat tbc via aerosolen wordt overgedragen is de intra-traculaire weg van infectie wellicht het belangrijkste onderwerp voor onderzoek en deze kan in dit model vrij gemakkelijk gemanipuleerd worden. In de jaren '60 is het model in de resusaap ontwikkeld. Deze soort is erg gevoelig voor tbc, is makkelijk te infecteren, maar ontwikkelt alleen acute tbc en geen chronische, de vorm die juist vaak bij mensen voorkomt.

Vanwege de algemene gedachte dat tbc vanzelf zou verdwijnen is er pas in de jaren '90 een beter model ontwikkeld voor het tbc-onderzoek: de cynomolgusaap. Dit model is relatief resistent tegen tbc, kan zowel acute als chronische/ latente tbc ontwikkelen en is makkelijk te infecteren. Een opmerkelijk verschil tussen beide primaatmodellen openbaart zich in de bescherming door het bcg-vaccin: uit proeven blijkt dat resusapen niet goed te beschermen zijn met behulp van het bcg-vaccin in tegenstelling tot de cynomolgusaap. Beide aapmodellen representeren in wezen de twee vormen van gevoeligheid voor tbc die in de menselijke populatie voorkomen: de resusaap staat voor het gevoelige fenotype en de cynomolgusaap voor het meer resistente fenotype.

In een Europees samenwerkingsverband tussen 40 verschillende laboratoria en bedrijven worden vaccinaties tegen tbc ontwikkeld, wat na 2 jaar al een aantal interessante kandidaat-vaccins heeft opgeleverd. Daarvan heeft één kandidaat-vaccin een zelfde uitwerking op een tbc-infectie als het bcg-vaccin. Bij dit onderzoek worden eerst de testmogelijkheden in het muismodel en het caviamodel volledig gebruikt. Vervolgens wordt *in vitro* bekeken of het kandidaat-vaccin door het menselijke immuunsysteem wordt herkend. Pas als aan deze vereisten voldaan is wordt overgegaan op het gebruik van een primaatmodel.

Het belang van primaten in biomedisch (tbc-)onderzoek ten opzichte van andere diersoorten kan worden samengevat in de volgende punten:

Primaten representeren een diermodel met tbc-fenotype dat veel gelijkenis vertoont met het humane fenotype, met vergelijkbare klinische en pathologische kenmerken.

De evaluatie van de werkzaamheid van nieuwe kandidaat-vaccins is in dit model veelbelovend.

Na vaccinatie kan de immunrespons worden voorspeld.

Er kan onderzoek worden gedaan naar de mechanismen achter de bescherming tegen tbc.

Er kan onderzoek worden gedaan naar betere 'correlates of protection'.

Primaten kunnen gebruikt worden om optimale vaccinformuleringen te bepalen.

Primaten kunnen gebruikt worden om vast te stellen wat ten grondslag ligt aan de verschillen in gevoeligheid voor tbc, zoals bij de gevoelige resusaap en de relatief resistente cynomolgusaap.

Primaten kunnen gebruikt worden om de pathogenese van tbc in vatbare gastheren beter te begrijpen door een vergelijking te maken tussen de pathologie en de immunologie in genoemde primaatmodellen.

---

## Non-human primates in malaria research

O. Puijalón, hoofd afdeling Moleculaire immunologie van parasieten van het Pasteur Instituut Parijs

Malaria affects 300 to 500 million people annually, and of these one to two million die as a direct result of the disease. Although often thought of as a tropical disease, malaria is not only confined to tropical countries. Because of high migration rates countries such as France report 6000 new imported cases every year and several dozen deaths due to malaria occur in the EU each year.

The malaria parasite (*Plasmodium sp.*) has a complex life cycle that alternates between developmental phases in an invertebrate host, the mosquito *Anopheles sp.*, and a vertebrate host. Injection of the parasite during mosquito feeding is first followed by an exo-erythrocytic developmental phase (this occurs within cells of the liver in mammalian hosts). The parasite then enters the bloodstream to initiate an erythrocytic cycle, where it infects and destroys red blood cells. During this blood phase, sexual forms of the parasite are also produced that can be taken up by feeding mosquitoes. Inside the mosquitoes sexual reproduction takes place, generating new sporozoites, thus enabling transmission to other hosts. Whereas the exo-erythrocytic phase is clinically silent, the erythrocytic cycle causes a wide range of more or less severe clinical symptoms.

Current malaria control relies on vector control using insecticides, vector avoidance using impregnated bed nets and prompt treatment of clinical cases by anti-malarials. Unfortunately, the increasing resistance of *Anopheles sp.* to insecticides and the alarming spreading of parasite resistance to multiple drugs threaten these measures. There is an urgent need to develop novel control tools, in particular cheap, affordable anti-malarial drugs and efficacious vaccines. The complexity of the life cycle calls for the separate study of specific stages either *in vitro* or *in vivo*. The only stage that can be cultivated *in vitro* for research at relatively large scale on a routine basis is the erythrocytic cycle of the human parasite *P. falciparum* and the monkey parasite *P. knowlesi*. Efforts are being made to generate *in vitro* culture systems for other stages for several *Plasmodium sp.*

Over 100 *Plasmodium* species have been described, and many show species-specific characteristics. For example, the exo-erythrocytic phase in the vertebrate host does not take place in the liver for all species and the duration of the blood stage cycle varies from 21 hrs to 72 hrs. Most importantly, *Plasmodium* parasites show a quite restricted vertebrate host range. The four human malaria species infect humans and can be adapted to infect some non-human primates, but do not infect small laboratory animals.

Murine models, using parasites originally isolated from African rodents, provide convenient experimental systems, and are being extensively used in studies on basic molecular and cellular biology, physiology, pathology and drug development. However, pathology observed with the murine malaria species differs substantially from pathology observed in human malarial infections. Similarly, immune defence mechanisms in murine models differ in several aspects from the defence mechanisms described so far in humans exposed and protected against malaria. Non-human

primates are used at many levels of investigation in experimental studies with malaria. They can be used as experimental hosts of simian malaria, including parasites such as *P. cynomolgi* that are phylogenetically very closely related to the major human parasite *P. vivax*. For the development of vaccines and drugs, the close relationship between the non-human primate immune system and physiology and the human situation allows investigations of responses that more reliably extrapolate to human infection.

The narrow host range of human malaria species necessitates the use of non-human primates as experimental hosts. Experimental infection with controlled doses using well-characterised strains or genetically manipulated parasites, opens the possibility to identify critical parasite virulence factors and to study parasite evasion mechanisms under immune or drug pressure. Research on non-human primates is thus critical in the evaluation/validation of intervention strategies and in pre-clinical safety/toxicity studies.

A few New World species of *Aotus* and *Saimiri* monkeys are uniquely susceptible to infection with human malaria parasites. These species have particular value in evaluating vaccine and drug efficacy. At the Pasteur Institute, a malaria infection model has been developed using the squirrel monkey, *Saimiri sciureus*, which is susceptible to *P. falciparum* and *P. vivax* blood infection. In order to carry out experiments using animals with a controlled sanitary status and with homogeneous age groups, a breeding facility has been established at the Pasteur Institute of French Guiana. This *Saimiri* model is now used to investigate parasite and host factors contributing to fitness and virulence, using immunomodulation of the host by drugs or transfer of immune effectors on the one hand, and genetically modified parasites on the other hand. *Saimiri* immunisation trials with *P. falciparum*-derived antigens showed that immunogenicity in this non-human primate differed quantitatively and qualitatively from immunogenicity in small laboratory animals, such as mice, rats and rabbits. This is in line with most phase 1-2 malaria vaccination trials, which showed that antibody titres and/or cellular responses elicited by vaccine candidates in humans differed markedly from those observed in small animals.

Because non-human primates possess an immune system similar to humans they are often used to test the safety and immunogenicity of vaccine components and formulated candidates before embarking on expensive clinical trials. Old World monkeys are most frequently used in these analyses. In a recent study at the bprc a vaccine candidate showed a marked toxicity that had not been apparent in prior tests in small animals including mice. This highlights the differences between rodent and primate immune systems. Importantly, as a result of these findings, plans for clinical trials of the candidate were postponed until the toxicity problem had been solved. In addition, the fact that *Aotus* monkeys immunised with some vaccine candidates experienced severe anaemia or marked nephropathy during the experimental challenge infection reinforces the case for including susceptible non-human primates in the pre-clinical development path of malaria vaccines.

Non-human primates are not needed at all steps in malaria research. Their use is critical in issues such as immunogenicity studies, safety studies, proof of principle for novel intervention strategies, in drug testing for pharmacokinetics and safety/efficacy studies. Numerous other questions can be addressed in more accessible models, such as murine models or *in vitro* models, where both the parasite and the host can be genetically manipulated. The limitations of each model and the peculiarities of each host/parasite relationship involved should be known to avoid premature extrapolations. It is clear that different models are needed for different questions, and that each can be used to contribute to a better understanding of malaria pathology and malaria parasites.



---

## Hepatitis C onderzoek en de noodzaak van het gebruik van primaten hierbij; zijn er alternatieven?

W.J.M. Spaan, hoogleraar Virologie aan de Universiteit Leiden

Op dit moment zijn ruim 150-200 miljoen mensen wereldwijd geïnfecteerd met het hepatitis C virus, en in sommige ontwikkelingslanden is 25 tot 30% van de bevolking geïnfecteerd. Negen miljoen geïnfecteerden zijn in Europa woonachtig en ieder jaar komen er wereldwijd drie à vier miljoen patiënten bij. Dit ondanks het feit dat infectie door middel van bloedtransfusie in de Westerse landen niet meer voorkomt. Hepatitis C is verantwoordelijk voor veel gevallen van leverkanker en is één van de belangrijkste redenen waarom levertransplantaties uitgevoerd moeten worden. Een vaccin is (nog) niet beschikbaar.

Het virus heeft maar twee gastheren: de mens en de chimpansee. Het virus is in de chimpansee gekarakteriseerd en in 1999 is het virale genoom van dit virus beschreven dankzij onderzoek aan het chimpanseemodel. Deze bevinding is de basis geweest voor diagnostiek en screening assays waardoor de infecties door middel van bloedtransfusies nu niet meer voorkomen. Zonder chimpanseemodel was dit veel later bekend geworden. Hierdoor zijn een groot aantal nieuwe infecties voorkomen. Dit model heeft tevens bijgedragen aan het begrip van de transmissie van het virus, van de genetica drift van het virusgenoom, van het ontstaan en het verloop van een infectie en van de immunorespons van de gastheer. Ook is het in het chimpanseemodel mogelijk het eerste infectiestadium te volgen, wat bij patiënten onmogelijk is, omdat er tijdens dit stadium nog geen symptomen zichtbaar zijn en deze mensen dus niet naar een arts gaan.

Andere primaatsoorten dan de chimpansee kunnen gebruikt worden voor bijvoorbeeld het testen van de immunogeniteit. De infectie zelf kan alleen in de chimpansee of in de mens bestudeerd worden. Binnenkort zal het chimpanseeonderzoek in Nederland echter verboden worden, waardoor het vaccinonderzoek in Europa stopgezet wordt. Andere problemen die het onderzoek naar hepatitis C bemoeilijken zijn een gebrek aan een klein diermodel, de weinige kennis die beschikbaar is over de werking van de replicatie van het virus, de vele verschillende genotypen van het virus, de nog onbekende 'correlates of protection' en de zeer snelle uitbreiding van het virus na besmetting, wat de ziekte oncontroleerbaar maakt.

Onderzoek naar potentiële alternatieven voor primaatmodellen is in volle gang. Zo is er kort geleden in een Duits laboratorium een cellijn ontdekt waarbij de interactie tussen het virus en de gastheercel beter begrepen kan worden. Tevens is deze ontdekking van belang voor de ontwikkeling van antivirale medicijnen. In de toekomst zal deze cellijn kunnen helpen bij onderzoek naar resistentie tegen medicijnen en mutaties van het virus, waarmee kan worden geanticipeerd op toekomstige therapieën. Dit systeem is echter niet in staat het virus te produceren, hiervoor is meer onderzoek nodig. In de toekomst zal de toepassing van een kunstmatige lever bruikbaar worden voor hepatitis C-onderzoek. Om in de behoefte aan een klein diermodel te kunnen voorzien worden muizen aangepast met humane levercellen, om bijvoorbeeld allerlei antivirale medicijnen te testen. Deze techniek zal waarschijnlijk de basis vormen voor allerlei toekomstige technieken op dit

gebied. Er is ook een ‘Trimer model’ ontwikkeld, waarin humane bloedcellen of weefsels (in dit geval leverfragmenten) geïmplanteerd worden in bestraalde muizen. Dit model wordt gebruikt om de werkzaamheid van antiviralen te testen. Omdat hierbij humaan weefsel uit het lichaam wordt gehaald en daarbuiten een test ondergaat spreekt men hier van *ex vivo* experimenten.

In de toekomst zal duidelijk worden of deze studies de experimenten met chimpansees kunnen vervangen. Hopelijk wordt het in de toekomst mogelijk humane genen in een muismodel te brengen om delen of zelfs de gehele replicatiecyclus van het virus na te kunnen bootsen.

In Europa is een hepatitis C onderzoekscluster werkzaam dat uit vier netwerken bestaat die allen onderzoek doen met als doel de ontwikkeling van een preventief of therapeutisch vaccin. Ieder netwerk heeft een eigen specialisme; zo is er een netwerk dat zich richt op de werking van het virus en de interactie tussen het virus en de gastheercel. Door een ander netwerk worden ‘immune correlates of protection’ gedefinieerd wat veelal gebeurt met behulp van patiëntcohorten. Een derde netwerk richt zich op het testen van antigenen op knaagdiermodellen en het vierde netwerk test de vaccins, die in knaagdiermodellen functioneel blijken, op resusapen en vervolgens op chimpansees. Ook houdt dit laatste netwerk zich bezig met het ontwikkelen van een alternatief diermodel, dat van de Toepaja (*Tupaia glis*). Dit is echter nog niet succesvol gebleken.

Er wordt dus veel onderzoek gedaan naar een goede vervanging voor de primaatmodellen voor het onderzoek naar hepatitis C en hopelijk levert dit in de toekomst goede alternatieve modellen op.

---

## Non-humane primaten in multiple sclerose (ms) onderzoek

J. D. Laman, universitair hoofddocent Immunologie aan de Erasmus Universiteit Rotterdam

Multiple sclerose (ms) is een auto-immuunziekte van het centraal zenuwstelsel (czs) waarbij zowel de isolerende myelinelag als het axon van de zenuwcellen degenereren. Dit wordt veroorzaakt door een wisselwerking tussen zenuwcellen en de centrale celtypen van het immuunsysteem, namelijk T- en B-lymfocyten en macrofagen. Mensen met ms hebben diverse vormen van sensore en motorische stoornissen, met dikwijls ernstige verlamningsverschijnselen. De ziekte is al meer dan een eeuw bekend en ondanks intensief onderzoek is nog steeds onbekend hoe de pathologie precies wordt veroorzaakt. Zo is het onzeker of infecties een doorslaggevende rol spelen of dat het belangrijkste defect in het immuunsysteem zelf schuilgaat. Een complicerend aspect van de ziekte is de grote verscheidenheid aan ziektebeelden tussen patiënten, omdat het individuele ziektebeloop het resultaat is van de interactie tussen genen, de omgeving (bijv. infecties), en toeval. Er is vooralsnog geen effectieve therapie beschikbaar.

Het gebruik van proefdieren in het ms-onderzoek is noodzakelijk voor verbeterd begrip van de pathogenese, een versnelde ontwikkeling van een effectieve therapie, en voor een sterk gereduceerd risico tijdens het testen van nieuwe behandelingen in ‘clinical trials’. Het is dus nuttig onderscheid te maken tussen toxiciteitstesten van nieuwe geneesmiddelen in proefdieren, en daadwerkelijke ziektemodellen voor ms. Het is uitgesloten dat met menselijke vrijwilligers vergelijkbare progressie kan worden gemaakt als met proefdieren, gezien de zeer beperkte mogelijkheden van experimenten in de mens, en de lange duur van ‘clinical trials’ in ms, die dikwijls rond de twee jaar kosten.

Het ideale diermodel voor ms moet genetisch, immunologisch, microbiologisch en neurologisch een grote gelijkenis met de mens vertonen. Ook het ziekteverloop in het model moet uiteraard sterk op MS lijken, en nieuwe geneesmiddelen, waaronder ‘biologicals’ die heel soortspecifiek zijn, moeten erin op werkzaamheid getest kunnen worden. Tenslotte zou een diermodel op geen enkele ethische of economische barrière mogen stuiten. Het is evident dat zo’n ideaal model niet bestaat. De meeste modellen maken gebruik van knaagdieren, met name ratten en muizen. Dieren worden in de huid geïnjecteerd met een sterk adjuvant (‘responsversterker’) met daarin myeline componenten. Dit leidt tot ontwikkeling van autoreactieve lymfocyten die sterke ontsteking van het czs veroorzaken en tot verlamningsverschijnselen leiden, die klinische en pathologische gelijkenis vertonen met die van ms. Dit model heet experimentele auto-immuun encephalomyelitis (‘hoofd- en myelineontsteking’), afgekort als eae. Experimenten in deze eae-modellen hebben onder meer duidelijk gemaakt dat auto-immuun mechanismen kunnen bijdragen aan de degeneratie van myeline en axon, en dat daarbij lymfocyten een cruciale rol spelen. Ook zijn er door deze modellen belangrijke inzichten verkregen in de genetische aspecten van ms en de rol van het major histocompatibility complex (mhc), en resulteerden ze in een aantal waardevolle kandidaat-therapieën, die vervolgens in de kliniek worden getest. De knaagdiermodellen kennen echter belangrijke beperkingen, waardoor diverse nieuwe therapieën de kliniek niet hebben bereikt.

Knaagdieren staan evolutionair relatief ver af van de mens zodat immuunsysteem en zenuwstelsel aanzienlijk anders zijn.<sup>1</sup>

Er is daarom een toenemende behoefte aan modellen in primaten voor de biologie en de ziekten van het czs. Voordelen van apen zijn dat ze genetisch/evolutionair, immunologisch, microbiologisch en neurologisch grote gelijkenis met de mens vertonen. Omdat het brein van apen veel groter en complexer is dan van knaagdieren, leent het zich voor non-invasieve ‘magnetic resonance imaging’ (mri) zoals dat ook voor mensen met ms wordt gebruikt. Ook is het ziektebeloop in resus- en marmosetaap eae modellen op vele (maar niet alle) punten sterk vergelijkbaar met ms. De potentiële toxiciteit van nieuwe therapieën is dikwijls onvoldoende duidelijk om ze direct op patiënten te kunnen testen. In 2002 heeft de Wetenschappelijke Stuurgroep van de Europese Unie bepaald dat de veiligheid van nieuwe geneesmiddelen boven alles gaat. Daarom moeten vaccins en andere therapieën voorafgaand aan ‘clinical trials’ beproefd worden op hun specifieke werking en veiligheid in een immuunsysteem nauw gerelateerd aan het humane systeem, en dus in niet-humane primaten. Daarmee wordt het risico van allergische of auto-immuunreacties aanzienlijk beperkt. Ook bieden niet-humane primaten belangrijke voordelen bij het vaststellen van de rol van pathogenen in ms: omdat de interacties tussen gastheren en microbes gevormd zijn door miljoenen jaren van co-evolutie kunnen deze het best *in vivo* bestudeerd worden in gastheren die dicht bij de mens staan.

Een voorbeeld uit ons onderzoek is de succesvolle preklinische evaluatie van blokkerende monoklonale antistoffen tegen activatiemoleculen (cd40).<sup>2,3</sup> Deze komen voor op de membraan van antigeenpresenterende cellen van het immuunsysteem. Een ander voorbeeld is de succesvolle preklinische evaluatie van blokkerende antistoffen tegen oplosbare ontstekingsmoleculen (cytokinen: il-12p40) in het marmosetaap eae-model.<sup>4</sup> Mede op basis van deze studies worden beide kandidaat therapieën nu in ‘clinical trials’ getest.

Samengevat is op dit moment geen enkel diermodel geheel representatief voor het hele spectrum van initiatie tot compleet pathologisch beeld van een humane auto-immuunziekte. De huidige ms-modellen in knaagdieren zijn onvoldoende voorspellend voor de humane pathogenese en de werking van nieuwe therapieën, hoewel ze wel degelijk bijzonder waardevol zijn voor ‘proof of concept’-studies. ms-modellen in marmoset en resusaap waarbij zich chronische eae ontwikkelt bieden zo onafhankelijke preklinische modellen voor ms.

De uitdagingen voor de toekomst zijn om door vermindering, vervanging en verfijning dieraantallen en ongerief te reduceren. Voorbeelden daarvan uit ons onderzoek zijn het toepassen van aapweefsels

<sup>1</sup> Hein W.R. and Griebel P.J. *A road less travelled: large animal models in immunological research*. Nature Reviews Immunology 3:79-84 (2003)

<sup>2</sup> Boon L., Brok H.P.M., Bauer J., Ortiz-Buijsse A., Schellekens M.M., Ramdien-Murli S., Blezer E., Meurs M. van, Ceuppens J., Boer M. de, Hart B.A. 't and Laman J.D. *Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis in the common marmoset (Callithrix jacchus) using a chimeric antagonist monoclonal antibody against human cd40 is associated with altered B-cell responses*. Journal of Immunology 167:2942-2949 (2001)

<sup>3</sup> Laman J.D., Hart B.A. 't, Brok H.P.M., Meurs M. van, Schellekens M.M., Kasran A., Boon L., Bauer J., Boer M. de and Ceuppens J.. *Protection of marmoset monkeys against EAE by treatment with a murine antibody blocking cd40 (mu5D12)*. European Journal of Immunology 32:2218-2228 (2002)

<sup>4</sup> Brok H.P.M., Meurs M. van, Blezer E., Schantz A., Perrit D, Treacy G., Laman J.D., Bauer J. and Hart B.A. 't. *Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis in common marmosets using an anti-human il-12p40 Mab*. Journal of Immunology 169:6554-6563 (2002)

uit reeds bestaande collecties voor het beantwoorden van nieuwe vraagstellingen,<sup>5</sup> en het optimaliseren van kwantitatieve mri technieken om ontsteking in het brein tijdens leven te volgen waardoor minder dieren nodig zijn. In de toekomst zal onderzoek met behulp van primate modellen naar de interacties tussen genen en de omgeving (bijv. infecties), kwantitatieve mri en cell tracking zich sterk ontwikkelen, evenals nieuwe therapieën gericht op neutralisatie van inflammatoire cytokines, bescherming van de zenuwen en remyelinatie. Bij elke nieuwe onderzoeksvraag wordt opnieuw een afweging gemaakt tussen het medisch belang en de wettelijke en ethische voorwaarden voor het gebruik van primaten, die nauw zijn omschreven en strikt worden gehanteerd.

<sup>5</sup> Vos A.F. de, Meurs M. van, Brok H.P., Boven L.A., Hintzen R.Q., Valk P. van der, Ravid R., Rensing S., Boon L., Hart B.A. 't and Laman J.D.. *Transfer of central nervous system autoantigens and presentation in secondary lymphoid organs.* Journal of Immunology 169:5415-5423 (2002)

---

## Immunogenetica in primaten

R.E. Bontrop, directeur Biomedical Primate Research Center

Er wordt veel onderzoek verricht naar de genetische factoren die bepalen of een individu gevoelig is voor het ontwikkelen van bepaalde chronische dan wel infectieziekten. Van het humane genoom wordt geschat dat een aanzienlijk deel (mogelijk 30%) van de erfelijke informatie bestaat uit genen die direct of indirect betrokken zijn bij immunologische afweerreacties. Een aantal van deze genetische systemen zijn complex van aard. Bekende voorbeelden zijn de immunoglobuline genfamilies, T en nk-cel receptorfamilie en het Major Histocompatibility Complex (**mhc**). Dit laatste systeem is, afgezien van zijn complexiteit, ook het meest polymorfe genetische systeem dat bekend is in het dierenrijk. Om deze reden is het **mhc** dan ook een belangrijk studieobject in de transplantatiebiologie. Het **mhc** is ongeveer 400 miljoen jaar geleden ontstaan. Het speelt een belangrijke rol in de overleving van de soort en is nauw betrokken bij de immunologische herkenning van zelf en niet zelf structuren. Het is een algemeen geaccepteerde gedachte dat het **mhc**-polymorfisme moet voorkomen dat een populatie uitgeroeid kan worden door één en hetzelfde pathogeen. Het **mhc** bevat, naast een groot aantal andere genen, de coderende informatie voor de zogenaamde klasse I moleculen die zich op de celmembranen bevinden. Deze moleculen kunnen peptiden binden die doorgaans een intracellulaire herkomst hebben. In het geval van bijvoorbeeld een virale infectie kunnen zij T-cellen waarschuwen dat er lichaamsvreemde pathogenen in de cel aanwezig zijn. Immunologische herkenning van klasse I moleculen beladen met virale peptiden kan resulteren in de eliminatie van de geïnfecteerde cel. Daarnaast codeert het **mhc** ook voor klasse II moleculen. Ook deze moleculen kunnen peptiden binden doch die hebben een extracellulaire herkomst en zijn afkomstig van bacteriën, virussen, schimmels etc. Activatie van 'helper T-cellen' kan resulteren in antistofproductie en/of in de productie van cytokines. Kortom, **mhc** moleculen spelen een belangrijke rol in de adaptieve immuunafweer. Kennis omtrent **mhc** polymorfismen is essentieel in het geval van studies naar transplantatie, ziektegevoeligheid, werkzaamheid van vaccins etc.

Om erachter te komen in hoeverre verschillende primaatsoorten een zelfde type **mhc**, maar ook polymorfismen, delen is er uitgebreid onderzoek gedaan naar de overeenkomsten en verschillen tussen mensen en non-humane primaten. Uit dit onderzoek is gebleken dat **mhc** polymorfismen vaak extreem oud zijn. Zo blijkt dat specifieke humane **dna**-volgorden, welke coderen voor bepaalde Human Leukocyte Antigens (**hla**) klasse II allelen, vaker overeenkomen met bijna gelijke volgorden van een chimpansee, gorilla of resusaap, dan met de **dna**-volgorden van andere typen klasse II allelen aanwezig in de humane bevolking. Hetgeen betekent dat de voorloper van deze allelen al aanwezig was bij een gemeenschappelijke voorouder. Met andere woorden, **mhc** lineages/loci zijn ouder dan de soort. De allelen zelf zijn meestal niet identiek, maar vertonen minuscule verschillen, soms slechts in één aminozuur. De vraag is nu of het mogelijk is om deze structurele overeenkomsten te vertalen in functionele consequenties. Onderzoek naar de functie (d.w.z. peptide bindingscapaciteiten) van deze evolutionair gezien nauw verwante allelen, in verschillende soorten primaten (mens, chimpansee en resusaap) maakte duidelijk dat deze moleculen inderdaad een

geconserveerde functie hebben. Bovendien bleek het vermogen om bepaalde T-cellen te activeren ook geconserveerd. Er is dus sprake van een evolutionair behoud van een peptide herkenning in de context van het **mhc**-systeem. Omdat muizen soms verschillen voor de expressie van essentiële immunologische markers, is dit een duidelijke indicatie dat voor bepaalde immunologische biomedische experimenten, apen het enige geschikte model zijn.

Primatencentra spelen niet alleen een belangrijke rol in het ontwikkelen en testen van medicijnen maar kunnen ook bijdragen leveren aan kennisvergaring met een meer fundamenteel karakter. Een aardig voorbeeld komt uit het **aids**-onderzoek. Naast de mens is alleen de chimpansee gevoelig voor een infectie met bijvoorbeeld het **hiv-1** virus. Er komen steeds meer aanwijzingen dat de voorloper van **hiv-1** naar alle waarschijnlijkheid een chimpanseevirus was en dat de besmetting van de menselijke populatie met deze zoönose ongeveer vijftig jaar geleden heeft plaats gevonden. In de jaren '80 zijn er wereldwijd ongeveer 150 chimpansees met het **hiv-1** virus besmet. Alhoewel ze gevoelig zijn voor infectie, blijken chimpansees zo goed als resistent tegen de ziekte **aids** te zijn. Er is slechts één Amerikaanse publicatie verschenen over een chimpansee met de ziekteverschijnselen die kenmerkend zijn voor **aids**. Dit dier was, bij wijze van uitzondering geïnfecteerd met twee verschillende **hiv-1**-stammen. In deze bewuste chimpansee hebben beide virusstammen via recombinatie zich tot een mutant gevormd, waardoor het dier mogelijk wel de ziekte **aids** kreeg. Dit virus is in Amerika ook gebruikt om andere chimpansees te infecteren en ook zij vertoonden vervolgens ziekteverschijnselen. Hieruit kan worden geconcludeerd dat het mogelijk is voor een **hiv-1** virus door middel van recombinatie te veranderen in een virus dat wel degelijk pathogeen wordt in een resistente populatie.

Een belangrijke wetenschappelijke vraag is natuurlijk waarom de meeste chimpansees resistent zijn tegen de gevolgen van infectie met **hiv-1** en mensen niet. Hierbij moet men zich realiseren dat het **hiv**-virus een relatief klein genoom heeft,  $\pm 10.000$  nucleotiden, en het heeft een relatief hoge foutenmarge bij replicatie – 1:1000 tot 1: 10.000. Dit betekent dat bij iedere vermenigvuldiging er een nieuw virus kan ontstaan. In tegenstelling tot veel mensen die geïnfecteerd zijn met **hiv**, handhaven chimpansees relatieve lage virus titers en minimaliseren daarbij de kans op een immunologische 'ontsnapping' van het virus. In het **bprc** hebben wij ons de vraag gesteld of het immuunsysteem van de chimpansee daar een belangrijke rol in kan spelen.

Mitochondriaal **dna** analyses hebben aangetoond dat chimpansees veel meer genetische diversiteit vertonen dan mensen. Deze trend zet zich voort voor alle andere systemen van het genoom die tot nu toe zijn onderzocht. De gangbare verklaring is dat de chimpansee als soort veel ouder is dan de mens en dus meer genetische variatie heeft kunnen opbouwen. Anderzijds zijn er aanwijzingen dat de menselijke populatie door één of meerdere bottlenecks is gegaan. Wij vonden een uitzondering op deze regel. Chimpansees blijken een sterk gereduceerd **mhc** klasse I repertoire te hebben ten opzichte van de mens.<sup>1</sup> **mhc** klasse I moleculen spelen een essentiële rol in het activeren van virale afweerreacties. Dat chimpansees minder variatie voor de **mhc** klasse-I moleculen vertonen zou verklaard kunnen worden uit het feit dat de voorouders van de huidige chimpanseepopulatie door een virale infectie zijn gedecimeerd. Een waarschijnlijke kandidaat zou de voorloper van het **hiv-1** virus kunnen zijn. De overlevenden zijn destijds geselecteerd op resistentie en alle **mhc** klasse I allelen die niet tegen deze ziekte beschermden zijn 'weggeselecteerd'.

<sup>1</sup> de Groot et al. *Evidence for an ancient selective sweep in the MHC class I gene repertoire of chimpanzees* Proc. Natl Acad Sci usa, 99; 2002, 11748

Er zijn ook voorbeelden van mensen die waarschijnlijk al lange tijd met het **hiv-1** virus besmet zijn maar geen ziektebeeld ontwikkelen; de zogenaamde 'longterm non-progressors'. In het genoom van deze mensen komen de coderende sequenties voor van een aantal **mhc** klasse I allelen die bepaalde geconserveerde delen van het **hiv-1** virus herkennen, waardoor een effectieve afweerreactie in gang gezet kan worden. De **mhc** klasse I moleculen in chimpansees herkennen, interessant genoeg, dezelfde delen van het **hiv-1** virus als de humane individuen die niet ziek worden.

Dankzij onderzoek aan chimpansees, maar ook aan andere apen, is de kennis over **hiv-1/aids** erg toegenomen. De grote genetische gelijkenis tussen mens en chimpansee (98.6%) en het feit dat chimpansees resistent zijn tegen pathologie veroorzaakt door het **hiv-1** virus, en de mens niet, maakt deze dieren tot uiterst belangrijke diermodellen om resistentie te bestuderen. Meer in zijn algemeenheid durf ik te stellen dat als er een **aids**-vaccin komt, dit mede zal gebeuren omdat onderzoek in non-humane primaten hier een zeer belangwekkende bijdrage aangeleverd zal hebben.



---

## Relevantie van primate studies voor klinische transplantaties

F.H.J. Claas, hoogleraar Immunogenetica van transplantaties aan de Universiteit Leiden

De kans op succes bij een orgaantransplantatie is afhankelijk van de mate van overeenkomst tussen donor en ontvanger wat betreft het Major Histocompatibility Complex (**mhc**). Het **mhc** op lichaamsvreemde cellen zet een afweerreactie in gang, die leidt tot afstoting van het transplantaat. **mhc**-moleculen zijn erg polymorf wat de kans van slagen van een orgaantransplantatie tussen twee willekeurige mensen erg klein maakt. De grootste kans op een geschikte donor is in de eigen familie, hoewel ook dit vaak niet lukt. Er is een grote verzameling potentiële donoren nodig waarin een geschikt persoon gevonden kan worden. Dit wordt mogelijk gemaakt door internationale samenwerking via organisaties zoals Eurotransplant, die bekend zijn met eigenschappen van vele donoren en deze matchen met eigenschappen van ontvangers. Maar ook zij vinden zelden een volledig **mhc**-identieke donor. Een oplossing moet dan gezocht worden in het onderdrukken van het immuunsysteem om afstoting van het orgaan te voorkomen.

Een probleem met de huidige medicijnen is dat deze het gehele immuunsysteem onderdrukken en geen specifieke werking hebben, waardoor virussen en kankercellen alle ruimte krijgen. De juiste oplossing zou zijn om het immuunsysteem actief te houden tegen allerlei lichaamsvreemde stoffen, maar in een permanente staat van tolerantie te houden tegenover het transplantaat. Dit zou de toediening van de vaak zware afweeronderdrukkende medicijnen kunnen stoppen. Een aantal *in vitro* testen is reeds uitgevoerd, waarbij het mogelijk bleek om deze onderdrukking van het immuunsysteem beter te kunnen reguleren. Experimenten in diermodellen, waarbij tolerantie voor het transplantaat bereikt is, wijzen echter uit dat de *in vitro* testen geen goede parameter zijn voor klinische transplantaties. In knaagdieren zijn modellen ontwikkeld die informatie verschaffen over mechanismen die een rol spelen in de afweerreactie en interacties tussen cellen van het afweersysteem. Dit maakte duidelijk hoe deze interacties uiteindelijk tot tolerantie van het immuunsysteem kunnen leiden. Het **mhc**-systeem van knaagdieren is echter zeer verschillend van het humane systeem, wat extrapolatie onmogelijk maakt. Postnatale blootstelling van muizen aan cellen van een toekomstige donor door middel van een bloedtransfusie creëerde wel tolerantie voor deze lichaamsvreemde cellen. Dit maakte een succesvolle transplantatie mogelijk. Tijdens primate experimenten werkte dit echter niet, hoewel de overleving van het transplantaat verlengd werd, wanneer de donor dezelfde antigenen had als de moeder van de ontvanger. Toch blijft onderdrukking van het immuunsysteem noodzakelijk.

Naast tolerantie van het immuunsysteem kan worden getracht de immuunrespons te blokkeren. Er zijn veel verschillende moleculen betrokken bij het in gang zetten van het immuunsysteem en men probeert nu in dit proces één van de vele interacties te verhinderen door toevoeging van monoklonale antilichamen. Hierbij zijn primate modellen van essentieel belang en niet alleen omdat hun **mhc** heel goed gedefinieerd is en zowel structureel als functioneel een grote mate van gelijkenis vertoont met het humane **mhc**. Een zelfde overeenkomst bestaat namelijk ook voor andere structuren op de immuuncellen waartegen de monoklonale antilichamen zijn gericht. Dit is niet het geval in andere diersoorten, waar dus andere monoklonale antistoffen gebruikt moeten worden. In

*in vitro* testen resulteert dit in het opwekken van regulatoire T cellen welke op een specifieke manier het immuunsysteem onderdrukken. In een muis, die vooraf werd behandeld met bloed van de donor in combinatie met een monoklonaal antilichaam werd het transplantaat levenslang geaccepteerd en waren geen verdere afweeronderdrukkende medicijnen nodig. In de controlemuizen daarentegen vond binnen 20 dagen afstoting plaats. Echter, in resusapen werd door deze methode wel de levensduur van het transplantaat enigszins verlengd, maar alle transplantaten werden toch binnen enkele maanden afgestoten.

Naast genoemde methoden is er nog een derde alternatief en dat is het mengen van het immuunsysteem van de donor met dat van de ontvanger. Als de ontvanger deze cellen heeft geaccepteerd zal het lichaam ook het te transplanteren orgaan accepteren. Deze methode zal het mogelijk maken zonder verdere afweeronderdrukkende medicijnen te leven. De methode heeft in muizen, varkens en primaten al positieve resultaten opgeleverd. Maar om eerst tot een gemengd immuunsysteem te kunnen komen is het gebruik van veel afweeronderdrukkende medicijnen noodzakelijk. Dit maakt de methode te agressief voor patiënten die alleen op een orgaantransplantatie wachten. Geschiktheid is wel gebleken bij patiënten met een combinatie van myeloma (beenmergkanker) en ernstige nierproblemen. Deze patiënten krijgen een combinatie van een beenmerg- en een niertransplantatie. Het gemengde immuunsysteem werkte en de patiënten konden zonder onderdrukkende medicijnen verder. Maar vanwege de beenmergtransplantatie is het noodzakelijk dat donor en ontvanger **mhc**-identiek zijn, wat iedere transplantatie vergemakkelijkt.

Op dit moment zijn transplantaties in Nederland zeer succesvol. Hierdoor is het niet opportuun nieuwe methoden, die mogelijk kunnen leiden tot tolerantie maar tevens nog het risico meebrengen dat het transplantaat afgestoten wordt als men de immuunsuppressie stopt, op patiënten te testen. Om toch de methoden voor de inductie van transplantaat specifieke tolerantie te kunnen verbeteren zijn primate modellen noodzakelijk. De grote immunologische gelijkheid met het humane systeem maakt deze dieren tot het meest geschikte diermodel.

---

## Is na-apen een alternatief? Ideeën over de alternatieven voor het testen van primaatspecifieke medicijnen tegen artritis

T.W.J. Huizinga, hoogleraar Experimentele reumatologie aan de Universiteit Leiden

Artritis komt voor bij ongeveer één procent van de wereldpopulatie. Het is een ziekte waarbij het gewrichtsweefsel gaat woekeren waardoor de gewrichten worden aangetast. Dit leidt uiteindelijk tot functieverlies van het gewricht. Zowel de oorzaak als de mechanismen van het ziekteproces zijn nog niet duidelijk. Wat betreft het onderzoek bij artritis bestaan verschillende mogelijkheden: zo wordt er onderzoek gedaan waarin gebruik wordt gemaakt van menselijk weefsel dat geïmplanteed is in muizen, er wordt onderzoek gedaan met knaagdiermodellen van artritis, en er wordt onderzoek gedaan met primaten.

Het onderzoek naar artritis is tweeledig: naast onderzoek aan het ontstaan van artritis wordt ook onderzoek gedaan aan patiënten die de ziekte al hebben. Bij een cohortstudie die zich richtte op het ontstaan van artritis werd gebruik gemaakt van een cohort van 200 patiënten met een beginnende artritis. Bij een deel van de patiënten ontwikkelde na een jaar chronische destructieve artritis, maar bij een groot deel van de patiënten waren alle symptomen na een jaar verdwenen. Na onderzoek naar de processen die hierbij een rol spelen werd ontdekt dat er in de ontwikkeling van beginnende artritis naar chronische destructieve artritis sprake is van antigen presentatie en een T-celrespons. Derhalve is de aanname dat de aard van de auto-immuunrespons bepaald wat het verdere ziektebeloop na een episode van artritis is.

Het onderzoek naar het ontstaan van ziekte kan door observationeel onderzoek aan patiënten. Van een groep patiënten met een vroeg stadium van artritis kan men cellen isoleren en opkweken om het ontwikkelingsproces te volgen. Maar gezien de lengte van de ziekteontwikkeling in mensen duurt dit type onderzoek zeer lang. Derhalve zijn diermodellen ontwikkeld waarbij het ziekteproces in betrekkelijk korte tijd plaats vindt. Een verder voordeel van dit soort modellen is dat een identieke genetische achtergrond aanwezig is wat het aantal variabelen beperkt, zodat ziekteprocessen eenvoudiger bestudeerd kunnen worden. Hiervoor worden inteelt-muisstammen gebruikt afkomstig uit dezelfde omgeving en met dezelfde ontstaansgeschiedenis van de ziekte. Tevens zijn veel transgene en knock-out muizen beschikbaar die gebruikt kunnen worden om specifiek de functie van een molecuul in de ziekteontwikkeling te bestuderen. Dit onderzoek resulteerde in de kennis dat artritis ontstaat doordat door een lichaamseigen antigen presenterende cel een antigen gepresenteerd wordt waardoor een T-celrespons ontstaat. De T-cellen coördineren het ontstekingsproces in het gewricht. Dit proces zou beïnvloed kunnen worden door de T-cel respons te sturen met behulp van T-cel tolerantie-inducerende cellen. Experimenten hiermee zijn in muismodellen uitgevoerd. Of deze mechanismen ook bij de mens een rol spelen is niet goed te bestuderen. Humane alternatieven zijn er alleen in de vorm van associatieve studies en kunnen alleen ondersteunend bewijs geven voor de mechanistische resultaten van de muisproeven. Inductie van T-cel tolerantie in primaten verschilt wezenlijk van andere dieren en dus zijn voor deze experimenten primate modellen noodzakelijk. Omdat niet alle cellen en moleculen betrokken bij de inductie van T-cel tolerantie bekend zijn, is het

gebruik van scid-muizen, waarin getransplanteerd kraakbeen, cellen van het immuunsysteem en gewrichtsweefsel van patiënten aanwezig zijn, niet mogelijk. Voor dit specifieke probleem moet de kennis dus van prismaatmodellen komen. Hierbij is de mogelijkheid om in primaten met een specifieke genetische achtergrond de ziekte op te wekken van belang. Ook kunnen bijwerkingen van eventuele therapieën het best bestudeerd worden indien alle organen na een proef geanalyseerd kunnen worden, wat bij een experiment in mensen uiteraard onmogelijk is.

Het onderzoek dat zich bezighoudt met patiënten die de ziekte al langere tijd hebben wordt met name gericht op het beloop van de ziekteprocessen en de daaruit volgende ontwikkeling van nieuwe therapieën.

Tijdens het ontstekingsproces bij reumatoïde artritis speelt een boodschapper molecuul tussen cellen, een zogenaamd cytokine, de Tumor Necrosis Factor (tnf), een sleutelrol. Overproductie van dit tnf door het reumatische ziekteproces, doet ontsteking toenemen. Tegen tnf zijn monoklonale antilichamen ontwikkeld, die specifiek het tnf binden en zo de functie remmen. Deze therapie heeft bij patiënten geleid tot vermindering van de gezwollen gewrichten en verbetering van kwaliteit van leven. Het is dus mogelijk in de ontstekingsfase van artritis de ontsteking krachtig en specifiek te remmen. Antilichamen tegen cytokines worden ontwikkeld tegen delen van deze cytokines die vaak alleen voorkomen bij primaten. Het onderzoek met medicamenten gericht tegen dit soort primaatspecifieke delen kan derhalve alleen in primaten worden uitgevoerd. De optie om het gedrag van deze monoklonale antistoffen te bestuderen met de bovengenoemde scid-muismodellen, is niet geheel mogelijk doordat alleen de effectiviteit in het ontstekingsweefsel en niet de algehele toxiciteit bestudeerd kan worden.

Ook bij onderzoek naar gentransfer worden primaten, in dit geval resusapen, als model gebruikt. Gentransfer gebeurt met behulp van vectoren die ingespoten worden om zo de genen over te brengen naar het weefsel van keuze. De receptoren van deze vectoren komen nogal eens alleen voor bij primaten. Ook is het vaak nog onbekend welke receptoren precies gebruikt worden door de vectoren zodat het nog niet mogelijk is de toxiciteit van deze vectoren te toetsen in knaagdieren die transgeen zijn gemaakt voor de virale vectoren. Ook hier lijkt nog een plaats voor prismaatmodellen.

Samengevat lijken er nog geen alternatieven beschikbaar te zijn voor het gebruik van primaten in het onderzoek naar tolerantie inductie; het onderzoek naar bijwerkingen van medicamenten die specifiek gericht zijn tegen prismaat antigenen (met name het onderzoek naar de bijwerkingen van humane monoklonale antistoffen); en het onderzoek naar vectoren voor gentransfer.

---

## Het functioneren van primaten in een sociale context: de sociale ethologie en socio-ecologie van primaten

J.A.R.A.M. van Hooff, hoogleraar Gedragsbiologie aan de Universiteit Utrecht

Primatenonderzoek beslaat zowel onderzoek waarbij de primaten als model voor de mens staan - dit behelst meestal medisch-biologisch onderzoek - alsook primatologisch (zoologisch) onderzoek dat gericht is op de primaten zelf. De gedragsstudie neemt ook in deze tweede categorie een belangrijke plaats in en beslaat thema's als cognitie en emotie, sociaal gedrag en de evolutie van dat gedrag.

De traditionele beschrijving en verklaring van diergedrag geschiedde vooral in termen van 'stimulus-responsmodellen': wanneer een dier in de betreffende motivatietoestand verkeert en tevens de adequate sleutelstimuli ontmoet, zal dit resulteren in bepaalde gedragingen. Deze kijk op diergedrag wordt wel de 'reflex-modus' genoemd: daarbij wordt uitgegaan van de veronderstelling dat er een tamelijk rechtstreekse associatie is van ontvangen informatie en het opgewekte gedrag. De laatste jaren richt de aandacht in de analyse van diergedrag zich in veel sterkere mate op de cognitieve aspecten van diergedrag, het 'weten', dat naast het 'willen' (de motivationele processen) de tweede belangrijke component in het gedrag is. We realiseren ons dat dieren meer zijn dan door 'blinde instincten gedreven' systemen. Het zijn creatieve actoren, die hun gedrag tot op zekere hoogte op basis van inzichten 'ontwerpen', waarbij inkomende informatie in wisselwerking treedt met interne representaties en aldus 'herkend' wordt en tot keuzes en beslissingen leidt. De gedachte dat dieren denken is niet langer taboe.

In dit cognitief georiënteerde onderzoek wordt getracht de mentale structuur van dieren in kaart te brengen. Bij vele diersoorten zijn er aanwijzingen dat die cognitieve structuur een 'beeld', een mentale representatie, omvat van relevante kenmerken van de directe leefomgeving en van de dynamica daarvan. Het dier is in staat hieromtrent generalisaties en extrapolaties (voorspellingen) te maken. De vraag is hoever dit weten zich uitstrekt: omvat het ook een voorstelling van de mentale staat van anderen (d.w.z. heeft het weet van de kennis en de bedoelingen van een ander (attributie)? Is het dier in staat om vast te stellen wat een ander vanuit diens positie kan waarnemen en weten (perspective taking)? Er zijn aanwijzingen dat sommige primaten hiertoe in staat zouden kunnen zijn. Verdergaand is de vraag in hoeverre dieren een zekere weet hebben van hun eigen interactie met hun omgeving en van hun eigen gedrag. Daarbij gaat het om de vraag in hoeverre er sprake kan zijn van elementair zelfbewustzijn. De eerste aanzetten tot zo'n weten over jezelf lijken te bestaan bij primaten (afgeleid b.v. uit experimenten over zelfherkenning in een spiegel). Dergelijke niveaus van besef worden tot op heden aan zeer weinig diersoorten toegeschreven namelijk, behalve aan de mens eigenlijk alleen aan de grote mensapen, en dan met name de chimpansee en de orang-oetan. Vergelijkend cognitieonderzoek is van grote fundamentele betekenis. Het biedt zicht op de evolutionaire continuïteit van de geestelijke vermogens die in onze soort zo'n hoge ontwikkeling hebben doorgemaakt, en waarop we soms het alleenrecht meenden te hebben, zoals concept- en symboolvorming. Deze verschijnselen zijn aanwezig bij primaten en vormen de basis waarop het zo bijzondere verschijnsel van de menselijke taal gebaseerd is.

De meeste primatensoorten zijn hoog sociale wezens. De individuen leven in sociale gemeenschappen die gekenmerkt worden door een verscheidenheid aan relatiepatronen, afhankelijk van het geslacht, de leeftijd en de individuele of familiehistorie van de betrokken dieren, b.v. afhankelijkheids- en dominantierelaties. De patronen van samenleving worden beheerst zowel door samenvallende belangen en daardoor mogelijk gemaakte coöperatieve relaties alsook door strijdige belangen, wedijver en onderlinge competitie. Een specifiek onderdeel van het sociale gedrag is dan ook het omgaan met conflicten, het reguleren daarvan en het handhaven van adaptieve niveaus van sociale harmonie. Tijdens onderzoeken met groepen primaten werd geregeld waargenomen dat na een conflict de twee ruziënde individuen meer dan gemiddeld contact met elkaar zoeken. Dit in tegenstelling tot de verwachting dat een gevecht/ ruzie de betrokken individuen uiteen zou drijven en hun relatie zou verstoren. Zulk post-conflict afhankelijkheidsgedrag is 'verzoening' genoemd, omdat het nervositeitsgedrag bij de betrokkenen en de kans op heroplaaien van conflicten vermindert. Opmerkelijk is dat dit verzoenende gedrag niet in alle relaties voorkomt en niet na alle conflicten; alleen dieren die een goede sociale relatie met elkaar onderhouden vertonen dit verzoenende gedrag; dieren die een slechte sociale relatie hadden hebben daarentegen de neiging elkaars gezelschap te mijden. Ook blijkt er een verband te bestaan tussen het soort conflict en de kans op verzoening na een conflict. Als er een conflict ontstaat over b.v. voedsel, een relatienutraal conflict, zal er weinig tot geen verzoening plaatsvinden. Wanneer het conflict over de sociale relatie zelf gaat, wordt verzoening veel vaker waargenomen.

Recent onderzoek heeft aangetoond dat vooral primaten, maar ook andere diersoorten, emotionele mechanismen hebben die een rol spelen bij het bewaren van sociale homeostase en het intact houden van belangrijke sociale relaties. Voor zover een lid van een samenleving belang heeft bij het in stand houden van relatiepatronen, omdat zijn eigen voortbestaan hiervan afhankelijk is, zal het ook bereid moeten zijn te investeren in het handhaven van die relatiepatronen. Dit kan betekenen het intomen van directe zelfzucht en het betonen van sociale tolerantie en zelfs dienstvaardigheid. Het gaat hier om processen waarvan de bestudering van grote betekenis is, niet alleen vanuit fundamenteel-wetenschappelijk perspectief, maar ook omdat zij een bredere invalshoek levert op de cognitief-emotionele processen die ons sociale gedrag reguleren. Dit soort onderzoek kan alleen plaatsvinden in gevestigde, sociaal representatieve primatengemeenschappen.

De wijze waarop individuen hun relaties regelen en de daarbij betrokken processen (denk b.v. aan de adaptieve beheersing van arousal en stress) heeft consequenties voor verscheidene aspecten van het individuele levenstraject, zoals gevoeligheid voor ziektes, fysieke en mentale veroudering. Daarmee vormen primaten ook interessante modellen voor de bestudering van de invloed van sociale en psychische processen op b.v. degeneratie en dementie, enz..

Primaten zijn evolutionair gezien onze naaste verwanten. Dat maakt ook de beschouwing van hun gedrag zo interessant vanuit een vergelijkend-evolutionair perspectief. Het gedrag van elke diersoort, de mens niet uitgezonderd, is de uiting van psychische mechanismen, die in de loop van de evolutie op basis van hun aanpassingsbetekenis zijn gevormd. Om te achterhalen wat de evolutionaire selectiedrukken zijn, die de cognitief-emotionele en sociale mechanismen hun vorm hebben gegeven is vergelijkend socio-ecologisch onderzoek van belang. De variatie in deze processen zoals die bij vergelijking van verschillende soorten wordt aangetroffen kan alleen maar verklaard worden, indien de consequenties die varianten hebben voor de 'fitness', d.w.z. het reproductieve succes van de betreffende individuen in verband kunnen worden gebracht met de variaties in ecologische omstandigheden, die als selectiedrukken werkzaam zijn. Dit soort

onderzoek kan uiteraard alleen geschieden ‘in het veld’, d.w.z. daar waar de invloed van milieufactoren op het overleven en de voortplanting van individuen kan worden gemeten of afgeleid. Noodzakelijke complement hiervan is het onderzoek naar de mechanismen van gedrag onder gecontroleerde experimentele condities. Diepgaand experimenteel onderzoek is echter alleen onder condities van gevangenschap mogelijk, waar relevante variabelen gemanipuleerd kunnen worden. Hierin ligt voor een primatencentrum als het **bprc** een opdracht.

Vergelijkend gedragsonderzoek aan onze non-humane verwanten zal, ook in de toekomst, van belang blijven voor het beantwoorden van een veelheid van wetenschappelijke vragen in het kader van studies naar de ontwikkeling van taal, van symbolisch denken enz., en dus voor zulke disciplines als de neurowetenschappen, de antropologie, de (evolutionaire) psychologie, enz. Zoals gezegd, veel van dit onderzoek zal in gevangenschap moeten plaatsvinden en vereist zeer speciale voorwaarden. Een primatencentrum waarin meerdere vormen van onderzoek uitgevoerd kunnen worden zal van groot belang zijn voor de ontwikkeling van verschillende wetenschapsgebieden in Nederland, op voorwaarde dat zo’n instituut niet alleen een beperkte onderzoeksopdracht krijgt in toegepast medisch-biologische richting, maar ook de ruimte verwerft voor grensverleggend zuiver wetenschappelijk onderzoek.

---

## Hoe relevant zijn primaten in cognitief neurowetenschappelijk onderzoek?

V.A.F. Lamme, bijzonder hoogleraar Cognitieve Neurowetenschappen aan de Universiteit van Amsterdam

Cognitieve processen stellen ons in staat om kennis over de wereld om ons heen te vergaren, te gebruiken en te behouden. Processen als waarneming, aandacht en herinnering zijn basisprocessen die bij bijna ieder dier wel voorkomen. Daarnaast zijn er echter ook cognitieve processen van een hoger niveau, zoals denken, taal en bewustzijn die meer specifiek zijn voor de intelligentere soorten. De cognitieve neurowetenschappen bestuderen de relaties tussen de genoemde cognitieve processen en de hersenen, en de gevolgen van verstoringen hierin bij bepaalde mentale en neurologische ziekten.

Cognitieve processen hangen voor een belangrijk deel af van de cerebrale cortex (de hersenschors). Deze structuur bestaat uit cellagen, die in bouw en rangschikking van gebied tot gebied verschillen, en op basis daarvan worden meer dan 100 verschillende schorsgebieden onderscheiden. Deze schorsgebieden voeren allerlei functies uit, zo is er een gehoorschors, een motorische schors, een visuele schors etc. Informatie, bijvoorbeeld afkomstig van de zintuigen, komt de hersenschors binnen vanuit de lagere hersendelen en wordt dan in de hersenschors verwerkt, uit elkaar gehaald, gefilterd en bewerkt. Dat levert uiteindelijk een coherent beeld van de wereld om ons heen op. We nemen bewust informatie waar, kunnen daarop reageren, kunnen gevolgen van deze waarnemingen voorspellen en informatie voor kortere of langere tijd in ons geheugen opslaan.

Elementaire cognitieve functies, zoals geheugen, worden vooral bestudeerd op twee niveaus, een macro- en een microniveau. Bestudering van het gedrag van mensen die een hersenbeschadiging hebben opgelopen door een ongeluk of een herseninfarct levert informatie op het macroniveau. In aanvulling daarop zijn er tegenwoordig ook moderne beeldvormende technieken beschikbaar zoals functionele ‘magnetic resonance imaging’ (mri), waarbij te achterhalen is welk deel van de hersenen bij een bepaalde taakverrichting betrokken is. Op microniveau wordt onderzocht wat de relatie is tussen bepaalde intracellulaire processen, zoals synaptische plasticiteit, en cognitieve processen. Dit soort onderzoek wordt met name uitgevoerd bij eenvoudige zoogdieren, zoals de rat en muis. Hiermee kan een verband worden gelegd tussen basale cognitieve mechanismen, zoals geheugen in de zin van ‘informatieopslag’, en een bepaald cellulair proces.

Om onze cognitieve functies goed te begrijpen is het echter noodzakelijk om meer te weten over de werking van het brein op het niveau tussen het macro- en microniveau in. Hoe werken neuronen in de verschillende corticale gebieden samen, en hoe bewerkstelligt dit een cognitieve functie als aandacht of perceptie? Op wat voor manier coderen neuronen informatie die in het werkgeheugen is opgeslagen? Hoe kunnen neuronen in staat zijn om een beslissing te nemen over welke informatie wordt omgezet in gedrag? Dat zijn de vragen die niet te beantwoorden zijn op macro- of microniveau alleen. Meer precies: als we onze cognitieve functies echt in mechanistische zin willen begrijpen (zodat we eventueel in staat zijn dit ‘na te bouwen’ in een computer of robot), is begrip over het tussenliggende niveau onontbeerlijk.



Hoewel onderzoek bij primaten informatie kan opleveren op alle drie de niveaus van begrip, speelt dit onderzoek de grootste rol bij het tussenliggende niveau. Hiertoe wordt elektrische activiteit afgeleid van individuele neuronen of groepen van neuronen in het brein van apen die zijn getraind om een bepaalde cognitieve taak uit te voeren. Deze training is vaak een langdurig proces, waarbij het dier ook geleidelijkerwijs wordt gewend aan het zitten in een stoel, het kijken naar een monitor, enzovoorts. Op die manier kunnen ook relatief lagere primaten als de resusaap worden geleerd om complexe taken goed uit te voeren, zodat hiermee ook hogere orde cognitieve processen kunnen worden onderzocht. De op deze manier verkregen informatie is enerzijds veel gedetailleerder dan die verkregen bij patiënten of met behulp van beeldvormende technieken. Anderzijds is zij macroscopisch genoeg om iets te kunnen zeggen over de mechanismen die ten grondslag liggen aan cognitieve processen in al hun gevarieerdheid.

Deze neurowetenschappelijke gedragsstudies bij primaten leveren in eerste instantie vooral een beter begrip van onze cognitieve functies en hun relatie met de werking van het brein op. Onze cognitieve functies kunnen daarmee worden gezien als het gevolg van neurale processen in het brein, werkend op het niveau van een enkel neuron, of van netwerken tussen neuronen dicht bij elkaar of in verschillende gebieden. Daarmee kan uiteindelijk zelfs een geheel nieuwe betekenis ontstaan van moeilijke begrippen als 'bewustzijn' en 'vrije wil'. In die zin levert dit onderzoek vooral een heel belangrijke bijdrage aan de fundamentele van de wetenschap, hetgeen geïllustreerd wordt door het feit dat neuro-onderzoek met primaten vaak gepubliceerd wordt in gerenommeerde wetenschappelijke tijdschriften. Deze inzichten zullen uiteindelijk ook een belangrijke bijdrage leveren aan het beter begrijpen van verstoringen van cognitieve vermogens. Het wordt nu bijvoorbeeld steeds duidelijker dat ziektes als Schizofrenie, Autisme en Dyslexie voor een belangrijk deel worden veroorzaakt door een verstoring van neurale interacties op het meso-niveau, en inzichten uit de basale neurowetenschap liggen aan de basis van de belangrijkste theorieën over deze ziektes.

Hoewel het belang van deze cognitieve experimenten met primaten door de maatschappij niet altijd onderkend wordt, zal de behoefte aan inzichten in deze cognitieve processen toenemen. De mens zal, zeker in de westerse landen, lichamelijk een steeds hogere leeftijd behalen. Hierdoor zullen betere inzichten in de mentale gezondheid, maar vooral in de mentale verstoringen steeds belangrijker worden.

De baten van dit soort onderzoek zijn daarmee duidelijk aangegeven. Voor een juiste ethische afweging is het verder van belang op te merken dat het gebruik van proefdieren bij cognitieve experimenten redelijk overzichtelijk is: per experiment zijn er weinig (meestal twee) dieren nodig, hetgeen dan vaak ook nog resulteert in meerdere publicaties. Vaak is het ook mogelijk de dieren na afloop van het experiment in leven te laten of te gebruiken voor een ander experiment.

Samengevat kan worden gesteld dat het neurowetenschappelijk onderzoek bij primaten wetenschappelijke informatie oplevert die op geen enkele andere wijze is te verkrijgen. Deze informatie is vooral van groot wetenschappelijk belang, maar zal op termijn ook van steeds groter maatschappelijk belang worden. De 'kosten' van dit onderzoek zijn verhoudingsgewijs beperkt, aangezien met enkele proefdieren een groot aantal belangrijke publicaties zijn te verkrijgen. Hoewel een bepaalde maatschappelijke en emotionele weerstand tegen dit soort onderzoek goed is te begrijpen, valt de kosten-baten analyse voor dit onderzoek daarom uiteindelijk toch positief uit.

---

## Vormen genetisch gemodificeerde muizen een alternatief voor biomedisch onderzoek met primaten?

A.J.M. Berns, directeur Nederlands Kanker Instituut

Bij veel ziekten spelen gastheer- en omgevingsfactoren een belangrijke rol. Dat maakt het lastig om ziekten na te bootsen in diermodellen die ver afstaan van de mens. Dieren die in genetisch opzicht dicht bij de mens staan zullen over het algemeen een vergelijkbare pathofysiologie laten zien. Echter, het gebruik van primaten in het biomedische onderzoek stuit op een aantal bezwaren. Deze worden niet uitsluitend ingegeven door ethische overwegingen. Ook praktische argumenten spelen een rol. Vanwege de lange levensduur van primaten zal het, althans bij een aantal aandoeningen, relatief lang duren voordat de ziekte zich manifesteert hetgeen zeer belemmerend kan zijn voor het onderzoek. Ook de individuele variatie bij de experimenten die over het algemeen met een klein aantal dieren moet worden uitgevoerd kan groot zijn hetgeen consequenties heeft voor de interpretatie van resultaten. Deze variatie kan worden verminderd door het gebruik van inteeltstammen. Dan is echter weer de vraag in hoeverre deze model kunnen staan voor een relatief polymorfe (humane) populatie. Andere beperkingen zijn de onmogelijkheid om relevante genetische modificaties aan te brengen en de hoge kosten die aan deze experimenten verbonden zijn. Daarom is er in het biomedisch onderzoek grote behoefte aan alternatieve diermodellen.

De muis is een alternatief model, dat continue wordt verbeterd voor toepassing in biomedisch onderzoek. Het is belangrijk om bij de ontwikkeling van een model zorgvuldig te analyseren welke vragen men met een bepaald model wenst te beantwoorden. Idealiter zou men het gehele ziektepatroon van iedere te onderzoeken ziekte willen reproduceren in een model. Dat is niet realistisch. Niettemin kan zo'n model uitermate nuttig zijn indien het bepaalde kritische aspecten van de ziekte reproduceert. Dat maakt het mogelijk om cruciale vragen ten aanzien van de ziekte te beantwoorden. De muis kan hierbij dienen als een surrogaat ziektemodel of als een omgeving waarin in cellen van menselijke oorsprong aspecten van de ziekte worden gereproduceerd. Muizen kunnen zodanig genetisch worden aangepast dat menselijk weefsel kan worden getransplanteerd zonder dat dit tot afstoting leidt. Dit kan het onderzoek naar ziekten in deze modellen vereenvoudigen. Hierdoor is bijvoorbeeld de mogelijkheid ontstaan het hepatitisvirus te laten repliceren, iets wat in cellen in celcultuur tot op heden onmogelijk is gebleken. Bij andere ziekten is het dikwijls voldoende een aantal specifieke ziekte-geassocieerde genproducten in de muis te produceren. Als genetische defecten ten grondslag liggen aan ziekten bij de mens kunnen deze genetische defecten in het muismodel worden geïntroduceerd om een gedetailleerd inzicht te krijgen in de moleculaire processen die tot het ziektebeeld leiden. Dit kan waardevoller blijken te zijn dan nauwkeurig de fysiologie van de ziekte te reconstrueren.

Voor het laten functioneren van humane weefsels in muizen moeten niet zelden meerdere genetische modificaties in de muis worden aangebracht. Hiervoor is een muismodel met een zeer gebrekkig immuunsysteem nodig (scid-muis). Verder kunnen ook andere modificaties nodig zijn. Om bijvoorbeeld humane levercellen in muizen uit te laten groeien heeft men urokinase in de

hepatocyten van de muis hoog tot expressie gebracht. Deze situatie is zeer giftig voor de hepatocyten in de muis en een muis die homozygoot is voor dit urokinase gen zal kort na geboorte sterven aan leverfalen. In deze toestand hebben geïnjecteerde humane levercellen een groeivoordeel en helpen de leverfuncties van de muis te herstellen. Bovendien zullen ze niet worden afgestoten vanwege het deficiënte immuunsysteem. Dit resulteert in een lever waarin een mix van muis- en humane hepatocyten aanwezig is. Een dergelijke lever is zeer gevoelig voor een infectie met het hepatitisvirus en is tevens in staat om het hepatitisvirus te repliceren in titers (gemeten in de bloedcirculatie) die vergelijkbaar zijn met die van hepatitis-geïnfecteerde patiënten. Dit is een voorbeeld dat laat zien dat voor een deel van een ziekteproces geen primate model vereist is. Hoewel het hier gaat om een klein gedeelte van de aandoening, is het wel een zeer belangrijk deel. Niet alleen de replicatie van het virus kan hiermee bestudeerd worden, ook sommige aspecten van interventie in dit proces en de virus-gastheerinteractie kunnen worden onderzocht. Voor dit laatste is het van groot belang dat de gastheer cel een humane cel is. Een andere toepassing voor dit model is het testen van nieuwe therapieën (medicijnen of antilichamen) die het begin van een infectie kunnen voorkomen of geïnfecteerde cellen kunnen vernietigen. Dit transgene muismodel is een vrij recente ontwikkeling en het is nog niet duidelijk in hoeverre dit model ook geschikt kan worden gemaakt voor het testen van profylactische of vaccinatie strategieën. Het is zeer waarschijnlijk dat in een later stadium in een dergelijke studie testen in een primate model noodzakelijk blijven. De primate is dan nog enkel nodig in de laatste fase van het onderzoek.

Het is evident dat een grote inspanning nodig is om het gebruik van primate modellen te beperken. Genetische modificatie in knaagdieren kan in veel gevallen kritische aspecten van een ziekte nabootsen, maar levert, zoals eerder vermeld, zeer zelden het complete ziektepatroon op. Echter, het is niet altijd noodzakelijk om de complete fysiologie van een ziekte in een model te reproduceren om de modellen toch zeer waardevol te laten zijn. Dat neemt niet weg dat de bruikbaarheid van een nieuw genetisch gemodificeerd knaagdiermodel moeilijk te voorspellen is en dat bepaalde aspecten van het ziekteproces niet nagebootst kunnen worden in deze modellen. Met name voor sommige ernstige infectieziekten en het ontwikkelen van interventiestrategieën daartegen gebaseerd op modulering van het immuunsysteem zullen primate modellen onontbeerlijk blijven.

---

## Discussie

Voorzitter: A.J. Van der Eb, voorzitter van de Commissie Dierproeven, Transgenese en Biotechnologie

Prof. Van der Eb vangt aan met de opmerking dat uit de lezingen en discussies van deze bijeenkomst geconcludeerd mag worden dat het gebruik van dieren in medische experimenten noodzakelijk is, hoewel het een moeilijk en ethisch vaak beladen onderwerp is. En hoewel er vele ontwikkelingen gaande zijn om alternatieven voor deze primate modellen te ontwikkelen, zijn dierproeven niet meer weg te denken uit het huidige, maar ook niet uit het toekomstige biomedische onderzoek. Het heeft dan echter wel de voorkeur dat dit onderzoek in de Westerse landen wordt gehouden, zodat voldoende controle mogelijk is. Om dit te bewerkstelligen moeten er mogelijkheden voor primatenonderzoek in het Westen blijven bestaan.

Eén van de toehoorders vraagt zich af wat de waarde is van een diermodel voor de mens? Wanneer het gaat om een monogene ziekte kan een diermodel zeer goed uitkomst bieden in de zoektocht naar therapeutica. Echter, de ziekten die ons nu bezighouden zoals de ziekte van Alzheimer, artritis, kanker en diabetes zijn polygene ziekten, afhankelijk van meerdere genen en staan onder invloed van diverse omgevingsfactoren. Dit maakt het gebruik van een diermodel in de zoektocht naar de causale oorzaak en de pathofysiologie erg moeilijk. Om deze complexe ziekten te begrijpen en er een behandeling voor te vinden moet gebruik worden gemaakt van micro-arrays, 'expressing profiles', vergelijking van ziek en gezond weefsel, en identificatie van betrokken genen. Hierdoor kan gebruik van het diermodel, althans gedeeltelijk, vermeden worden. En wanneer de betrokken genen bekend zijn kan met een grotere precisie een diermodel worden ingezet.

Prof. Huizinga geeft aan dat wanneer het gaat over onderzoek naar artritis, waarin al langer veel gewerkt wordt met zowel gedetailleerde patiëntonderzoeken als diermodellen, er dankzij de diermodellen grote vooruitgang geboekt is in het onderzoek. Hoewel de diermodellen natuurlijk in geen geval zijn te vergelijken met het menselijk lichaam en de ziekteontwikkeling daarin moet er niet te pessimistisch over deze diermodellen gedacht worden.

Er wordt door één van de aanwezigen opgemerkt, naar aanleiding van de lezing van prof. Berns, dat tussen alle lezingen over immunologie één facet toch lichtelijk ondergesneeuwd is: er wordt voortdurend gepraat over vervanging van het primate model door aanpassing op allerlei manieren van het muismodel. Er bestaat echter al een goed muismodel voor het testen van orgaantransplantaties. Maar wat hierin succesvol is gebleken, het immuunsysteem van de muis is tolerant gemaakt voor het te ontvangen orgaan, is absoluut niet mogelijk in primaten. Hoe dit muismodel of het primate model ook zullen worden aangepast, er wordt al vanaf het begin gestart met een volkomen ander uitgangspunt. Namelijk, een aanzienlijk deel van het afweersysteem van ieder individueel zoogdier komt tot stand door confrontatie met allerlei stoffen gedurende de zwangerschap. Maar het zwangerschapsproces in knaagdieren verschilt wezenlijk van dat bij primaten. Dus wat er ook allemaal mogelijk is en zal worden, een muis blijft een muis. Het wordt beaamd dat duidelijk moet zijn dat muizen voor sommige toepassingen zeer goed bruikbaar zijn of gemaakt kunnen worden, maar dat er situaties blijven bestaan waarin dit niet het geval is en dus over gegaan moet worden op andere systemen.

Hoewel deze bijeenkomst in het teken stond van het gebruik van proefdieren, is de Wet op de Dierproeven niet ter sprake gekomen. Deze wet bepaald dat voor ieder experiment waarvoor men proefdieren nodig denkt te hebben, uiterst zorgvuldig moet zijn bekeken of het experiment ook met alternatieven uitgevoerd kan worden. Maar alle aanwezigen hebben te maken met het doen van onderzoek en alle wetenschappers die zich bezig houden met het doen van dierproeven zijn hiervan op de hoogte. Op een bijeenkomst als deze lijkt het wel alsof iedere keer aan onszelf weer wordt uitgelegd hoe het zou kunnen of moeten. Maar, zoals gezegd met de 500 primaten, van de 750.000 proefdieren die Nederland jaarlijks gebruikt, wordt zeer zorgvuldig omgesprongen en wanneer een alternatief voor handen is, zal dit zeker ingezet worden. Hopelijk komen de vandaag besproken toekomstige alternatieven dan ook snel in gebruik.

Hierop wordt aangevuld dat de 500 primaten beschreven staan in 70 onderzoeksvoorstellen en dat de zorgvuldigheid die rond de chimpansees te zien is eigenlijk bij geen enkele andere diersoort voorkomt. Er wordt dus uiterst zorgvuldig met deze proefdieren omgegaan.

Er wordt opgemerkt dat er weinig is gesproken over de afweging tussen het belang van het experiment en de mate van ongerief bij de proefdieren, iets wat de wet op de dierproeven voorschrijft. Tevens vraagt iemand zich af of alle energie die nu gebruikt wordt om muizen op allerlei manieren aan te passen, wat grote aantallen muizen kost, opweegt tegen het gebruik van een al bestaand, goedwerkend proefdiermodel zoals dat van een primate. Hoewel beide vragen zeer interessant zijn voor het project 'Primatenonderzoek in Nederland', worden ze tijdens deze bijeenkomst niet beantwoord. De ethische en maatschappelijke kwesties zijn in één van de andere bijeenkomsten besproken.

---

## Verklarende woordenlijst

### Proof of principle

Het eerste bewijs voor een specifieke werking van een theorie/ model/ vaccin

### Proof of concept

Een evaluerende test om te achterhalen of een theorie/ model/ vaccin alle toegeschreven eigenschappen ook daadwerkelijk bezit

### Correlates of protection (voor vaccines)

Biologisch relevante parameters waarmee de reacties op vaccinatie 'in het veld' gemeten kunnen worden en de vaccineffectiviteit voorspeld kan worden

### mhc

Major Histocompatibility Complex, een groep genen coderend voor de zogenaamde transplantatie antigenen

### mhc-antigenen

Eiwitten op het celoppervlak die betrokken zijn bij de antigeenherkenning door het afweersysteem. mhc antigenen spelen onder andere een rol bij de afstoting van getransplanteerde organen of cellen

### hla

Human Leucocyte Antigens, de naam voor het humane mhc

### scid

Severe Combined Immunodeficiency Disease; een erfelijke ziekte die leidt tot een zeer gebrekkig immuunsysteem

### Titer

Concentratie van een opgeloste stof, virus of bacterie in een oplossing

### Synaps

Het deel van een zenuwcel dat communiceert met andere cellen

### Clinical trial

Een studie op patiënten om specifieke vragen te beantwoorden omtrent nieuwe vaccins, nieuwe therapieën of nieuwe manieren voor het gebruik van bestaande behandelingen

### Exo-erythrocytic

Fase van de levenscyclus van de malariaparasiet waarbij de parasiet zich in weefselcellen bevindt

### Erythrocytic

Fase van de levenscyclus van de malariaparasiet waarbij de parasiet zich in de rode bloedcellen bevindt

### Immunogenicity

In staat zijn een immuunreactie op te wekken

Cytokine

Stof die onder andere immunologische reacties kan bespoedigen/remmen

Locus

Plaats op een chromosoom waar een specifiek gen zich bevindt.

---

## De sprekers

|                      |   |
|----------------------|---|
| A.J.M. Berns         | bijzonder hoogleraar Experimentele moleculaire genetica van erfelijke aandoeningen en directeur Nederlands Kanker Instituut |
| R.E. Bontrop         | directeur Biomedical Primate Research Center en lid van Commissie Dierproeven, Transgenese en Biotechnologie                |
| F.H.J. Claas         | hoogleraar Immunogenetica van transplantaties aan de Universiteit Leiden  |
| J.A.R.A.M. van Hooff | hoogleraar Gedragsbiologie aan de Universiteit Utrecht  |
| T.W.J. Huizinga      | hoogleraar Experimentele reumatologie aan de Universiteit Leiden  |
| J. D. Laman          | universitair hoofddocent Immunologie aan de Erasmus Universiteit  |
| V.A.F. Lamme         | bijzonder hoogleraar Cognitieve Neurowetenschappen aan de Universiteit van Amsterdam  |
| A.D.M.E. Osterhaus   | hoogleraar Virologie aan het Instituut voor Virologie van de Erasmus Universiteit Rotterdam                                 |
| T.H.M. Ottenhoff     | hoogleraar Immunologie aan de Universiteit Leiden   |
| O. Puijalon          | hoofd afdeling 'Moleculaire immunologie van parasieten' van het Pasteur Instituut Parijs                                    |
| W.J.M. Spaan         | hoogleraar Virologie aan de Universiteit Leiden   |
| P.C. van der Vliet   | hoogleraar Fysiologische chemie aan de Universiteit Utrecht/ Voorzitter van de Afdeling Natuurkunde van de <b>k</b> naw     |



---

## Samenstelling organiserende commissie

|                    |  |
|--------------------|--|
| A.J.M. Berns       | bijzonder hoogleraar Experimentele moleculaire genetica van erfelijke aandoeningen en directeur Nederlands Kankerinstituut                                 |
| A.J. van der Eb    | emeritus hoogleraar Humane genetica aan de Universiteit Leiden en voorzitter van de Commissie Dierproeven, Transgenese en Biotechnologie                   |
| E.J. Ruitenberg    | bijzonder hoogleraar Internationale Volksgezondheid aan de Vrije Universiteit Amsterdam en lid van de Raad van Toezicht Biomedical Primate Research Center |
| P.C. van der Vliet | hoogleraar Fysiologische chemie aan de Universiteit Utrecht/ Voorzitter van de Afdeling Natuurkunde van de knaw  |
| R. des Bouvrie     | secretaris Commissie Dierproeven, Transgenese en Biotechnologie  |
| L.H.W. Noor        | beleidsondersteunend medewerker Commissie Dierproeven, Transgenese en Biotechnologie (verslaglegging en redactie)  |