



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Op de juiste knopjes drukken

Ossendorp, F.A.

Citation

Ossendorp, F. A. (2011). *Op de juiste knopjes drukken*. Leiden: Universiteit Leiden. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/19587>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Leiden University Non-exclusive license](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/19587>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Prof.dr. F.A. Ossendorp

Op de juiste knopjes drukken



Universiteit Leiden

Op de juiste knopjes drukken

Oratie uitgesproken door

Prof.dr. F.A. Ossendorp

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar in de

Moleculair Gedefinieerde Vaccinbiologie

aan de Universiteit Leiden

op vrijdag 2 december 2011



Universiteit Leiden

Mijnheer de Rector Magnificus, zeer gewaardeerde toehoorders.

Op de juiste knopjes drukken. Als ik een cabaretier was, zou dit een mooie titel zijn om man-vrouw relaties te gaan bespreken maar op dat gladde ijs ga ik me niet begeven. Mijn rede zal gaan over andere complexe relaties, namelijk die in ons afweersysteem.

De immunologie, de leer van ons afweersysteem, is de laatste decennia sterk in ontwikkeling geweest. Terwijl het vroeger een zeer beschrijvende wetenschap was, zijn de moleculaire en cellulaire interacties van dit systeem steeds beter bekend. Ik ga u dus meenemen in complexe wereld van ons afweersysteem en hoe wij de huidige kennis kunnen gebruiken om betere vaccins te ontwikkelen. Er is een toenemende vraag naar verbeterde vaccins in onze druk bevolkte wereld waar infectieziektes en kanker een steeds groter probleem worden.

Hoe werkt vaccinatie eigenlijk?

Toen Edward Jenner in de 18^e eeuw bij toeval ontdekte dat melkmeisjes beschermd bleken tegen de toen veel voorkomende pokkeninfecties, een gevreesde ziekte, kwam hij op het idee de koepokken te gebruiken om mee in te enten.¹ Dit bleek een zeer goed experiment want na een lichte ziekte bleek bij deze testpersonen bescherming te ontstaan voor menselijke pokken. Later bleek dat dit gebaseerd was op sterke immunologische gelijkenis van koeienpokkenvirus met het menselijke pokkenvirus. Door infectie met het milde koeienpokkenvirus werd je dus “immuun” voor het gevaarlijke virus. Dit koeienvirus wordt nu Vaccinia genoemd, dit herkennen we wel als afgeleid van “la vache” in het Frans of “vacca” in het Latijn. Hier komt dus letterlijk de term vaccinatie vandaan. Deze methode van inenten tegen pokken is tot in de jaren zeventig van de vorige eeuw toegepast. Ik ben persoonlijk ook nog tegen pokken gevaccineerd als kind in de jaren zestig waarbij de huid gekrast werd en het verzwakte virus daarop aangebracht. Dit gaf vaak lelijke wonden en littekens, maar het werkte wel. Door dit systematische, breed

uitgevoerde programma werd in 1979 pokken in de westerse wereld als uitgeroeid beschouwd. Dit was een groot succes en heeft de ontwikkeling van vele nieuwe vaccins tegen verschillende infectieziektes gestimuleerd. Deze vaccins waren meestal gebaseerd op verzwakte virussen of bacteriën en dit bleek in veel gevallen zeer werkzaam. Als voorbeeld kennen we allemaal de DKTP-prikjes die jonge kinderen al vroeg in hun leven krijgen, een combinatievaccin tegen Difterie, Kinkhoest, Tetanus en Polio. Drie bacteriën en een virus.

Vaccinatie werkt heel goed om bescherming of immuniteit te verkrijgen tegen veel verschillende infectieziektes maar toch is het nog steeds zeer moeilijk een aantal ziektes preventief te bestrijden. Hieronder vallen virusziektes die vaak weer terug komen omdat de virussen zeer variabel zijn, zoals griepvirussen, die elk jaar weer terugkeren. Maar ook voor HIV, het AIDS virus, is het zeer moeilijk een vaccin te ontwikkelen. Een wellicht nog grotere uitdaging is vaccins te ontwikkelen tegen verschillende vormen van kanker.

3

Hoe werken vaccins?

Om te begrijpen hoe vaccinatie werkt is het van belang te begrijpen hoe ons afweersysteem of immuunsysteem werkt. Ons immuunsysteem bestaat uit een aantal verschillende gespecialiseerde immuuncellen die continu in ons lichaam patrouilleren en proberen te ontdekken of er iets mis is. Deze cellen circuleren bijvoorbeeld in het bloed of in de lymfe. U moet zich voorstellen dat deze cellen allemaal specifieke receptoren hebben waarmee ze kunnen detecteren of er ergens indringers in ons lichaam zijn. Als er ergens een infectie door een virus of een bacterie is, ontstaat een ontstekingsreactie wat eigenlijk betekent dat er veel immuuncellen naar de infectie toe migreren en daar actief gaan worden. Dit leidt meestal tot een zichtbare en pijnlijke zwelling, het rood worden en eventueel koorts. De immuuncellen doen dan hun werk. Ook gaat het vaak gepaard met het opzwellen van lymfeklieren hetgeen betekent dat ook de immuuncellen die de infectie herkennen sterk toenemen in aantal. Dit is een belangrijk kenmerk van de afweerreactie. Er ontstaan veel cellen met een zelfde

specificiteit door deling en gaan samen de infectie te lijf. Er wordt dus een heel leger van specifieke immuuncellen gevormd die de binnengedrongen vijand samen gaan bestrijden. Dit zijn de witte bloedcellen of lymfocyten. Als de infectie voorbij is dan verdwijnen de klachten en ook de grote aantallen witte bloedcellen reduceren sterk. Maar ze verdwijnen niet allemaal en wat er overblijft, is een aantal cellen die we memory- of geheugencellen noemen. Dit is heel nuttig want dan kan bij een volgende infectie zeer snel het leger immuuncellen weer in stelling worden gebracht.

Eigenlijk is dit de situatie die we met vaccinatie willen bereiken, het van te voren activeren van de specifieke immuuncellen zonder dat we ziek worden. De vaccinatie zorgt er voor dat er geheugen ontstaat en dat er snel en adequaat gereageerd kan worden met een nieuw legertje specifieke immuuncellen, als een ziekteverwekker weer ons lichaam binnendringt.

Nu zijn er veel goedwerkende vaccins die toegepast worden waarvan de meeste gebaseerd zijn op preventieve vaccinatie, dus van te voren het immuunsysteem specifiek voor de ziekteverwekker activeren zodat we beschermd zijn en niet ziek worden. Deze bescherming komt meestal door antilichamen. Dit zijn een soort Griekse Y-vormige eiwitjes die specifiek zijn voor de ziekteverwekker en geproduceerd worden door gespecialiseerde witte bloedcellen, de B-lymfocyten.

Antilichamen kunnen in grote hoeveelheden gemeten worden in het serum van het bloed. Dit is feitelijk ook de basis voor het gebruik van antisera een vorm van passieve vaccinatie waarbij de antilichamen van een ander mens of dier worden ingespoten om acute infecties of gifstoffen te neutraliseren. Iedereen kent wel het voorbeeld van antiserum tegen slangengif, waarbij antilichamen, meestal opgewekt in paarden, worden gebruikt om de acute effecten van dodelijke beten van gifslangen tegen te gaan.²

De B-cellen maken dus grote hoeveelheden antilichamen en die zijn heel belangrijk voor goede bescherming tegen bacteriën en virussen.

Het werkt eigenlijk zo dat er eerst een legertje B-cellen worden geselecteerd die specifiek zijn voor de indringer en vervolgens

gaan delen wat leidt tot opzwellende lymfeklieren. Daarna gaan ze met velen antilichamen produceren die de indringer specifiek kunnen binden, neutraliseren en afvoeren via andere gespecialiseerde cellen die ze letterlijk opeten.

Het is eigenlijk heel jammer dat ik geen visuele hulpmiddelen mag gebruiken want het zou heel beeldend zijn dit spectaculaire proces te laten zien. Als voorbeeld om ons immuunsysteem beter te begrijpen, zijn er een paar computerspelletjes die dicht in de buurt komen hoe onze afweerreacties werken, zoals het oude Pacman die vijanden opeet. Er is nu een heel populaire spelletje Angry Birds genaamd, waarbij de boze vogels op afstand gemene groene varkentjes moeten vernietigen.³ Daarbij moet u zich voorstellen dat de Angry Birds immuuncellen zijn en de groene varkentjes de ziekteverwekkers of de tumorcellen die zich proberen te verbergen voor de Angry Birds. Nu heb ik me wat verdiept in de Angry Birds. Er zijn verschillende soorten met verschillende aanvalskracht, sommigen zijn direct aanvallend, sommige kunnen vermeerderen en sommige werpen zelfs explosieve eieren uit. Erg leuk vermaak en een verslavend spelletje, en het komt verrassend goed overeen met de verschillende functies van de immuuncellen in ons lichaam.

Vaccinatie tegen tumoren

Nu is vaccinatie voor sommige virussen en bacteriën heel lastig omdat ze het afweersysteem steeds weer weten te omzeilen, maar vaccinatie tegen tumoren is nog lastiger. Als de patiënt al vele kankercellen heeft dan is het heel moeilijk het afweersysteem te activeren om de tumor op te ruimen. Dus wat we willen bereiken is een leger van kanker-specifieke immuuncellen in stelling te brengen die samen de tumor gaan opruimen. Dit noemen we therapeutische vaccinatie, in tegenstelling dus tot preventieve vaccinatie. Therapeutische vaccinatie is een vorm van immuuntherapie die wij in Leiden verder aan het ontwikkelen zijn en een groot voordeel is dat het veel minder bijwerkingen heeft ten opzichte van bekende therapieën als chemotherapie en bestraling. Dit klinkt heel simpel maar helaas zijn er nog vele problemen. Een groot

probleem is dat kankercellen van ons eigen lichaam zijn. Deze cellen zijn ontspoord en groeien daarom ongeremd door. Ons afweersysteem herkent kankercellen niet per definitie als een indringer. Maar toch weten we dat verschillende vormen van kanker wel door ons afweersysteem herkend kunnen worden, veelal door specifieke mutaties in de tumor of door sommige virussen die kankerverwekkend zijn. Dit zijn de tumor-specifieke kenmerken waar onderzoekers naar op zoek zijn en waar immuuntherapie op gericht kan worden. Daarnaast is het ook bekend dat tumoren ons afweersysteem kunnen ontsnappen, of door zich te camoufleren of door het leger van immuuncellen als het ware uit te schakelen of te verblinden. Dit maakt immuuntherapie van kanker extra moeilijk en combinatietherapieën zullen nodig zijn om effectief kankercellen op te kunnen ruimen. Waarbij het nodig zal zijn aan de ene kant specifiek de immuuncellen te activeren en aan de andere kant de rem er af te halen.

Op het moment richt veel onderzoek zich op vormen van kanker die door virussen veroorzaakt worden. Een heel bekend voorbeeld, waar wij ook in Leiden aan werken is humaan papillomavirus HPV waarvan sommigen typen kankerverwekkend zijn en ondermeer baarmoederhalskanker kunnen veroorzaken. Aangezien nu bekend is dat de kankerverwekkende HPV-virussen seksueel overdraagbaar zijn, is een preventief vaccin een hele goede optie. Het zal u dan ook bekend zijn dat een HPV-vaccin gratis beschikbaar is voor jonge meisjes in Nederland. Dit is een onschuldig eiwit vaccin, dat geen levend virus bevat en leidt dan ook tot HPV-specifieke antilichamen die een eventueel latere virusinfectie kan neutraliseren. Het heeft velen dan ook zeer verbaasd dat er een negatieve maatschappelijke hetze ontstond tegen dit onschuldige vaccin, terwijl het wellicht meer verbazend is dat jongens dit vaccin niet hebben gekregen omdat zij eigenlijk de overdragers zijn van het virus.

Wat herkennen T cellen?

Terwijl preventieve vaccinatie van kankerverwekkende virussen een goede optie is, is therapeutische vaccinatie veel

moeilijker omdat de ziekte al ontstaan is en er grote aantallen kankercellen bestreden moeten worden. Om dit te begrijpen moet ik uitleggen welke immuuncellen betrokken zijn bij de afweer tegen kankercellen. De belangrijkste immuuncellen die kankercellen kunnen opruimen zijn een ander type witte bloedcellen dan de B-cellen die antilichamen maken. Het zijn de zogenaamde T-cellen die kankercellen direct kunnen herkennen en doden. Dit zijn zeer gespecialiseerde cellen die op een heel bijzondere manier kunnen zien of cellen door een virus geïnfecteerd zijn of gemuteerde kankercellen kunnen herkennen. Het bijzondere is dat ons afweersysteem een manier heeft ontwikkeld om cellen die van binnen veranderd zijn, toch te herkennen. Een virus is eigenlijk een parasietje van de cel, kruipt er in en maakt gebruik van zijn gastheer cel door hem zijn wil op te leggen en kan daardoor overleven en zichzelf vermeerderen. Zo is het virus verscholen in de cel en in principe onzichtbaar voor het afweersysteem. Dit geldt dus ook voor tumorcellen die mutaties ophopen en hun groeigedrag veranderen maar nog steeds er aan de buitenkant niet echt anders uit zien.

Dit probleem is door ons immuunsysteem opgelost want al onze lichaamscellen hebben daar gespecialiseerde moleculen voor. Deze moleculen kunnen hele kleine stukjes van de virale of gemuteerde eiwitten (de zogenaamde peptiden) vanuit het binnenste in de cel aan de buitenkant op een soort presenteerblaadje laten zien. Dus niet het hele eiwit wordt gepresenteerd maar hele kleine stukjes daarvan die in de cel worden geproduceerd door bepaalde enzymen. Van dit “processing” proces is al heel veel van bekend waar ik zo op terug kom, maar het bijzondere is dus dat er speciale presentatiemoleculen zijn die deze peptiden uit het binnenste van de cel continu aan de buitenwereld laten zien. Deze moleculen worden ook wel MHC-moleculen of HLA-moleculen bij de mens genoemd en het was de hooggeleerde Jon van Rood hier in Leiden die deze moleculen als een van de eersten beschreef als zeer belangrijk bij transplantaat-afstoting. Deze moleculen zijn in de menselijke populatie zeer verschillend en worden dus na transplantatie als

lichaamsvreemd gezien door ons immuunsysteem. Door het werk van Jon van Rood, de “godfather” van onze afdeling Immunohematologie en Bloedtransfusie van het LUMC weten we nu dat we voor transplantatie de HLA-moleculen van de donor en de ontvanger zo goed als mogelijk moeten matchen, hetzelfde zijn dus.

Het was dan ook zeer spectaculair dat later ontdekt werd dat MHC-moleculen niet alleen lastig zijn bij transplantaties, maar dat de natuurlijke functie van deze MHC-moleculen de presentatie van peptiden is, een zeer geavanceerd systeem dat nog niet in de biologie beschreven was. In 1996 werd volkomen terecht de Nobelprijs werd uitgereikt aan Doherty en Zinkernagel voor de ontdekking van dit bijzondere biologische systeem dat MHC-restrictie of MHC-presentatie werd genoemd.⁴

Mijn immunologische leermeester de hooggeleerde Kees Melief heeft deze moleculen tijdens zijn oratie in 1992 hier op de Universiteit Leiden op een grappige wijze de “snuffelpaaltjes” van de cel genoemd. Ik weet niet of iedereen weet wat snuffelpaaltjes zijn, vooral de jongeren onder ons hebben er waarschijnlijk nooit van gehoord. In de jaren 80 waren ze nogal vaak in het nieuws vooral in het nogal door luchtverontreiniging geteisterde havengebied bij Rotterdam. Even op Google kijken leert ons dat: “een snuffelpaal is een meetstation dat de luchtkwaliteit meet”. Dus deze sensoren kunnen continu de kwaliteit van het milieu monitoren. Dit is op zich wel een aardige naam voor MHC-moleculen omdat ze laten zien wat er in de cel eventueel mis is. Maar we weten in 2011 dat er andere moleculen van de cel zijn die veel beter aan de definitie van snuffelpaaltjes voldoen. Daar kom ik zo op terug. Dus helaas professor Melief uw snuffelpaaltjes kunnen weer in de kast.

Wat uit een andere kast kwam in begin jaren negentig was dat de peptiden die door de MHC-moleculen gepresenteerd worden, gebruikt kunnen worden als vaccin. Het was dan ook de letterlijk grote Martin Kast, nu professor in the University of Southern California, die toen in onze groep als eerste liet zien dat de hele kleine stukjes synthetisch gemaakte peptiden

gebruikt kunnen worden om muizen te beschermen tegen virussen en later kanker. Dit was een grote doorbraak omdat het daardoor mogelijk werd specifieke vaccins simpelweg te synthetiseren in het laboratorium. Dat eerste succes werd in de jaren erna wat getemperd omdat de nu hooggeleerde Rene Toes in ons lab ontdekte dat peptide-vaccins ook tegengesteld konden werken en de T-cellen kon remmen in hun capaciteit om tumoren op te ruimen. Na deze peptide crisisjaren volgde uit veel onderzoek dat peptiden wel degelijk effectief konden zijn als vaccin. Onder meer uit mijn eigen werk bleek dat vaccinatie met langere peptiden specifiek voor leukemievirus en ook lange peptiden afkomstig van het humaan papillomavirus in de groep van Melief zeer effectief bleken tegen agressieve tumoren in muizen.

Dit resulteerde in 2002 in een vaccinatie-studie in patiënten met door HPV geïnduceerde tumoren met lange synthetische HPV-peptiden. Deze studies uitgevoerd door de hooggeleerden Melief en Van der Burg in samenwerking met de gynaecologie afdeling onder leiding van professor Kenter, lieten zien dat er geen sprake was van bijwerkingen en dat de lange peptide-vaccins effectief waren in behandeling van een voorstadium van een door HPV veroorzaakte kanker van de vulva. De helft van de patiënten was binnen een jaar volledig genezen, een groot succes van een relatief simpel vaccin. Dit onderzoek werd terecht gepubliceerd in een toonaangevend tijdschrift.⁵ Deze studie liet zien dat het vaccin werkzaam is in mensen maar dat er ook nog veel te doen is. Niet alle patiënten genezen en de werkzaamheid bij zeer agressieve tumoren is nog marginaal. Er zijn echter nog vele mogelijkheden om dit type vaccin te verbeteren, hier kom ik ook op terug. Samenvattend is het dus de precieze moleculaire kennis van wat de MHC-moleculen op het oppervlak van cellen presenteren die ons op het spoor hebben gebracht van een relatief simpel te maken synthetisch vaccin.

Wat gebeurt er precies bij vaccinatie?

Het immuunsysteem is nog ingewikkelder dan ik tot nu toe schetste. Het zijn de T-cellen die de virusinfectie en de

tumorcellen kunnen opruimen, echte agressieve Angry Birds dus, maar er is nog een andere cel die een belangrijke rol speelt bij het opstarten van de immuunreactie en dat zijn de zogenaamde dendritische cellen. Dit zijn cellen die in vrij lage dichtheid voorkomen in vrijwel alle weefsels in ons lichaam en ze worden zo genoemd omdat ze lange uitlopers, een soort tentakels hebben. Ik vind altijd dat ze lijken een rastakapsel hebben, je zou ze de Bob Marley⁶ cellen kunnen noemen. Deze cellen hebben dus een groot oppervlak en zijn gespecialiseerd in het opsporen van lichaamsvreemde componenten. Hun specialisatie is dus het opnemen van lichaamsvreemde eiwitten, het in stukjes hakken tot peptiden, deze stukjes in MHC-moleculen presenteren en vervolgens de T-cellen optimaal activeren. Een soort van Angry Bird feeder of voedertafel eigenlijk.

Het is dan ook te begrijpen dat veel van ons onderzoek zich richt op deze dendritische cellen, eigenlijk de startmotor van het afweersysteem. We willen dus dat met deze startmotor de T-cellen optimaal geactiveerd kunnen worden die vervolgens tumorcellen kunnen doden. Voor een goed werkend vaccin is het dus nodig het lichaamsvreemde eiwit of lange peptide naar deze cellen te sturen, dit noemen we targeting en het peptide zal ook ge-“processed” moeten worden tot kleinere fragmentjes die in de MHC-moleculen gepresenteerd gaan worden. Dit hebben we de laatste jaren uitgebreid onderzocht en we weten dat dendritische cellen dat zeer efficiënt kunnen met behulp van de zogenaamde proteasoom, eigenlijk een enzymcomplex in de cel die functioneert als een soort eiwit-hakselaar.⁷ Eiwitten worden continu aangemaakt in de cel en weer afgebroken. In dat laatste is de eiwit-hakselaar in gespecialiseerd. Er zijn duizenden verschillende eiwitten in de cel en die zijn opgebouwd uit strengen van aminozuren en de volgorde van ieder eiwit is heel specifiek, zo ook de eiwitten van virussen of van veranderde tumorcellen. De fragmenten van de eiwitten die de proteasoom maakt zijn dus de peptiden die door de MHC-moleculen aan de buitenkant van de cel gepresenteerd worden. Dus de specifieke volgorde

van elk peptide is uniek en dat herkennen de T-cellen. Wat een ingenieus systeem is dit toch.

Een andere bijzondere functie van dendritische cellen die we recent beschreven hebben is dat deze cellen de opgenomen lichaamsvreemde eiwitten voor meerdere dagen tot weken kunnen opslaan en dan nog steeds uit die bron de peptide-fragmenten in MHC-moleculen kunnen presenteren.⁸ Dus ze breken de eiwitten niet volledig af maar bewaren het in milde compartimenten in de cel. Dit is een belangrijke functie van dendritische cellen omdat deze cellen moeten migreren naar de lymfklieren en daar gedurende langere tijd meerdere T-cellen moeten activeren. Al met al is de Bob Marley cel heel erg gespecialiseerd in zijn functie om de vreemde eiwitten op te nemen, te bewaren en te hakselen.

Maar er is nog meer voor nodig om de immuunreactie op te starten.

Voor optimale vaccinatie is, naast de targeting en de opname van het peptide, het ook noodzakelijk dat de dendritische cel geactiveerd wordt waardoor hij vervolgens in staat is T-cellen te activeren zodat deze kunnen gaan delen en het al eerder genoemde leger van immuuncellen kan vormen. Nu is de kennis van dendritische cel activatie sterk toegenomen en we weten dat deze cellen vele verschillende opname receptoren en “sensing” of detectie-receptoren hebben. Dit blijken zeer belangrijke receptoren te zijn die vele verschillende componenten van micro-organismen zoals bacteriën en virussen kunnen herkennen. Dendritische cellen kunnen als deze receptoren wat herkennen sterk geactiveerd raken.

Een voorbeeld van een familie van deze “sensing” receptoren zijn de Toll-receptoren, oorspronkelijk ontdekt in de fruitvlieg in 1985.⁹ Toll is in Duitsland ontdekt door genetici die het een interessant leuk gen vonden en het de fantasie naam Toll gaven. Dit betekent dus echt iets als tof of gaaf of in het engels: cool of chill gen. Dit was in eerste instantie “zomaar een fruitvlieg eiwitje”, maar bleek later te behoren tot een zeer belangrijke familie van receptoren voor het opstarten van de immuunreactie in zoogdieren en dus ook de mens. Het moge

duidelijk zijn dat dit feitelijk de echte snuffelpaaltjes zijn van de cel. Deze receptoren snuffelen continu of er iets mis is in het externe milieu buiten de cel en geven dan een signaal af om daarop te reageren. Iets wat de hooggeleerde Melief in zijn oratie in 1992 nog niet kon weten overigens, want de rol van Toll-receptoren in ons immuunsysteem werden pas voor het eerst in 1997 beschreven. Dat de ontdekking van de rol van deze receptoren in het immuunsysteem als een grote doorbraak wordt gezien blijkt uit de Nobelprijs voor Geneeskunde van dit jaar 2011, die hiervoor werd uitgereikt aan Jules Hoffman en Bruce Beutler.¹⁰ Daarmee is ook niet verrassend dat tegelijkertijd Ralph Steinman de Nobelprijs kreeg voor zijn ontdekking van de dendritische cel. Treurig genoeg heeft hij dit niet mee kunnen maken omdat hij stierf net voor de bekendmaking.

Gebruik van Toll-receptoren voor vaccinatie

De rol van de Toll-receptoren is het vaststellen of er een gevaarlijke ziekteverwekker in het lichaam is en dan het immuunsysteem activeren. Er zijn nu een twaalfal verschillende Toll-receptoren bekend. Het bijzondere van de Toll-receptoren is dat ze hele kleine stoffes herkennen die zeer specifiek zijn voor verschillende bacteriën en virussen. Dit zijn een heel andere categorie stoffes dan peptiden, ze zijn vaak afkomstig van de celwand van de bacterie of van het DNA of RNA van het virus. De vele verschillende stoffes binden dan ook aan verschillende Toll-receptoren. Het mooie is dat ook deze kleine moleculen precies na te maken zijn en te gebruiken voor vaccinatie. In feite kunnen we daarmee de immuunreactie aansturen. Hiermee wordt het dus mogelijk op de juiste knopjes van de startmotor van ons afweersysteem te drukken. Door de Toll-receptor bindende stoffes synthetisch na te maken werd het al snel duidelijk dat het bijmengen van een Toll-stofje bij een peptide-vaccin een sterk effect had op de stimulatie van T-cellen en tumorverdwijning in muizen. Een belangrijke stap in een nieuwe generatie van peptide vaccins werd gezet door samen te gaan werken met de Organische Chemie groep in het Gorlaeus laboratorium van de Leidse Universiteit. In samenwerking met de hooggeleerden

Overkleef, Van der Marel en de zeergeleerde Filippov hebben we de Toll-stoffes direct gekoppeld aan het peptide deel van het vaccin. Zo kan het peptide naar de dendritische cel gestuurd worden, de startmotor wordt geactiveerd, het peptide kan in stukjes geknipt worden en het leger van T-cellen kan gaan vermeerderen. Dit bleek een uitstekend idee want door deze samenwerking was het mogelijk unieke moleculen te ontwerpen die voldeden aan de verwachte eigenschappen. Het was dan ook de zeergeleerde Selina Khan in onze groep die liet zien dat peptiden die gekoppeld waren aan actieve Toll-stoffes veel effectiever waren dan als ze simpelweg gemengd werden.¹¹ Ze liet zien dat dit kwam door effectievere targeting en processing van het peptide en gelijktijdige activatie van de dendritische cel waardoor er meer T-cellen geactiveerd werden. Deze conjugaten bleken ook veel effectiever in het beschermen van muizen tegen agressieve tumoren. Een nieuwe generatie dus van synthetische peptide vaccins!

Meer snuffelpaaltjes..

Er zijn meer moleculaire knopjes die de startmotor van het immuunsysteem kunnen aanzetten. De gespecialiseerde dendritische cel heeft vele verschillende snuffelpaaltjes, sensing en opname-receptoren zoals receptoren voor suikers, RNA, DNA, complement en de eerder genoemde antilichamen. Ons onderzoek richt zich er nu op, de verbanden te leggen tussen die opnameroutes en de signalen die de startmotor krijgt. Het idee is dat de verschillende signalen samen de immuunrespons kunnen versterken of kunnen sturen in de gewenste richting. Het is goed voorstelbaar dat het immuunsysteem afhankelijk van het type infectie ook de immuunrespons aanpast. Een immuunrespons tegen een bacterie is kwalitatief anders dan tegen een virus of een tumor. Dus het type van de stoffes die herkend worden door de verschillende snuffelpaaltjes kunnen bepalen hoe de immuunrespons gaat verlopen. Aangezien veel van dit soort stoffes kleine moleculen zijn die relatief eenvoudig te maken zijn wordt het mogelijk door op de juiste moleculaire knopjes te drukken het immuunsysteem de juiste richting op te sturen. We zijn dan ook bezig verschillende

actieve stoffen alleen en samen aan de peptiden te koppelen om te kijken welke de beste immunrespons geeft.

Juist door de samenwerking met de organische chemie wordt het mogelijk nieuwe synthetische vaccins te ontwerpen en hun effectiviteit te testen. Ik hoop dat u mijn enthousiasme begrijpt dat dit nu allemaal mogelijk wordt.

Ik wil dat nog illustreren met een recente vinding waarbij een kleine chemische verandering in het bindende deel van een Toll2 bindend stofje een verbeterde biologische activiteit liet zien en ook veel beter de startmotor kon aanzetten. Het was dusdanig bijzonder dat we besloten om deze nieuwe stoffen te patenteren en nu zijn we bezig dit nieuwe Toll-stofje te koppelen aan de papillomavirus-peptiden. Deze nieuwe generatie van HPV-vaccins waarvan we weten dat ze actiever zijn, zullen in de nabije toekomst ook in kankerpatiënten getest gaan worden. Bij deze klinische studie zijn verschillende groepen naast onze afdeling betrokken waarbij ik speciaal wil noemen de Klinische Oncologie in samenwerking met de hooggeleerde Sjoerd van der Burg, Gynaecologie met de zeergeleerde Mariette van Poelgeest, de GMP-faciliteit onder leiding van de zeergeleerde Jaap Oostendorp en het met het LUMC direct samenwerkende bedrijf ISA Pharmaceuticals.

Formulering en antilichamen

Een andere belangrijke vraag die we nu aan het onderzoeken zijn is hoe we de nieuwe typen vaccins moeten toedienen aan mensen. Tot nu toe spuiten we de peptiden in de huid in een soort minerale olie-emulsie. Dit geeft helaas soms vervelende bijwerkingen maar een nieuwe generatie van toedieningsmogelijkheden zoals het verpakken van het vaccin in hele kleine biologisch afbreekbare microbolletjes lijken goed te gaan werken. Dit onderzoek vindt plaats samen met de zeergeleerde Oostendorp en de hooggeleerden Jiskoot en Bouwstra van de Universiteit Leiden en Hennink van de Utrechtse Universiteit. Ook zullen andere toedieningsroutes onderzocht worden. Belangrijk hierbij is de samenwerking met de hooggeleerde Löwik die geavanceerde detectiemethoden met behulp van camera's heeft geïntroduceerd in het LUMC

om fluorescerende vaccins in het lichaam te kunnen volgen. Met deze nieuwe geavanceerde technologieën is het ook mogelijk de tumorcellen echt groen te maken en zelfs de legers van T-cellen met verschillende kleuren te volgen. In ons gezamenlijke project hopen we veel te leren van het gedrag van onze vaccins door het zichtbaar te maken in muis en mens. Een andere manier om het vaccin naar de startmotor te kunnen sturen is met behulp van antilichamen. Deze eiwitten die ik in het begin van mijn verhaal noemde kunnen ook door de dendritische cellen herkend worden met specifieke receptoren. Het is wellicht niet verrassend dat in het afweersysteem samenwerking bestaat tussen het B-cel leger en het T-cel leger. Door een jarenlang onderzoek samen met de zeergeleerde Verbeek weten we echter dat specifieke antilichamen dit zeer efficiënt kunnen en zo zijn we ook op het spoor gekomen van de opslagcompartimenten in dendritische cellen. Met behulp van de geavanceerde muismodellen van Sjef Verbeek zijn we nu bezig de fundamentele aspecten van antilichaam afhankelijke T-cel respons te ontrafelen. Samen met de zeergeleerde Drijfhout proberen we chemisch gedefinieerde peptide-vaccins te ontwerpen om met behulp van specifieke antilichamen vaccinatie tegen kanker in de praktijk verder te ontwikkelen.

Samenvattend kan ik zeggen dat door de sterk verbeterde kennis van moleculaire en cellulaire interacties in ons immuunsysteem we veel beter in staat zullen zijn om het afweersysteem op de goede manier te richten op infecties en hopelijk ook verschillende vormen van kanker. Nu klinkt dit allemaal heel erg positief en ik weet ook zeker dat dit de toekomst is maar er zullen ongetwijfeld nog wat horden te nemen zijn en dat zal tijd kosten. Kanker is in veel gevallen een meedogenloze ziekte wat ik helaas ook in mijn eigen vriendenkring heb meegemaakt. Hoewel er veel progressie gemaakt wordt in de behandeling van bepaalde vormen van kanker valt het zwaar om vast te stellen dat we in veel gevallen nog steeds geen geschikte therapie hebben. Dan staan we met al onze kennis machteloos aan de zijlijn.

Ondanks dat ik geen valse hoop wil wekken is mijn stellige overtuiging dat de toegenomen kennis macht maakt en dat dit nieuwe mogelijkheden geeft voor de strijd tegen agressieve ziektes als kanker. Wat ik zeker weet is dat het immuunsysteem zeer potent is, dit blijkt ondermeer uit autoimmunitet, transplantaat afstoting, graft-versus-host ziekte en ook uit gelukte en mislukte klinische studies met sterk stimulerende antistoffen. Dit geeft niet alleen de potentie maar ook de mogelijke gevaren aan. Wat tumorimmunologen eigenlijk willen bereiken is een controleerbare autoimmunreactie en dat is wellicht mogelijk als we op de juiste knopjes van het immuunsysteem weten te drukken.

Infrastructuur en de toekomst

Ik prijs mij gelukkig dat in het LUMC en de afdeling IHB een prima infrastructuur is voor dit type translationeel onderzoek. Naast de aanwezigheid van de peptide faciliteit onder leiding van zeergeleerde Drijfhout, het eiwitcentrum onder leiding van hooggeleerde Koning en de zeergeleerde Van Veelen is de ontwikkeling van nieuwe type vaccins mogelijk. Samenwerking met de verschillende eerder genoemde groepen binnen het LUMC en het Gorleaus laboratorium zijn zeer belangrijk voor dit type multidisciplinair onderzoek. De genoemde GMP-faciliteit op het LUMC voor de productie van klinisch toepasbare producten. De mogelijkheid om de verkregen kennis patenteren en te valoriseren, met als voorbeeld het opgerichte biopharm bedrijf ISA.

Daarnaast is een goedfunctionerend proefdiercentrum een absolute voorwaarde. Ik moet helaas vaststellen we als onderzoeker in een soort spagaat zitten wat betreft dit type werk. Liefst wordt er over gezwezen, logisch vanuit de maatschappelijke druk, maar aan de andere kant onvermijdelijk omdat innovatie in het kankeronderzoek niet zonder kan. De mooie resultaten en de klinische vertaling worden bejubeld maar het onderzoek staat onder druk door de alsmaar toenemende kosten en het moeilijker verkrijgen van subsidies voor dit type werk.

Ik wil graag benadrukken dat deze nieuwe ontwikkelingen er

niet zouden zijn zonder jarenlang fundamenteel onderzoek. Zonder toegenomen kennis van de celbiologie, de organische chemie, de immunologie gebruikmakend van gesimplificeerde modelsystemen en niet te vergeten het onderzoek in muizen zijn we zover gekomen dat er echt stappen gemaakt worden in nieuwe vormen van immuuntherapie. Fundamenteel onderzoek moet blijven en gestimuleerd worden dat levert echte nieuwe inzichten op die toepasbaar kunnen zijn zoals ook ons eigen onderzoek aangetoond heeft.

Nu is basaal onderzoek doen een dure “hobby”. Ik weet niet of het ook een “linkse hobby” is net als cultuur en natuur, maar onze huidige regering legt de prioriteiten alsmaar bij verbetering en stimulering van de “economie” een mijns inziens steeds meer ongrijpbaar begrip. We moeten deze investeringen allemaal maar vertrouwen, maar wat we met lede ogen mogen aan zien is dat op onze pijlers van ons welzijn, waaronder niet alleen onderwijs en wetenschappelijke kennis maar ook de zorg en onze natuur en cultuur, zwaar bezuinigd wordt. Dat stemt wel somber voor ons toekomstig leefklimaat en onze kennisontwikkeling.

In de wetenschap is altijd een mate van toevalligheid en van onverwachtheid (serendipiteit) dat de toekomst van het onderzoek zal bepalen. Dit geldt uiteraard niet alleen voor de geneeskunde maar ook voor andere wetenschappen. Het is toch wel zeer spectaculair en onverwacht te noemen dat recent is ontdekt dat sommige subatomaire deeltjes toch sneller kunnen dan de lichtsnelheid.¹² Einstein draaide zich om in zijn graf. Dit klinkt als Science Fiction, wat dit precies gaat betekenen is nog niet goed in te schatten. Wat betreft toevalsontdekkingen in de biologie, dit kan natuurlijk niet mooier geïllustreerd worden door de ontdekking van een Tollgen in het kleine fruitvliegje wat nu breed wordt toegepast in de actieve geneeskunde en wat vele bedrijven nu op de markt brengen.

Onderwijs

Zoals u kunt begrijpen ben ik zeer enthousiast over de mogelijkheden van de samenwerking tussen de faculteiten

Geneeskunde en Wiskunde en Natuurwetenschappen. Meer specifiek tussen de immunologie, de organische chemie en de farmacie en het is dan ook de kracht van totaal verschillende disciplines die dit type onderzoek mogelijk maakt. Ik zal mijn best doen het multidisciplinair onderzoek te vertalen in ons onderwijsprogramma en mijn enthousiasme aan de studenten over te brengen over de raakvlakken van de verschillende wetenschappen in fundamentele zin en de toepasbaarheid daarvan voor vaccinontwikkeling en nieuwe interventiestrategieën bij kanker en infectieziekten.

Dankwoord

Aan het einde van mijn rede gekomen wil een aantal mensen bedanken die voor mij belangrijk zijn.

Ik dank het College van Bestuur van de Universiteit Leiden en de Raad van Bestuur van het LUMC en het bestuur van divisie 4 voor hun vertrouwen dat ze in mij hebben gesteld met deze benoeming.

Ik wil ook ons dagelijks bestuur van onze afdeling IHB bedanken. Hooggeleerde Fibbe, Claas en Koning bedankt voor de ondersteuning en ik zie mijn benoeming als een waardering van mijn persoon die het thema tumorimmunologie een toekomstig gezicht kan geven. Ik voel mij thuis in de afdeling en ik zie vele mogelijkheden tot interactie.

Beste Wim, ik wil jou persoonlijk bedanken voor je inzet om mijn benoeming mogelijk te maken. Ik bewonder je management-kwaliteiten en de vele zware taken die je draagt op als afdelings- en divisiehoofd, maar ook dat je bij de wetenschap en de klinische praktijk betrokken wilt blijven. Vooral omdat dat nou net zo leuk is.

Hooggeleerde Melief, beste Kees. Aan jou heb ik heel veel te danken. Ik werk nu al 20 jaar in jouw groep, beginnend als postdoc in 1988 in het Nederlands Kanker Instituut in Amsterdam en vanaf 1993 in Leiden. De laatste 10 jaar meer naast jou dan onder jou. We hebben samen heel

veel meegemaakt, lief en leed. Ik heb heel veel geleerd en jouw historische en brede kennis van de immunologie is ongeëvenaard. Ik begrijp dan ook goed dat je nog niet van ophouden weet nu je eindelijk je doel bereikt hebt: immuuntherapie in de kliniek. Heel spannend om onze nieuwe klinische studie te starten. Ik heb nu wel echt het gevoel de laatste der Mohikanen te zijn die alle virus en tumor modellen uit jouw historie nog kent. Ik beloof je Kees, die zijn in goede handen.

Hooggeleerde Borst, beste Jannie. Ik wil je danken voor de belangrijke periode die ik gehad heb als postdoc in het NKI. Het was een mooie tijd, ik heb erg veel geleerd, de output kon beter, maar die periode van wetenschappelijke struggles hebben mij wel gevormd. Laten we zeggen je bent de startmotor geweest van mijn immunologische carrière. Dank daarvoor.

Ik heb tijdens mijn rede al vele mensen genoemd waar ik mee heb samengewerkt en nog steeds samenwerk in en buiten het LUMC. Allen dank daarvoor. Een paar mensen wil ik nog speciaal noemen.

De organische Chemie groep van de geleerden Overkleef, Van der Marel, Filippov en Codee. Beste Hermen, Gijs, Dima en Jeroen, ik vind het altijd een plezier om weer met jullie in discussie te gaan en nieuwe tools te ontwerpen. Het blijft bijzonder om het LUMC te verlaten en het Gorlaeus in te wandelen, twee verschillende werelden, niet alleen qua gebouw maar ook qua type mensen. Ik moet zeggen, ik voel me er prima thuis, goede sfeer, er is wederzijds respect voor elkaars expertise. Laten we zeggen: een soort van chemistry. Ik zie uit naar onze toekomstige samenwerking.

Ik wil alle medewerkers van de afdeling IHB bedanken. Ik heb altijd met veel plezier op de afdeling gewerkt. Prima sfeer, stop nooit met de buitendagen en de borrels. Speciaal wil ik ons secretaresses Amber, Cynthia, Anouk en Renata noemen.

Bedankt voor jullie positieve inzet en goede sfeer op de afdeling!

De medewerkers van de Klinische Oncologie groep, onder leiding van hooggeleerde Sjoerd van der Burg en de zeergeleerde Thorbald van Hall, waar we wekelijks mee samen werkbespreken, wil ik danken. Laten we dit vooral zo houden er valt nog veel te leren en samen te werken.

De Tumورimmunologie groep. Ik wil iedereen van de TI-groep bedanken, we zijn wat kleiner geworden door de jaren heen, maar we presteren nog steeds goed en er zit weer groei in. Jullie zijn stuk voor stuk allemaal heel prettige mensen om mee te werken. Allemaal dank daarvoor!

Zeergeleerde Arens, beste Ramon. Jouw komst heeft weer vele frisse impulsen gegeven. We zullen samen de groep moeten gaan trekken. Ik heb er zin in, weet zeker dat we een prima team kunnen gaan vormen!

Zeergeleerder Wieles, beste Brigitte, ik wil je zeer bedanken voor al het management werk dat je me uit handen neemt. Wat moet ik zonder jou. Sinds jouw komst is onze groep door jouw strenge beleid weer financieel gezond. Ik beloof je dat ik mijn best zal doen je vogellijst naar de 300 te tillen.

Al het werk waar ik vandaag over verteld heb, is niet het werk van een persoon maar is uiteraard vooral team-werk. Ik wil graag de mensen bedanken die het echte zware werk doen en gedaan hebben. Op het moment zijn dat Marcel, Gijs, Jan Willem, Marieke, Wendy en Rodney. Ik wil ook Selina, Nadine en Sara noemen die voor kort ook deel uitmaakte van mijn groep. Mijn benoeming als hoogleraar is zeker ook de verdienste van jullie harde werk. Beschouw het ook als een eer voor jullie! Allemaal zeer bedankt!

Degene die ik persoonlijk wil danken is uiteraard Marcel. Marcel je bent al sinds 1995 mijn rechterhand, en ik bewonder niet alleen je technische vaardigheden maar ook je

enthousiasme, je inzet en je kennis en eigen initiatief. Wat mij betreft de perfecte analist die lekker zijn gang gaat met een zeer hoog rendement. Marcel bedankt en ik hoop nog vele jaren met jou nog vele leuke proefjes te doen!

Ook mijn vrienden wil ik danken. Ik heb juist bij jullie veel steun gevonden in moeilijke tijden. Mijn vogelhobby geeft mij de juiste balans tussen spanning en ontspanning. Ik zie elk jaar weer uit naar onze Vlielandweekenden.¹³

Carla, we hebben vele jaren samen geleefd en ik wil je graag danken voor de goede jaren en voor de soepele wijze hoe we nu samen onze kinderen opvoeden.

Mijn familie wil ik danken omdat ze er voor me zijn, het gevoel dat je bij elkaar hoort is een heel fijne en warme gedachte. Mijn zus Kitty en zwager Philip en mijn broer Ron, bedankt. Ron ik wil je speciaal bedanken dat je er voor me was en dat je zonder enige twijfel mij bij je in huis nam toen ik in een scheiding lag. Ik zal dat nooit vergeten!

Pa en Ma, Ferry en Lia, ik ben echt heel blij dat we dit samen meemaken. Ik weet het, de gezondheid laat het meer en meer afweten. Maar laten we hier van genieten. Jullie hebben het uiteindelijk mogelijk gemaakt voor me, om te gaan studeren en zover te komen dat ik hier nu sta. Oneindig bedankt daarvoor en ik hoop dat we nog vele jaren met elkaar samen zijn.

Joris en Stella, ik hoop dat jullie het allemaal een beetje beter begrijpen nu jullie drie kwartier, zonder me te onderbreken, naar je vader hebben moeten luisteren. Het is ingewikkeld allemaal dat weet ik, maar ik vind het erg leuk dat jullie er nu ook over mee willen denken. Ik kan me nog herinneren dat we zeer veel lol hadden aan tafel, toen Joris met een onvervalst Amsterdams accent acetylcysteïne probeerde uit te spreken. Joris en Stella, ik weet zeker dat jullie er ook gaan komen met jullie kwaliteiten, ik ben trots op jullie!

Wendy, lieve Wen, het is moeilijk de goede woorden te vinden om je te bedanken. Dank je voor je steun en dat je er voor me bent. We gaan samen wat moois van het leven maken.

Ik heb gezegd.

Bronvermelding

- 1 Stewart AJ and PM Devlin. The history of the smallpox vaccine. *J. Infection* 2006; 52: 329-334.
- 2 Warrell DA. Snake bite. *Lancet* 2010; 375: 77-88.
- 3 Angry Birds. 2011. http://nl.wikipedia.org/wiki/Angry_Birds.
- 4 Zinkernagel RM and PC Doherty. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngenic and semiallogeneic system. *Nature* 1974; 248: 701-702.
- 5 Kenter, GG et al. Vaccination against HPV-16 oncoproteins for vulvar intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med* 2009; 361: 1838-1847.
- 6 Bob Marley. 2011. <http://www.bobmarley.com/>.
- 7 Ossendorp F et al. Differential Expression Regulation of the alpha and beta Subunits of the PA28 Proteasome Activator in Mature Dendritic Cells. *J Immunol.* 2005; 174: 7815-7822.
- 8 Van Montfoort, N et al. Antigen storage compartments in mature dendritic cells facilitate prolonged cytotoxic T lymphocyte cross-priming capacity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 6730-6735.
- 9 Anderson et al. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the Toll gene product. *Cell* 1985; 42: 779-789.
- 10 Volchenkov R et al. The 2011 Nobel prize for Physiology or Medicine. *Scand J Immunol.* 2011; in press.
- 11 Khan, S et al. Distinct uptake mechanisms but similar intracellular processing of two different toll-like receptor ligand-peptide conjugates in dendritic cells. *J Biol Chem* 2007; 282: 21145-21159.
- 12 Brumfiel G. Particles break light-speed limit. Neutrino results challenge cornerstone of modern physics. <http://www.nature.com/news/2011/110922/full/news.2011.554.html>.
- 13 Deception Tours – de Vogels van Vlieland. <http://deceptiontours.nl/> DT site.

PROF.DR. F.A. OSSENDORP



- 1984 Doctoraal Biologie, Universiteit van Amsterdam
- 1984-1988 Promotieonderzoek Nederlands Kanker Instituut, Amsterdam
- 1989 Promotie Universiteit van Amsterdam: “Thyroid antigens and monoclonal antibodies in a thyroid tumor model”
- 1988-1992 Postdoc, Nederlands Kanker Instituut, Amsterdam
- 1993-heden Wetenschappelijk staflid, afdeling
Immunohematologie en Bloedtransfusie,
Tumorimmunologie groep, Leids Universitair
Medisch Centrum
- 2001 Universitair docent
- 2005 Universitair hoofddocent
- 2010 Hoogleraar benoemd bij de faculteiten
Geneeskunde en Wiskunde en
Natuurwetenschappen met als leeropdracht
“Moleculair gedefinieerde Vaccinbiologie”

Door middel van vaccinatie kunnen we ons lichaam beschermen tegen infecties. Wij maken dan gebruik van ons afweersysteem door deze van te voren specifiek te activeren zodat we “immuun” worden. Dit kan simpelweg gedaan worden door de verzwakte of gedode ziekteverwekker te injecteren. Met dit principe zijn er veel effectieve vaccinatieprotocollen ontwikkeld voor verschillende virussen en bacteriën. Echter, het ontwerpen van therapeutische vaccins voor kanker en chronische infectieziekten is veel moeilijker. Door de sterk verbeterde moleculaire kennis van de “immunologie” zijn we veel beter in staat nieuwe gedefinieerde vaccins te ontwerpen waarbij verschillende typen immuuncellen in stelling worden gebracht. Door ons begrip van de receptoren van het ons afweersysteem kunnen we gebruik maken van kleine bioactieve moleculen die de immuunreactie de juiste kant op sturen. Het precieze synthetische ontwerp van het vaccin maakt het dus mogelijk op de juiste moleculaire knopjes te drukken zodat een gecontroleerde afweer ontstaat tegen kankercellen of ongewenste indringers in ons lichaam. Het huidige onderzoek richt zich er op te begrijpen hoe verschillende activatie-signalen precies samenwerken om een effectieve immuunreactie op te wekken. Deze kennis kunnen we gebruiken voor nieuwe vaccinatiestrategieën voor behandeling van kanker en infectieziekten.



Universiteit Leiden