

Immuuninterventie

'Drukken op de juiste knoppen van het afweersysteem'

PROF. DR. VIRGIL SCHIJNS

Inaugurale rede bij de aanvaarding van het ambt van buitengewoon hoogleraar
Immuuninterventie aan Wageningen Universiteit op 14 mei 2009.



WAGENINGEN UNIVERSITEIT
WAGENINGEN UR

ISBN 987-908585-277-3

• • •

2

Prof. dr. Virgil E.J.C. Schijns

Immuuninterventie 'Drukken op de juiste knoppen van het afweersysteem'

Immuuninterventie

'Drukken op de juiste knoppen van het afweersysteem'

Geachte mijnheer de Rector Magnificus, dames en heren, lieve familie en vrienden,

Vandaag ga ik U meenemen naar de wereld van het immuunsysteem, het afweerapparaat, dat een essentiële betekenis heeft voor het in stand houden en verbeteren van de levenskwaliteit van mens en dier. Deze voordracht is niet alleen bedoeld voor vakgenoten, maar in het bijzonder voor buitenstaanders en niet-ingewijden.

Inleiding

Enkele maanden geleden is het exact een eeuw geleden dat de immunologie officieel geboren werd. In het jaar 1908, op 11 december, ontvingen de Rus Eli Metchnikoff en de Duitser Paul Ehrlich samen de Nobelprijs voor de Geneeskunde, voor hun werk aan immuniteit, respectievelijk voor de cellulaire fagocytose theorie en de humorale antilichaam theorie. Metchnikoff ontdekte fagocytose na experimenten met de larven van zeesterren. Hij poneerde de destijds radicale theorie dat witte bloedcellen schadelijke lichaampjes zoals bacteriën konden verslinden en vernietigen. Paul Ehrlich poneerde het idee van de zogenaamde 'magic bullet', bestaande uit antilichamen. Deze belangrijke moleculen bespreek ik zo meteen verder.

Het vakgebied van de immunologie bestudeert het afweerorgaan, of immuunapparaat, dat van levensbelang is in elk organisme dat langzamer evolueert dan zijn binnengedrongen ziektekiemen, ook wel pathogenen genoemd. Een immuunsysteem moet zich in de loop van de tijd kunnen aanpassen door middel van mutaties, om nieuwe specificiteiten te kunnen ontwikkelen. Dit is nodig om de wedloop met de vermeerdering van het pathogeen te kunnen winnen. Ik hoop dat na deze eerste opmerkingen nog niemand is afgehaakt of in slaap gevallen. Daarom eerst enkele voorbeelden die mogelijk meer tot de verbeelding spreken en de kracht van het afweersysteem illustreren. Deze processen kunnen zich afspelen in ieders lichaam.

...

Antilichamen, cytokines, vaccines en voedingssupplementen

Antilichamen

Antilichamen zijn vork-achtige moleculen, die het dansend kindje vasthoudt. Het zijn producten van zogenaamde B lymfocyten, een belangrijke groep van de witte bloedcellen. Ze zijn in werkelijkheid zo klein dat ze in ons lichaam op bijna elk plekje terecht kunnen komen en daarom uitermate geschikt als medicament tegen diverse aandoeningen. Antilichamen kunnen door middel van biotechnologische processen in het laboratorium geproduceerd worden. Dit gebeurt dus buiten het lichaam in zogenaamde celkweken. Elk antilichaam molecuul kan slechts een enkel antigeen herkennen zoals een sleutel past in een slot. Momenteel worden meer dan 20 antilichamen succesvol toegepast in de kliniek. Meer dan 150 nieuwe varianten worden momenteel getest of wachten op goedkeuring door de autoriteiten.

- Antilichamen die specifiek gericht zijn tegen **tumor necrosis factor** vormen een bijzonder effectief geneesmiddel tegen reumatische artritis en het syndroom van Bechterev.
- Hetzelfde geldt voor de zeer effectieve antilichamen die gericht zijn tegen eiwitten die in overmaat voorkomen op bepaalde borstkanker tumor cellen, het zogenaamde **her2/neu** eiwit.

Voor geïnteresseerden:

Onderzoek in de tumor immunologie heeft gedurende de laatste twee decennia aangetoond dat immuunreacties tegen tumoren de tumorgroei en uitzaaiingen (metastasen) van de tumor kunnen remmen, vooral in een vroeg stadium. De positieve waarnemingen in diermodellen worden nu voortgezet in klinische studies in patiënten. Dit betreft zowel actieve vaccinaties, maar vooral ook passieve therapieën met behulp van antilichamen gericht tegen tumorspecifieke antigenen. Voorbeelden van producten met klinkende namen zijn Avastin, Erbitux, Rituxan, Bexxar.

Avastin bijvoorbeeld is gericht tegen de groeifactor VEGF (vasculaire Endotheliale Groei Factor). Door aan VEGF te binden is de tumor niet meer in staat

• • •

4

Prof. dr. Virgil E.J.C. Schijns

Immuuninterventie 'Drukken op de juiste knoppen van het afweersysteem'

nieuwe bloedvaten aan te maken en daardoor krijgt de tumor geen voeding en zuurstof. Avastin wordt ook wel een angiogenese-remmer genoemd.

Cytokines

Een andere succesvolle immunotherapie betreft het gebruik van zogenaamde cytokines. Deze moleculen vormen de communicatiesignalen tussen de cellen van afweerapparaat. Je kunt ze vergelijken met woorden waarmee de cellen communiceren. Er zijn meer dan 50 cytokines ontdekt tot heden. Ze werken door te binden aan receptoren, zoals een sleutel past in een slot.

De wratten die voorkomen op deze handen ontstaan door een genetisch gebrek van het immunologisch molecuul interferon. Therapeutische toediening van het ontbrekende molecuul laat de hinderlijke wratten weer verdwijnen; een duidelijk voorbeeld van de kracht van dit immunologische molecuul.

Als variatie op dit thema ontdekten wij dat toediening van een vergelijkbaar gen coderend voor de signaalstof interleukine-12, een cytokine, de weerstand tegen respiratoire influenza en orale salmonella verhoogt bij pluimvee (Schijns et al., 2008).

Vaccins

Naast deze voorbeelden van passieve immunotherapie, met planklare antilichaam- of cytokine producten, bestaan er ook zogenaamde actieve immunotherapien die gebaseerd zijn op het actief opwekken van een interne immunorespons. Dit kan door middel van vaccins.

Het succes van vaccins is alom bekend. Recente voorbeelden die de pers regelmatig halen zijn vaccinaties tegen bijvoorbeeld blauwtong (bluetongue virus) bij schapen, mond-en-klauwzeer bij varkens en runderen, Q-koorts en het influenza virus, de veroorzaker van griep. De publiciteit rondom de Mexicaanse griep is een recent voorbeeld.

Afweeerondersteuning

Voor de volledigheid noem ik ook bepaalde drankjes en voeding met goede bacteriën, probiotica, die op 'natuurlijke wijze' het immuunsysteem van baby's en volwassen ondersteunen, dat in numerieke zin vooral in je buik blijkt te zitten. Ik

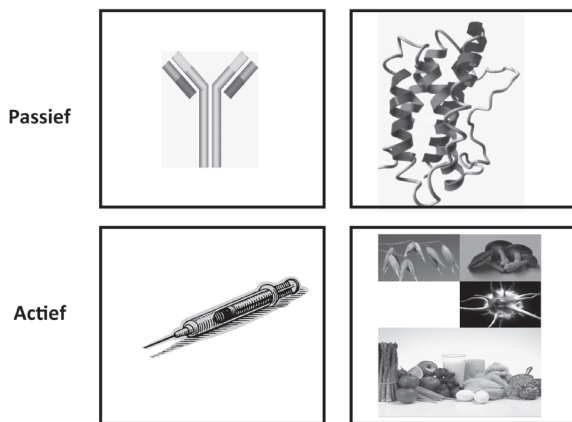
...

ga het echter niet hebben over immuunstimulatie of -suppressie – door middel van voeding, aangezien dit gebied in ruime mate wordt behartigd binnen de buitengewone leerstoel van collega Prof. Harry Wichers. Ik ga het dus niet hebben over pre- en probiotica, paddenstoelen- of planten extracten, of andere belovende voedingscomponenten. Echter mogelijkheden voor samenwerking tussen beide leerstoelen liggen voor de hand.

Dit zijn slechts enkele voorbeelden van succesvolle gerichte immuuninterventies (zie figuur 1). Zij brengen hoop en hoge verwachtingen met zich mee voor vele toekomstige aandoeningen en ongemakken, waaronder chronische – of armoede-gerelateerde infecties, – denk aan malaria, AIDS en tuberculose. Maar ook tegen kanker, verslaving aan roken, overgewicht of hoge bloeddruk. Hier kom ik later nog op terug.

.....

Succesvolle immuuninterventies



Figuur 1. Voorbeelden van succesvolle immuuninterventies. Passieve toediening van anti-lichamen (linksboven) of cytokines (rechtsboven), of actieve inductie van immuunreacties door vaccins (linksonder) of bepaalde voeding (rechtsonder).

In mijn rede wil ik aandacht besteden aan de volgende elementen:

De functie en samenstelling van het immuunapparaat.

Het inzetten van immunologie voor het verbeteren van levenskwaliteit ('impact for life'), door het exploreren van de potentie van het immuunsysteem.

Gerichte immuuninterventie strategieën door vaccinatie.

De toekomst van de actieve immuunprogrammering dmv rationeel ontworpen vaccins.

De positie van de buitengewone leerstoel in onderzoek en onderwijs.

De functie en samenstelling van het immuunapparaat

De spelers

Het vak Immunologie wordt vaak als ingewikkeld ervaren omdat er verschillende cellen bij betrokken zijn die op verschillende plaatsen in het lichaam actief zijn en met elkaar communiceren en interacties aangaan. De ervaring van complexiteit ligt waarschijnlijk aan de veelheid aan mogelijke interactiestappen en de variëteit in routes. Deze zullen dominoachtige cascades en zogenaamde immunologische paden opleveren. Omdat de leerstoel hierom draait zal ik proberen om dit complexe orgaan eenvoudig voor U te schetsen.

Het immuunapparaat wordt vaak ingedeeld in twee hoofddivisies om het overzichtelijk te houden, echter een scherpe grens tussen de onderdelen is niet altijd duidelijk aan te geven. Hoewel beide systemen voortdurend met elkaar communiceren, kunnen zij functioneel onderscheiden worden in een aangeboren (of algemeen) en het adaptieve immuunsysteem.

Als complex systeem wordt het afweerapparaat vaak vergeleken met een militaire organisatie, bestaande uit diverse eenheden, die net als kazernes strategisch gesitueerd liggen in het lichaam. In de kazernes, immunologische weefsel, (waaronder die van de eerder genoemde darmen) bevinden zich diverse typen cellen (de soldaten, officieren, generaals) met verschillende bevoegdheden en wapens (denk aan cytokines, antilichamen, en een scala aan communicatie-eiwitten en dodelijke moleculen voor ongewenste cellen).

Sommige afweercellen, waaronder de belangrijke T- en B- lymfocyten patrouilleren dagelijks, via de circulatie van het bloed in onze bloedvaten en via lymfekanaaltjes, terwijl anderen zich bevinden op strategisch gesitueerde locaties in het lichaam, zoals de talloze lymfekliertjes, de milt en het beenmerg (de kazernes of veldposten).

...

7

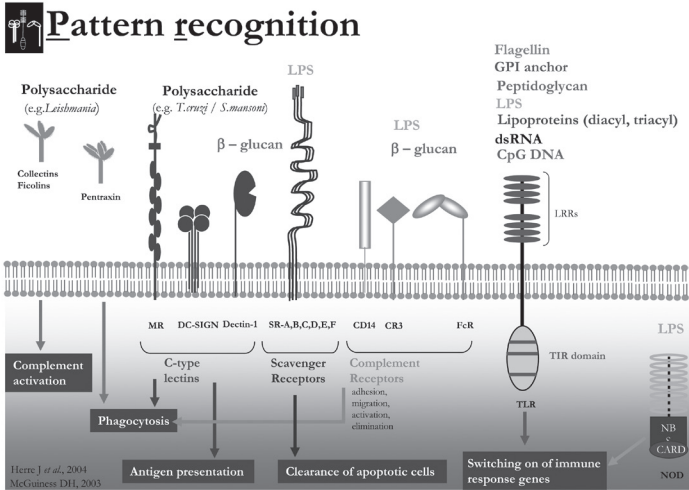
Aangeboren en adaptief afweerapparaat

De T- en B- cellen zijn zeer gespecialiseerd en kunnen in feite maar een of twee truckjes uitvoeren die nodig zijn om micro-organismen uit te schakelen. Hiervoor moeten zij echter op de juiste wijze geactiveerd worden en eerst een aantal delingen ondergaan om met een grotere groep van dochtercellen precies de juiste taak uit te voeren. Zij vormen samen het adaptieve immuunapparaat dat in staat is geheugencellen te vormen, die later snel opgeroepen kunnen worden om dezelfde ziektekiemen aan te vallen. Deze cellen zijn in het laatste deel van de vorige eeuw lange tijd gezien als het meest belangrijke onderdeel van het afweerapparaat. Echter het oproepen van dit gedeelte van het immuunapparaat kost meestal dagen tot weken, een periode die te lang kan zijn om de binnendringer op tijd tegen te houden.

Gelukkig bestaan er naast deze zeer gespecialiseerde T- en B-lymfocyten ook een arsenaal van afweercellen die zich minder gespecialiseerd hebben en meer dan één kunstje kunnen uitvoeren, en daarbij ook in staat zijn om onmiddellijk te reageren. Hiertoe behoren de cellen van het zogenaamde aangeboren immuunapparaat, dat ook aanwezig is bij lagere vertebraten en zelfs vergelijkbare tegenhangers heeft bij planten. Dit aangeboren afweersysteem herkent algemeen voorkomende structuren van micro-organismen, die deze pathogenen moeilijk kunnen veranderen, en daarom een duidelijk herkenningssignaal vormen om actief te worden en het pathogeen te lijf te gaan. Deze herkenning (signal 0 voor vakgenoten) vindt plaats door zogenaamde pathogeen-herkennings receptoren (pathogen recognition receptors) binnen enkele minuten (zie figuur 2).

Voor geïnteresseerden:

Na de invasie wordt de binnendringer eerst herkend door scouts, zoals neutrofielen en indien mogelijk, meteen opgeruimd door cellulaire stofzuigers (bijvoorbeeld macrofagen). In de meeste gevallen worden ook verkenners, zoals dendritische cellen, gerekruteerd en geactiveerd door alarmerende signaalstoffen. Deze belangrijke cellen zijn in staat om de binnendringer vast te pakken en vervolgens aan te bieden aan adaptieve T- of B-lymfocyten die er vervolgens op gaan reageren wanneer zij de juiste informatie over de binnendringer krijgen aangeboden. Afhankelijk van de manier van aanbidding kunnen T-cellen zich ontwikkelen in T-helper type 1 cellen, betrokken bij ontstekingen, in T-helper type 2 cellen die antilichaamproductie stimuleren, of in regulatoire T-cellen die een immuunremmende activiteit uitoefenen.

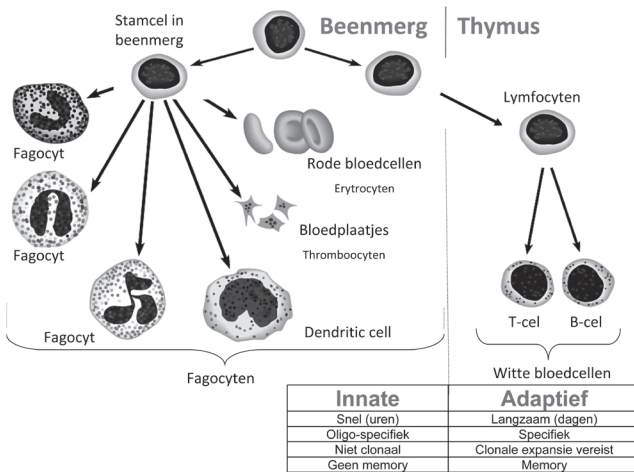


Figuur 2. 'Pattern recognition receptors' herkennen microbiële structuren (signal 0).
(Uit: Ribeiro and Schijns, 2009)

Binnen de leerstoelgroep Celbiologie en Immunologie (CBI) wordt onderzoek verricht aan fundamentele en strategische aspecten van immuniteit, in een vergelijkende en evolutionaire context. Centraal staat daarbij de analyse van het effect van intrinsieke, (genetische) factoren en extrinsieke, (omgevingsfactoren) factoren, zoals infecties, voedingscomponenten, elektromagnetische velden, en acute of chronische stress. Hierbij wordt het immuunsysteem bestudeerd bij vissen, kippen, runderen, muizen en mensen.

Deze inspirerende CBI-groep, onder leiding van professor Huub Savelkoul, is voor mij een uitstekende plek om mijn leeropdracht uit te oefenen. De leerstoel 'immuuninterventie' kan een belangrijke bijdrage leveren aan verdieping en verbreding van kennis betreffende het rationeel aansturen van actieve immuniteit tegen ziektekiemen, tegen allergieën en tumoren, tijdens modulatie door voedingscomponenten en blootstelling aan stressoren. Daarbij kan de leerstoel bruggen slaan binnen Wageningen UR, met DLO, op het gebied van welzijn en gezond-

heid, dierlijke en humane voeding, leefstijl en huisvesting, maar juist ook naar de afdeling Virologie (met Prof. Just Vlak) om de basis van antivirale immunoreacties te begrijpen en te exploiteren, als ook naar de groep van Prof. Matt de Jong (QVE), die zich bezighoudt met transmissie en interventies bij virale infecties en naar de groep van Dr. Arjen Schots op het gebied van antilichaamproductie in planten. Nieuwe mogelijkheden zijn er ook om samenwerking te ontwikkelen met de leerstoelgroepen Microbiologie (Prof. Willem de Vos) en Host-Microbe Interactomics (Prof. Jerry Wells) om de bacteriële infectiekant te benaderen. Bruggen zijn ook mogelijk naar diverse andere onderzoekers binnen en buiten Wageningen UR. Mijn internationale netwerk op het gebied van de ontwikkeling van immunomodulatie therapieën bij infecties kan ik hierbij inzetten ten behoeve van verschillende onderzoekslijnen.



Figuur 3. Het aangeboren immuunsysteem wordt actief na herkenning van algemene structurele patronen die gezien worden als vreemd of gevaarlijk. Adaptieve T- en B- cellen herkennen slechts één specifieke structuur (antigeen). Het adaptieve immuunsysteem kent daarom een hogere specificiteit ten opzichte van het aangeboren (innate) immuun systeem, maar heeft ook meer tijd nodig om een legertje dochtercellen met dezelfde functie te genereren door celdelingen.

Het inzetten van immunologie voor het verbeteren van levenskwaliteit

Nu terug naar onze strategie: 'Exploring the potential of the immune system'. Dagelijks worden mensen en dieren belaagd door bedreigende ziektekiemen, zoals virussen, bacteriën, schimmels en parasieten. Dit gebeurt meestal na contact met besmette personen in onze omgeving, maar ook dieren kunnen een besmettingsbron vormen, inclusief insecten.

Wie heeft niet ooit een sneetje in z'n huid gehad? Dit filmpje laat zien hoe bij een sneetje in de huid, cellen uit het bloed naar het wondje migreren om de schade te beperken. Hiermee zorgt ons immuunsysteem voor het beschermen van ons eigen lichaam tegen mogelijke ellende door binnendringende ziektekiemen.

Zonder afweert zijn wij nauwelijks in staat deze invasies te overleven. Ons immuunsysteem zorgt voor het beschermen van ons eigen lichaam tegen schade die aangebracht wordt na het binnendringen van deze micro-organismen door ze inactief te maken en op te ruimen (Zinkernagel, 2003).

Denk bijvoorbeeld aan de 'bubble boys' die geen actief afweersysteem bezitten. Zij lijden aan de ziekte 'Severe Combined Immunodeficiency Disease (SCID)' en moeten leven in een luchtballon om ziekteverwekkers tegen te houden. Maar denk bijvoorbeeld ook aan AIDS patiënten die een verzwakte afweer hebben, doordat het HIV-virus zich vermeerdt in afweercellen die hierdoor inactief worden.

Daarnaast zijn er aanwijzingen dat ons afweersysteem, tot op zekere hoogte, de groei van tumoren kan remmen (Galon et al., 2006).

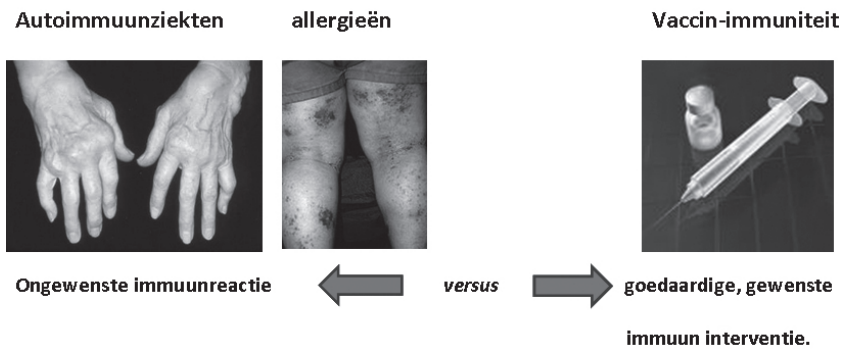
Zo is bekend dat immunologisch zwakke transplantatiepatiënten een 4 tot 5 keer hoger risico lopen op een cervicaal carcinoma, veroorzaakt door het humane papillomavirus (Sheil et al., 1992), en ook vaak niet in staat zijn om een cytomegalovirus infectie te onderdrukken (Husain, 2009).

Ook de eerder getoonde foto van de papilomaviruswratten op de handen van iemand die te weinig interferon (IFN) aanmaakt illustreert dat het missen van slechts één bepaalde knop in het immuunsysteem al tot verlaagde afweer leidt. Na toediening van het ontbrekende IFN verdwijnen de wratten letterlijk als sneeuw voor de zon.

Ook is bekend dat tijdens het ouder worden de functie van het afweersysteem achteruit gaat, waardoor de kans op ziekten toeneemt (Wheeler et al., 2003) en de werkzaamheid van vaccins afneemt (Remarque et al., 1996).

...

In tegenstelling tot deze gunstige eigenschappen kan ons afweersysteem ook op hol slaan en ongewenste effecten teweeg brengen, tijdens bijvoorbeeld allergische reacties. Of zelfs, nog erger, schade veroorzaken aan het eigen lichaam tijdens zogenaamde ‘auto-immuunziekten’, zoals multiple sclerose (MS), reumatoïde artritis, autoimmuun-diabetes of lupus.



Figuur 4. Ongewenste immunreactie versus goedaardige, gewenste immuninterventie.

De leerstoel Immuuninterventie zal zich concentreren op gewenste positieve eigenschappen van het afweersysteem voor mensen en dier, en op strategieën die de grote potentie van dit complexe systeem op de juiste manier kunnen activeren en sturen bij het bestrijden van specifieke ziekten en ongemakken. In lijn met de missie van Wageningen Universiteit ‘**exploring the potential of nature**’ verkennen wij de ‘potential of the immune system’.

In vergelijking met bepaalde chemische geneesmiddelen is het positief gebruiken van het lichaamseigen immuunsysteem een zeer aantrekkelijke aanpak. Het afweersysteem kan heel gericht opereren in vrijwel elke gewenste plek in het lichaam, met minimale bijwerkingen op normale omringende weefsels, indien op de juiste wijze geïnstrueerd. Tegelijkertijd onthoudt het immuunsysteem deze gerichte opruimactie, door het creëren van geheugencellen met dezelfde eigenschappen, de zogenaamde ‘memory’ cellen, waardoor bij herhaalde aanvallen snel

adequate immuniteit ontstaat, vaak zonder dat we daar iets van merken. Denk maar aan onze opgebouwde immuniteit tegen kinderziekten waar jonge kinderen wel zichtbaar last van hebben.

Immuuninterventie door vaccinatie

Vaccinologie kent een lange geschiedenis. Het besef van het fenomeen immuniteit is in feite al heel oud. In beschrijvingen van de beroemde pestuitbraak in Athene, in het jaar 430 voor Christus, schrijft de Griek Thucydides dat 'de zieken verzorgd werden door hen die herstelden en overleefden, omdat zij wisten dat zij nooit een tweede keer aangevallen zouden worden' (Silverstein, 1989). De eerste vaccinaties vonden waarschijnlijk plaats in China en andere delen van Azië. Hier werd de variolatie-methode toegepast door poeder van pokkenkorsten (variola = pokken) op de huid of in de neus aan te brengen. Dit gebeurde vermoedelijk al in de 7e eeuw door Indiase boeddhisten.

In de Westerse wereld wordt de Engelse plattelandsarts **Edward Jenner** beschouwd als de grondlegger van de vaccinologie. In een publicatie uit 1798 (Jenner, 1978) beschrijft hij hoe hij op (14 mei 1796) – exact 213 jaar geleden vandaag –, een 8-jaar oud jongetje (James Phipps) vaccineert door middel van een extract van pus uit een huidlesie van een melkmeid, die geïnfecteerd was met het relatief onschuldige koepokkenvirus. Twee maanden later infecteert hij de jongen via de huid met het echte ziekteverwekkende pokkenvirus, waartegen hij gelukkig immuun blijkt te zijn. Jenner werd hierdoor als held beschouwd en hij introduceerde de term 'vaccin' (afkomstig van het woord vaca = koe). Tegenwoordig zou een dergelijke handelwijze leiden tot veroordeling en gevangenisstraf. Vaccinontwikkeling duurt tegenwoordig veel langer. Voordat de eerste testen in mensen worden uitgevoerd zijn uitgebreide voorzorgsmaatregelen genomen, met zorgvuldig afgewogen, ethisch gekeurde testen in dieren en vrijwilligers. Echter Jenner's ontdekking aan het eind van de 18e eeuw, leidde ertoe dat op 9 december 1979 het dodelijke pokkenvirus (small pox) door de wereld gezondheidsorganisatie beschouwd werd als uitgeroeid van deze wereld (zie ook <http://www.jennermuseum.com/>). We moeten bedenken dat in die tijd het pokkenvirus erg veel slachtoffers maakte.

...

Na Jenner kende de vaccinologie een volgende hink-stap-sprong uitgevoerd door een andere held uit de vaccin-wereld. Dat was **Louis Pasteur** (Geison, 1995). In 1885 werd een jonge man, Joseph Meister, bij Louis Pasteur gebracht nadat hij gebeten was door een hondsdolle hond. Hij zou onvermijdelijk zijn overleden en daarom nam Pasteur het risico om voor het eerst een experimenteel rabiësvaccin op hem te testen. Dat had hij geïsoleerd uit het ruggenmerg van een geïnfecteerd konijn en werkte in honden. Na 3 maanden bleek de jongen gezond en was de werking van het rabiësvaccin voor de mens aangetoond.

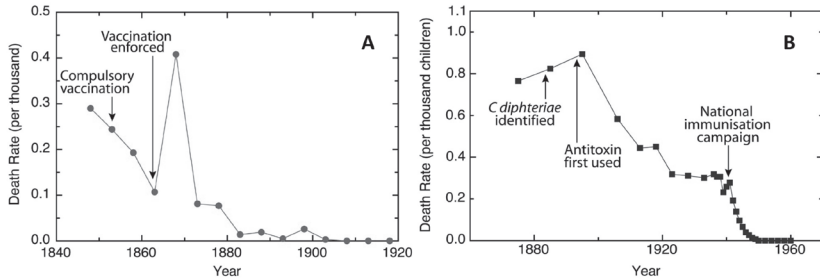
In die tijd kon men dus weliswaar de eerste effectieve vaccins maken, maar men wist toen niet hoe ze werkten. Tegenwoordig gaat het niet meer zo gemakkelijk. Vergunningverlenende overheden willen liefst zo nauwkeurig mogelijk weten hoe het werkt. Dat blijkt vaak niet mee te vallen.

Vaccins

Tegenwoordig zijn vaccins bekend als verzwakte of geïnactiveerde micro-organismen of kleine stukjes hiervan, zogenaamde subunits, die niet meer ziekteverwekkend zijn en worden aangeboden aan het immuunsysteem, in de meeste gevallen door middel van injecties. Het immuunsysteem hoort deze ziekteverwekkerstukjes te herkennen en zich na herhaald contact te herinneren met behulp van de geheugencellen. Deze herinnering zal bij een echte infectie het afweerapparaat in staat stellen de ziekteverwekker sneller, en meer adequaat te lijf te gaan door het legertje opgewekte adaptieve T- en B-lymfocyten.

In de vorige eeuw bleken succesvolle vaccins in staat om uitbraken van infectieziekten in te dammen of geheel uit te roeien. Succesvolle voorbeelden zijn de pokken en difterievaccins (zie figuur 5). We kennen allen de noodzaak van het vaccineren van kinderen in het nationale rijksvaccinatie programma (RVP) en het preventief vaccineren van de veestapel en de gezelschapsdieren. Door hun succes en relatief lage kosten behoren vaccins tot de meest succesvolle medische instrumenten van de vorige eeuw.

In het verlengde van actieve vaccinatie door vaccins zijn later antilichamen ontwikkeld die passief kunnen worden toegediend en tegenwoordig ook buiten het lichaam gemaakt kunnen worden in antilichaamfabrieken.



The most important achievement of Western medicine, namely the control of infectious diseases, has occurred largely albeit not solely through vaccination. McKeown T (1976). *The modern rise of population*. Edward Arnolds Publishers Ltd,

Figuur 5. Control of infectious diseases. Mortality caused by smallpox (A) and diphtheria (B) in England and Wales, and the effect of vaccination (Uit McKeown, 1976).

De toekomst van actieve immuunprogrammering d.m.v. rationeel ontworpen vaccins

Gaten in onze kennis

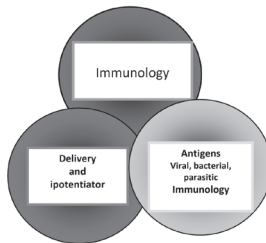
De meeste vaccins zijn ontdekt door vallen en opstaan, de zogenaamde ‘**trial-and-error**’ aanpak. Meestal startte men door ziektekiemen minder schadelijk te maken. Het pathogeen werd eerst opgekweekt, daarna geïnactiveerd door bestraling of chemische behandeling, waarna het eerst getest werd in dieren en daarna in mensen. Denk aan de pioniers Eduard Jenner en Louis Pasteur (die het soms andersom deden). Dit gebeurde zonder kennis van (de gewenste) immuunreacties, die in die tijden ook nog vaak onbekend waren. Tegenwoordig weten we veel meer van het immuunapparaat en willen we vaccins op een meer rationele manier maken, met een meer voorspelbare werking en veiligheid.

Hoe maken we een goed vaccin met meer zekerheid, gebaseerd op onze toegenomen kennis? Dit kan via het drie-stappen plan.

...



[1] Identify protective effector mechanism:
immunological correlate of protection (IMCOP)



[3] Select appropriate delivery mode
and/or immune stimulus to induce correct
type and magnitude of immune response

[2] Identify and select conserved
protective antigen, able of inducing
protection in outbred population

Figuur 6. Stappenplan van rationeel vaccin ontwerp.

Uit: Schijns V.E.J.C., and Degen W.G. (2008). Immunopotentiators of the future. Clin. Pharmacol & Therapeutics 82: 750-755.

1) Het juiste correlaat van bescherming

Rationele vaccinologie betekent dat we eerst moeten weten welke immunreactie we willen opwekken tegen het betreffende pathogeen. We weten tegenwoordig dat verschillende micro-organismen niet door één en dezelfde type immunreactie uitgeschakeld worden, maar dat per ziekteverwekker een specifieke afweerreactie nodig is, die wordt verkregen via het opwekken van de juiste immunologische cascade ‘pathway’. Daarom is het belangrijk dat we eerst weten welke type immunreactie in staat is het pathogeen effectief op te ruimen. Dit vereist immunologische studies naar het zogenaamde ‘immunological correlate of protection’.

2) De juiste antigenen

Stap twee vereist de keuze van de juiste antigenen. De meeste bestaande vaccins werken door het opwekken van de eerder genoemde antilichamen, geproduceerd



door gespecialiseerde cellen, de zogenaamde B-lymfocyten, die in staat zijn om binnendringers te herkennen en inactief te maken door aan ze te binden. Het succes van deze **B-cel vaccins** ligt grotendeels aan het feit dat de nakomelingen van de micro-organismen weinig veranderen in de loop van de tijd en hierdoor steeds weer opnieuw het onderspit delven tegen de eerder opgewekte antilichamen. De antigenen van dergelijk ziekteverwekkers zijn dus redelijk stabiel. Echter in de loop van de evolutie hebben micro-organismen niet stil zitten afwachten. Een groot deel van de ziektekiemen verandert de buitenkant van zijn nakomelingen, waardoor antilichamen ze niet meer herkennen om te binden en de nakomelingen kunnen ontsnappen. Influenza virus, veroorzaker van de griep, is bekend om zijn variabiliteit, waardoor het vaccin regelmatig aangepast moet worden. Denk bijvoorbeeld aan de Mexicaanse griep. Ziekteverwekkers die jaarlijks hun uiterlijk veranderen zijn moeilijk in toom te houden door middel van conventionele vaccin strategieën. Nog extremer is de situatie bij bijvoorbeeld het HIV-virus, veroorzaker van AIDS. Dit virus verandert vrijwel dagelijks zijn uiterlijk en is daarom niet of nauwelijks te controleren met antilichamen.

T-cel vaccins

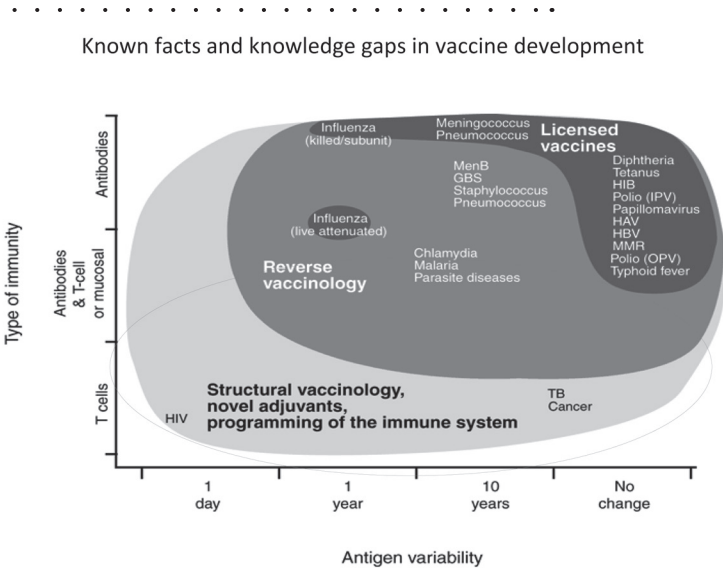
Ook blijken veel ziektekiemen in staat te verdwijnen in cellen van het lichaam, waar zij zich vermeerderen en waar antilichamen helaas niet naar binnen kunnen komen. In dergelijke gevallen moeten T-lymfocyten de klus klaren. Deze afweercellen herkennen kleine stukjes van de binnendringer aan het oppervlakte van de geïnfecteerde cellen en zijn in staat om deze cellen op te offeren, door ze selectief te vernietigen na het geven van een 'dodelijke kus'; dat wil zeggen het lokaal afgeven van dodelijke moleculen. Dezelfde cytolytische effector T-cellen (CTLs) zijn ook vaak nodig bij het vernietigen van tumorcellen. Bij het ontwerpen van vaccins die CTLs trachten op te wekken is het mogelijk en nodig om fragmenten van het micro-organisme te kiezen die niet te veel variëren bij nakomelingen, waardoor de kans op ontsnappen aan herkenning verkleint. Het opwekken van dergelijke effector- en memory-CTLs is niet makkelijk. Bovendien blijken ze vaak een relatief korte levensduur te hebben en zijn ze moeilijk te monitoren bij de mens omdat ze in lage hoeveelheden aanwezig zijn in het bloed, de enige praktisch toegankelijke plek.

...

3) *De juiste immuunstimulantia*

De derde stap betreft het kiezen van geschikte immuunstimulantia. Bepaalde nieuwe immuunstimulantia die in de loop der tijd zijn ontdekt, bleken in staat de juiste effectorcellen op te wekken na toevoeging van vaccins. Het vinden van dergelijke moleculen of formuleringen vormt een van de grootste uitdagingen voor vaccinologen in de komende jaren.

Het mag duidelijk zijn dat veel aspecten van het vaccinontwerp nog onbekend zijn, zoals blijkt uit onderstaande figuur van Rappuoli. De **heilige graal** vormt momenteel het vinden van de manier waarmee we antigenen in het vaccin het beste kunnen aanbieden aan het immuunsysteem, in combinatie met de juiste immuunstimulantia.



Figuur 7. Gaten in onze vaccinologie-kennis. Uit: Rappuoli (2007).

We weten nog relatief weinig van de werking van immuunstimulantia, zogeheten adjuvantia (Rappuoli, 2007; Schijns en Degen, 2007). Nog slechts 20 jaar geleden noemde Charles Janeway adjuvantia 'the immunologist dirty little secret' (Janeway, 1989). Adjuvantia worden ook hulpstoffen genoemd. Deze benaming doet deze categorie van stoffen echter te weinig eer aan. In recente jaren is gebleken dat adjuvantia meestal invloed uitoefenen op het aangeboren afweersysteem, juist door voorspellingen en onderzoeksresultaten van Janeway's groep zelf. In de laatste decennia is gebleken dat juist dit systeem essentieel is bij het herkennen van het vaccin en het starten en sturen van de immunologische cascade; inclusief het activeren van de uitvoerende adaptieve immuuncascade.

Kortom, rationele vaccinologie betekent dat we immunologische kennis horen te ontwikkelen van de juiste beschermingscorrelaten, met de bijbehorende geschikte antigenen en deze aanbieden aan het immuunsysteem met de juiste sturende activatiesignalen. Deze leerstoel probeert op dit gebied verdieping en verbreding te bieden binnen de leerstoel groep CBI, door de belangrijke cellulaire en moleculaire factoren te identificeren en deze in te zetten in een rationeel vaccinontwerp voor humane en veterinaire toepassing.

De positie van de buitengewone hoogleraar in onderzoek en onderwijs

Toekomstperspectief van het onderzoeksveld

Wat kunnen wij aan immuuninterventies verwachten op het gebied van de gezondheid van mens en dier? In de laatste decennia zijn veel belangrijke knoppen ontdekt en hun functie wordt duidelijk(er) onderkend. Het is verbazingwekkend hoeveel interacties plaatsvinden om het afweerapparaat te sturen en hoe ingenieus verfijnde evolutionaire processen zijn ontstaan die het immuunsysteem kan inzetten. In de loop van de laatste twintig jaren heb ik diverse nieuwe sleutelmoleculen en -cellen zien langskomen. Zonder volledig te willen zijn noem ik: tumor necrosis factor (TNF), nitric oxide, interleukine (IL)-12, IL-13, IL-18, IL-17, dendritische cellen, chemokines, alternatief geactiveerde macrofagen, Toll-Like Receptors, etc. Ook zijn nieuwe strategieën ontstaan om nieuwe spelers op te sporen en te begrijpen, waaronder genomics, transcriptomics, proteomics en zelfs interactomics. En het houdt niet op. Onlangs werd ontdekt dat nog veel belang-

...

rijke knoppen verborgen liggen in het cellulaire RNA, zoals onlangs veelvuldig in de niet-wetenschappelijke pers beschreven.

Biologisch actieve moleculen (meestal zijn het eiwitten) van het afweersysteem, zoals cytokines, defensines of monoklonale antilichamen, kunnen gebruikt worden voor het gericht sturen of prikkelen van het immuunsysteem en kunnen buiten het lichaam geproduceerd worden. Hiermee kunnen allerlei ziekten en ongemakken bestreden worden. Mogelijke hordes voor het beschikbaar komen van dergelijke preventieve of therapeutische geneesmiddelen vormen de productiekosten, de korte half-waarde tijd van de biologische moleculen, maar vooral ook effectieve toediening (delivery).

Binnen deze leerstoel heb ik de volgende aanpak voor ogen:

A) Ten eerste moeten wij alert blijven op alsmat **nieuw ontdekte cellen en moleculen** van het afweersysteem en de rol die zij spelen. Van sommigen moeten we onderzoeken of ze kunnen bijdragen aan vaccins en het sturen van de gewenste immuniteitsmechanismen volgens nieuw ontwikkelde concepten.

B) Een andere strategie betreft het onderzoeken van bekende stimulantia, waarvan we niet weten hoe ze werken. Deze moeten we systematisch onderzoeken op hun werking en trachten ze te verbeteren door experimentele variaties. Je zou dit kunnen beschouwen als **reverse adjuvantologie**.

Op die manier kan ik me richten op fundamentele wetenschappelijke vragen die tevens een praktische toepassing kunnen vinden in toekomstige vaccins. In een recent afgerond promotieonderzoek van Theo Jansen hebben we uitgebreid onderzoek gedaan naar de essentiële elementen in immuunsysteem-activerende water-in-olie emulsies en hun mogelijke werking (Jansen et al., 2004). Dergelijke emulsies worden al decennia lang uitgebreid toegepast als adjuvantia in het veld – in veterinaire vaccins en in experimentele antitumor vaccins – maar de exacte werking ervan bleef vooralsnog onopgelost. Deze aanpak is een duidelijk voorbeeld van ‘reverse adjuvantology’.

Momenteel ben ik bij Crossbeta Biosciences nauw betrokken bij onderzoek naar structuur-functie relaties van eiwitantigenen, die gericht veranderd zijn. Hierdoor

• • •

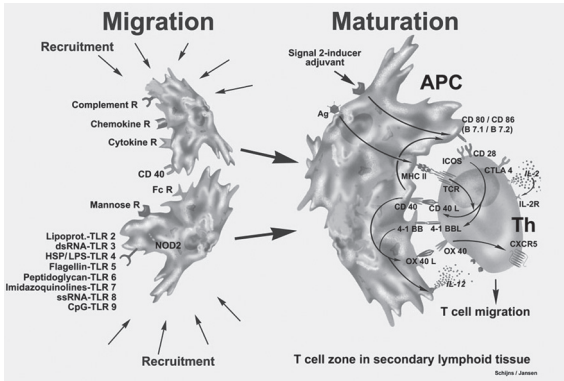
20

Prof. dr. Virgil E.J.C. Schijns

Immuuninterventie ‘Drukken op de juiste knoppen van het afweersysteem’

vormen zij een activatie-sigitaal voor het immuunsysteem zonder toevoeging van klassiek adjuvantia, die vaak wel nog een zekere bijwerking kunnen vertonen. Deze eiwitten zijn attractief als nieuwe generatie vaccins, met minimale bijwerkingen.

Immunopotiaton by key immunological check and amplification points: belangrijke knoppen

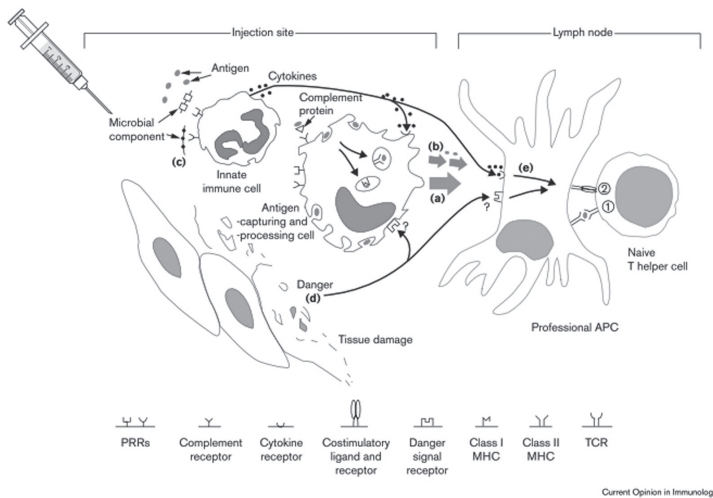


- 1) Nieuwe moleculen en cellen
- 2) 'Reverse adjuvantology'

Figuur 8. Belangrijke immunologische knoppen.

Visie op aandachtsvelden in het onderzoek
'First time right'

Hoe kunnen we de juiste immunologische 'pathway' inslaan? Zoals al eerder genoemd: de crux bij het vaccineren zit in de juiste aanbieding en het activeren van het aangeboren en vervolgens het adaptieve immuunsysteem. Hierdoor wordt het afweersysteem als het ware geïnstrueerd en geprogrammeerd. Het actief programmeren moet bij voorkeur plaatsvinden na slechts één, of enkele, injecties en liefst zelfs via orale toediening. Daarom moet in die enkele injectie alle informatie zitten die het immuunapparaat activeert en alle benodigde spelers correct instrueert om de juiste acties te laten uitvoeren.

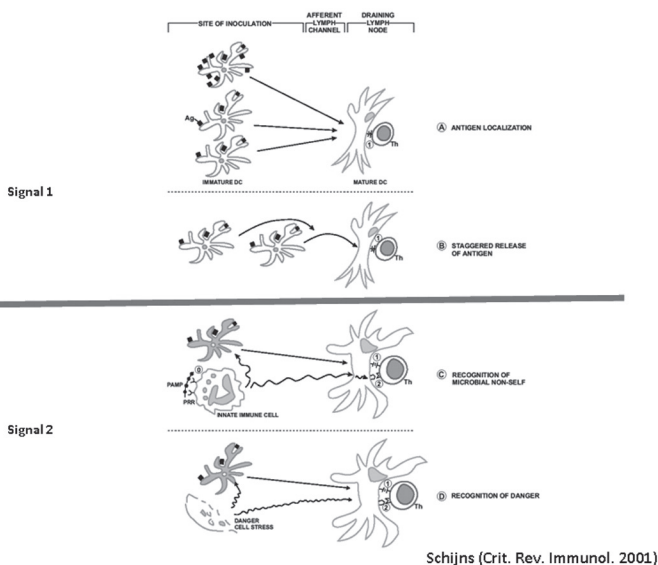


Figuur 9. Stapsgewijze activatie van het afweersysteem, met aanduiding van 'critical amplification steps' a t/m e. Uit: Schijns, 2000.

Via een reductionistisch aanpak zijn immunologen altijd op zoek naar de zogenaamde 'master switches' of hoofdschakelaars van het afweersysteem. De aard en potentie van deze grote hoeveelheid verschillende signalen vormen mijn stokpaardje. Vooral het schrijven van (review)-publicaties over dit onderwerp, hielp mij om zelf het overzicht te behouden op dit veld. Hoewel het te ver voert om hier nu in detail op in te gaan, komt in het feite neer op het aanbieden van twee (2) belangrijke hoofdstimuli.

De eerste stimulus betreft het sturen van antigeen, met de juiste timing, naar de juiste plaats en in juiste hoeveelheid (dit betreft signal 1). Het gaat dan om 'When, where, and how much antigeen'. De tweede hoofdstimulus betreft het aanbieden van juiste co-stimulatie (dit betreft signal 2). Hieronder valt ook het tijdelijk onderdrukken van natuurlijk aanwezige remmende signalen binnen het afweerapparaat. (Schijns, 2000, 2001, Schijns and Degen, 2007). Toekomstig onderzoek gericht op deze twee hoofdstimuli, in het bijzonder binnen aangeboren afweerprocessen, zullen nog meer opheldering en mogelijkheden geven binnen dit veld van immuunsturing.

Adjuvants classed by function



Figuur 10. Signal 1 and signal 2.

Voor de geïnteresseerden:

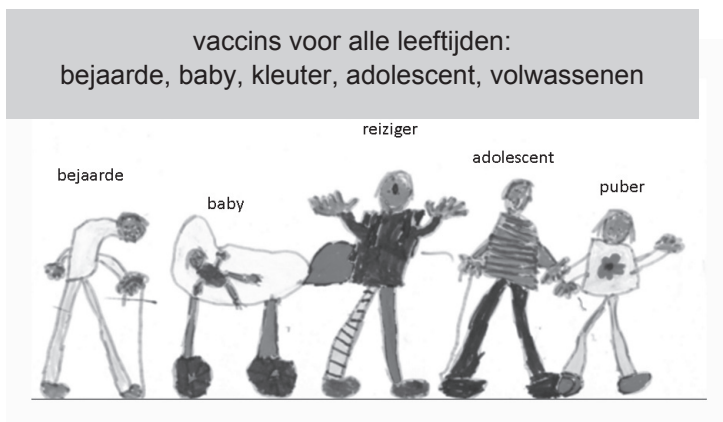
Onlangs zijn nieuwe mechanismen voorgesteld voor de werking van aluminium hydroxide (Eisenbart et al., 2008, Sun et al., 2003), het enige adjuvant dat gebruikt wordt in vaccins voor mensen in de Verenigde Staten. Helaas bleken deze mechanismen in modelstudies niet essentieel voor de werking van het adjuvant (Gavin et al., 2006; De Gregorio et al., 2008). Nieuwe adjuvantia zullen essentieel zijn voor moderne vaccins gebaseerd op moleculair gedefinieerde antigenen (Schijns et al., 2000, 2007, 2009). En zij worden niet zomaar meer hulpstoffen genoemd worden vanwege hun actieve sturende rol.

Vaccinology is alive

Nieuwe vaccins tegen roken, Alzheimer, osteoarthritis etc.

We kennen de meeste vaccins via het nationale rijksvaccinatie programma

(RVP) en van het preventief vaccineren van veestapel en gezelschapsdieren. Tegenwoordig bestaan infectieziekten-vaccins voor alle leeftijdscategorieën. Zie ook figuur 11.



Figuur 11. Vaccins voor alle leeftijden

Het meest recente vaccin dat veelvuldig de pers haalt is gericht tegen het humane papiloma virus (HPV), dat baarmoederhalskanker kan veroorzaken, en wordt geadviseerd door de gezondheidsraad voor jonge meisjes (www.prikenbescherm.nl). Tegenwoordig zitten nog meer, geheel nieuwe typen vaccins in de pijplijn. Dergelijke vaccins elimineren ongewenste moleculen, die niet noodzakelijk van een micro-organisme afkomstig zijn.

Zo zijn naast stop-met-roken middelen inmiddels ook vaccins in de maak die het verslavende effect van nicotine blokkeren, door het opwekken van antilichamen. Een ander voorbeeld is een medicijn tegen hoge-bloeddruk, door het opwekken van antilichamen tegen angiotensine-II. Deze antilichamen zijn voortdurend aanwezig en voorkomen het vergeten van het dagelijks innemen van klassieke hoge-bloeddruk remmers. Daarnaast is in diermodellen de werkzaamheid van een vaccin tegen Alzheimer aangetoond, evenals vaccins tegen osteoporose, tegen diverse allergieën en zelfs tegen vetzucht. Deze vaccins van de toekomst illustreren dat vaccinologie een uitermate vitaal vakgebied is.

In mijn onderzoek richt ik mij door middel van nieuwe immuunstimulatie-technologieën op drie belangrijke toekomstige vaccintypes gericht tegen:

- 1) tumoren
- 2) allergieën
- 3) infectieziekten

Hiermee hebben vaccins een enorm potentieel in zich om preventief of therapeutisch ouderdom- en armoede-gerelateerde ziekten aan te pakken. Daarmee hebben zij een enorme 'impact for life'. Door de bovengenoemde aanpak hoop ik nieuwe inzichten te verwerven die mogelijk gebruikt kunnen worden bij de ontwikkeling van nieuwe interventie methoden gebaseerd op het immuunapparaat van mens en dier.

Er liggen nog vele knoppen en onbekende mechanismen verborgen. Het is hierbij belangrijk om de hoofdschakelaars te identificeren, die een verkeerde pathway kunnen uitzetten of een gunstige route activeren. In een aantal gevallen is een enkele hoofdschakelaar in staat het verschil uit te maken tussen gezond en ziek of leven en dood. Ik kijk ernaar uit om nog onbekende schakelaars hiervan te verkennen.

Visie op aandachtsvelden in het onderwijs

Ik vind het belangrijk dat studenten leren welke mogelijkheden rationele immuuninterventie biedt voor het bestrijden van ziekten en ongemakken bij mens en dier, en geïnspireerd raken om hier aan bij te dragen. Dit onderwerp wil ik centraal stellen in mijn onderwijs en mij inzetten studenten hierin op te leiden in de vakken:

- Cell Biology and Health
- Human and Veterinary Immunology
- Immunotechnology

en hierbij samenwerken met Wageningen UR collega's van andere leerstoelgroepen, maar ook van andere universiteiten in binnen- en buitenland. Door het deelnemen en (mede-) organiseren van internationale wetenschappelijke congressen blijf ik op de hoogte van de meest recente ontwikkeling op mijn terrein

...

en in contact met de wereldtop aan specialisten. Deze kennis kan ik delen met studenten, zodat zij geïnformeerd worden over de meest recente ontdekkingen en ontwikkelingen.

• • •

26

Prof. dr. Virgil E.J.C. Schijns

Immuuninterventie 'Drukken op de juiste knoppen van het afweersysteem'

Slotopmerkingen en dankwoord

Dit brengt mij aan het einde van mijn rede. Tot slot wil ik een aantal mensen bedanken.

De raad van bestuur van Wageningen Universiteit en de beoordelingscommissie van deze buitengewone leerstoel, dank ik voor het in mij gestelde vertrouwen.

Ook dank ik –zonder reclame te willen maken– Intervet Schering-Plough en vrij kort daarna Crossbeta Biosciences, mijn hoofdwerkgever, voor het ondersteunen van deze leerstoel.

In mijn promotieonderzoek aan de Universiteit van Utrecht ben ik geïnspireerd geraakt door prof. Marian Horzinek. Ik herinner me van die periode de vele binnenlandse en buitenlandse reises met collega Bart Haagsmans; om kennis op te halen. Mij staat nog duidelijk een lunchbijeenkomst voor ogen met Nobelprijswinnaar Prof. Rolf Zinkernagel en Prof. Michel Aguet in Zurich. De bespreking in die tijd ging over onze experimenten in de eerste IFN-gamma-Receptor-deficiënte muizen.

Beste Marian en Bart, bedankt voor jullie inspirerende conversaties uit die tijd en ook voor de interessante besprekingen tijdens onze reguliere etentjes, die we nog steeds regelmatig hebben.

Ook herinner ik me met plezier de tijd met voormalig Intervet-collega's Winfried Degen en Han van den Bosch, waarbij we pionierden met het opzetten van een zelfontworpen immunochip, in samenwerking met het bekende Roslin Institute in Schotland. Deze chip bevat duizenden genen van de het afweersysteem van pluimvee.

Van mijn voormalige collega's bij Intervet bedank ik Dieter Lütticken, Danny Goovaerts en Han van den Bosch, die altijd een warm hart hadden voor mijn afdeling Vaccin Technology en Immunology (VTI).

Vooral met Theo Jansen, Erwin Mombarg en Winfried Degen heb ik met zeer veel plezier samengewerkt en boeiende experimenten kunnen doen, ondanks de moeilijke cultuur waarin we ons later bevonden.

Ook wil ik mijn dank uitspeken aan Prof. Wayne Tompkins, omdat hij mij heeft voorgedragen voor een buitengewoon hoogleraarschap aan de Universiteit van Raleigh, in North Carolina, in de Verenigde Staten. Hiermee heeft hij aan mij, inmiddels al een aantal jaren, een academische thuishaven gegeven.

Mijn huidige collega's bij Crossbeta Biosciences in Utrecht bedank ik voor de vriendelijkheid en de natuurlijke manier waarop ze mij opgenomen hebben. Ik ben blij dat het jullie gelukt is mij van Intervet los te weken. Het is een plezier om iedere dag collega's met uitmuntende kennis in de buurt te hebben.

Medewerkers van de leerstoelgroep Celbiologie en Immunologie wil ik bedanken voor de inspirerende omgeving en vriendelijkheid waarmee jullie mij opnamen in jullie midden, ondanks de twijfel over wat ik nu precies ging doen, en niet per sé iets met vissen... Ik excuseer me voor mijn afwezigheid bij de meeste cake-eet-sessies tijdens koffiepauzes en de vele feestjes die jullie hebben.

Beste Huub, Prof. Huub Savelkoul: dank je wel dat jij me voordroeg voor deze leerstoel. Ik geniet elke keer van je enthousiasme, je expertise en je inspiratie!

Ook wil ik iedereen bedanken, die mij voorzien heeft van foto's, dia's of filmpjes, voor deze voordracht.

Tot slot dank ik natuurlijk mijn ouders, in het bijzonder mijn moeder voor het alleen opvoeden van mijn zus Nancy en mijzelf. Nu ik zelf een gezin heb beseft ik pas wat daar allemaal bij komt kijken.

Als allerlaatste, maar meest belangrijken, dank ik mijn allerliefste Ditte, Freya, Merle en Odin. Hoe belangrijk en geliefd jullie zijn is niet met woorden uit te drukken. Ik ben ontzettend trots op jullie, en bevoorrecht om met jullie het leven te delen.

• • •

Zeer geachte aanwezigen, ik hoop dat u niet in slaap bent gevallen en dank u voor uw aandacht.

Ik heb gezegd.



• • •

30

Prof. dr. Virgil E.J.C. Schijns

Immuuninterventie 'Drukken op de juiste knoppen van het afweersysteem'



Literatuur

- De Gregorio E, Tritto E, and Rappuoli R. (2009). Alum adjuvanticity: unraveling a century old mystery. *Eur. J. Immunol.* 38: 2068-2071.
- Eisenbarth SC, Colegio OR, O'Connor Jr, W, Sutterwala FS, and Flavell RA. (2008). Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature* 453, 1122-1126.
- Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, et al. (2006). Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 313: 1960-1964.
- Gavin AL, Hoebe K, Duong B, Ota T, Martin C, Beutler B, and Nemanee D. (2006). Adjuvant-enhanced antibody responses in the absence of toll-like receptor signaling. *Science* 314, 1936-1938.
- Husain S, Pietrangeli CE, Zeevi A. (2009). Late onset CMV disease in solid organ transplant recipients. *Transpl. Immunol.* 2009 Jan 19. [Epub ahead of print]
- Jansen, T, Hofmans, MPM, Theelen, MJG, Manders F, and Schijns VEJC. (2006). Structure- and oil type-based efficacy of emulsion adjuvants. *Vaccine* 24: 5400-5405.
- Jenner E. (1798.) *An Inquiry into the Causes and Effects of the Variolae Vaccinae, a disease discovered in some of the western counties of England, particularly Gloucestershire, and known by the name of the Cow-Pox.* London. Zie ook <http://www.jennermuseum.com>
- Kaufman SHE. (2008). Immunology's foundation: the 100-year anniversary of the Nobel Prize to Paul Ehrlich and Eli Metchnikoff. *Nature Immunol.* 9: 705-712.
- McKeown T. (1976). *The modern rise of population.* ISBN-10: 0124855504 Edward Arnolds Publishers Ltd.
- Geison GL. (1995). *The Private Science of Louis Pasteur* (Princeton University Press, 1995) (ISBN 0691034427).
- Rappuoli R.(2007). Bridging the knowledge gaps in vaccine design. *Nature Biotechnology* 25: 1361-1366.
- Remarque EJ, Cools, HJM, Boere TJ, van der Klis RJ, Masurel N, Ligthart GJ. (1996). Functional disability and antibody response to influenza vaccine in elderly patients in a Dutch nursing home. *Br. Med. J.* 312: 1015-1015.
- Schijns VEJC. (2000). Immunological concepts of vaccine adjuvant activity.

...

Curr. Opin. Immunol. 12: 456-463.

Schijns VEJC, and Degen WGJ. (2007). Vaccine immunopotentiators of the future. Clin. Pharmacol. Therapeut. 82: 750-755.

Ribeiro C, and Schijns VEJC. (2009). Immunology of vaccine adjuvants. Chapter 1. Vaccine Adjuvants. Humana press, in press.

Sheil AG. (1992). Development of malignancy following renal transplantation in Australia and New Zealand. Transplant Proc. 24: 1255-1259.

Silverstein AM. (1989). History of Immunology. Academic Press. ISBN: 021643770X

Sun H, Pollock KG, Brewer JM. (2003). Analysis of the role of vaccine adjuvants in modulating dendritic cell activation and antigen presentation in vitro. Vaccine 21, 849-55.

Wheeler CJ, Black KL, Liu G, et al. (2003). Thymic CD8+ T cell production strongly influences tumor antigen recognition and age-dependent glioma mortality. J. Immunol. 171: 4927-4933.

Zinkernagel (2003). On natural and artificial vaccination. Ann Rev Immunol. 21: 515-546.

• • •