



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Immunogenicity of therapeutic antibodies

van Schie, K.A.J.

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

van Schie, K. A. J. (2017). Immunogenicity of therapeutic antibodies: Immunological mechanisms & clinical consequences

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <http://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Appendix

English summary

Nederlandse samenvatting

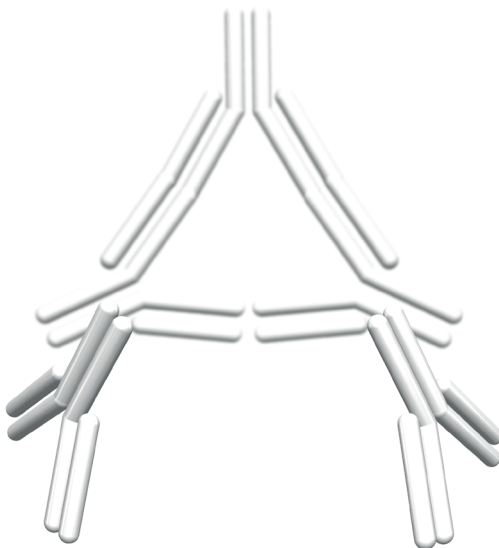
List of publications

List of co-authors and their contribution to the manuscript

Portfolio

Curriculum Vitae

Dankwoord



ENGLISH SUMMARY

Our immune system has evolved to protect us from the continuous exposure to pathogens. Antibodies play an important part in this system, and they ensure that pathogens are rapidly opsonized, lysed and cleared. The two Fab domains of an antibody bind with high specificity to their target, whereas the Fc domain exerts effector functions such as receptor binding and complement activation. Because of these properties, polyclonal antibody products have been used for over a century to treat all sorts of diseases. Over the last thirty years, monoclonal antibody therapy has greatly developed, and many different therapeutic antibody products are now approved to treat a whole spectrum of diseases.

One of the main disadvantages of antibody therapy is its ability to provoke an unwanted immune response in patients, leading to the formation of anti-drug antibodies (ADA). The immunogenic potential differs between antibody therapeutics, and is furthermore influenced by factors such as disease characteristics and genetic variations. Studies have shown a clear inverse correlation between ADA formation and free drug levels (i.e. drug that is not bound by antibodies), and ADA may thus cause a reduced clinical response or even non-response. Furthermore, ADA formation increases the chance of adverse events for some therapeutics, while this effect is absent for other therapeutics.

The immunological mechanisms involved in reducing the free drug concentration and inducing adverse events are yet to be determined. The focus of this thesis is to elucidate these mechanisms to provide a better understanding of the clinical consequences of ADA. The results might be used to optimize monoclonal antibody treatment and could furthermore prove valuable for the development of new therapeutics.

The majority of the research described in this thesis is performed with anti-TNF therapeutics, of which there are five in clinical use (infliximab, adalimumab, golimumab, certolizumab and etanercept). These drugs are used to treat inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis and inflammatory bowel disease. Unfortunately, ADA are detectable in the majority of the infliximab and adalimumab treated patients, although often in low concentrations, and also golimumab and certolizumab are found to be immunogenic to some degree.

To quantify the ADA response, several assays have been developed, each with different characteristics. Since all assays include antibodies as reagents for capture and/or detection, and the ADA and the drug are also antibodies, several forms of interference may occur. This could lead to false-positive or false-negative results, possibly negatively

affecting patient treatment or drug development. **Chapter 2** describes the different assays used for ADA measurement as well as the factors that could cause interference.

Anti-TNF therapeutics reduce inflammation by binding TNF, thereby inhibiting its binding to TNF-receptors. In **Chapter 3**, TNF itself and the interaction of TNF with TNF-inhibitors is investigated. Biologically active TNF is an unstable trimeric protein that, under physiological conditions, rapidly dissociates into biologically inactive monomeric subunits. We demonstrate that on high concentrations TNF dissociates as well, but monomers can reassociate into the active trimeric form, a process called monomer exchange. Results furthermore show that adalimumab, infliximab and etanercept inhibit the monomer exchange and thus stabilize the trimeric form of TNF. In contrast, certolizumab and golimumab did not completely inhibit this process, but did slow the exchange down.

As described above, ADA formation is associated with a reduced free drug level. Although many have speculated that this could either occur via neutralization or through increased clearance, little direct evidence is available on this subject. In **Chapter 4**, the neutralizing capacity of ADA towards all anti-TNF therapeutic antibodies is investigated. We demonstrate that in all patients, more than 97% of all ADA towards adalimumab, golimumab and certolizumab are neutralizing, and that more than 90% of ADA towards the chimeric infliximab are neutralizing. This suggests that the vast majority of ADA compete with TNF for the TNF binding site, and that neutralization thus plays a significant role in reducing the free drug levels.

The findings described in Chapter 4 may be explained in two ways, I) the TNF binding site is very immunogenic, or II) the idiotype is the most immunogenic part of an antibody, regardless of its specificity. We therefore further examined the ADA response towards a different antibody, the anti- α 4 integrin antibody natalizumab, used to treat multiple sclerosis. As described in **Chapter 5**, the ADA response to natalizumab was also highly restricted to the antigen binding site. Together with the results from Chapter 4, we conclude that ADA predominantly target the idiotype of therapeutic antibodies.

Patients with ADA towards infliximab have an increased chance to experience adverse events called infusion reactions. Due to the allergic-like symptoms of these reactions, IgE-ADA is thought to play a role in these events, although contradicting results on the presence of IgE-ADA are published. This controversy is at least in part due to the lack of a robust assay to measure IgE-ADA and a positive control for assay validation. The study in **Chapter 6** describes a novel assay including a recombinant human IgE anti-infliximab antibody as positive control. Using this assay, we established that in the

majority of infusion reaction positive patients no IgE-ADA is detected. Only few patients were found positive for IgE-ADA, generally in low levels, whereas all these patients were also highly IgG-ADA positive. The results from this study therefore indicate that infusion reactions are not associated with IgE-ADA.

It was already established that IgG-ADA were associated with infusion reactions in infliximab and natalizumab treated patients. The mechanisms behind these clinical manifestations are unknown, but complex formation between ADA and drug has been proposed to play a role. In **Chapter 7**, the factors influencing complex formation between infliximab and ADA were investigated, as well as the immune activating potential of these complexes. Concentration and ratio were found to affect immune complex size independently. Immune activation was absent for dimers, tetramers and hexamers, likely due to their conformation. However, very large complexes did have some immune activating potential. These results indicate that generally, immune complex formation between drug and ADA is not harmful. Only in rare occasions, when drug and ADA are in equal and high concentrations, large immune complexes may be formed and activation of the immune system may occur, possibly leading to the adverse events observed in the clinic.

The combined results described in this thesis provide new information on the mechanisms involved in the (unwanted) clinical effects as observed in ADA positive patients. These results may improve the clinical management of these patients, and can furthermore be used for the development of new antibody therapeutics.

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Ons immuunsysteem is geëvolueerd om ons te beschermen tegen de continue aanvallen van pathogenen. Antistoffen spelen een belangrijke rol in dit systeem en zorgen ervoor dat pathogenen snel geopsoniseerd, gelyseerd en verwijderd worden. De twee Fab domeinen van een antistof binden hun doelwit met hoge specificiteit, terwijl het Fc domein de effector functies zoals receptor binding en complement activatie uitvoert. Door deze eigenschappen worden polyklonale antistofproducten al meer dan 100 jaar gebruikt als therapie voor uiteenlopende ziekten. De laatste dertig jaar is er sterke vooruitgang geboekt in de ontwikkeling van monoklonale antistoffen, en veel verschillende therapeutische antistoffen zijn inmiddels goedgekeurd om diverse ziekten effectief te behandelen.

Een belangrijk nadeel van therapeutische antistoffen is hun vermogen om een ongewenste immuunrespons uit te lokken in patiënten, wat leidt tot de vorming van anti-drug antistoffen (ADA). The immunogeniciteit verschilt per therapeutische antistof, maar wordt ook beïnvloed door ziektekenmerken en genetische variatie. Studies laten een inverse correlatie zien tussen de vorming van ADA en de concentratie van de vrije drug (d.w.z. niet gebonden aan antistoffen), en ADA kunnen daardoor een verminderde klinische respons en zelfs verlies van respons veroorzaken. Daarnaast is voor sommige therapeutische antistoffen gevonden dat het hebben van ADA een verhoogde kans op bijwerkingen geeft, hoewel dit voor veel andere therapeutische antistoffen niet het geval is.

Het is onbekend welke immunologische mechanismes betrokken zijn bij het verlagen van de vrije drug concentratie en het veroorzaken van bijwerkingen. De focus van dit proefschrift ligt daarom op het ontrafelen van deze mechanismes om beter te begrijpen hoe de klinische consequenties van ADA tot stand komen. Deze resultaten kunnen gebruikt worden om de therapie met monoklonale antistoffen te optimaliseren, en zouden verder waardevol kunnen zijn in de ontwikkeling van nieuwe therapeutische antistoffen.

Het grootste gedeelte van het onderzoek dat in dit proefschrift beschreven wordt, is uitgevoerd met anti-TNF antistoffen, waarvan er vijf in klinisch gebruik zijn (infliximab, adalimumab, golimumab, certolizumab en etanercept). Deze medicijnen worden gebruikt als behandeling voor ontstekingsziekten zoals reumatoïde artritis en inflammatoire darmziekten. Helaas worden ADA gedetecteerd in de meerderheid van de met infliximab en adalimumab behandelde patiënten, hoewel meestal slechts een

lage concentratie ADA gevonden wordt. Verder zijn ook golimumab en certolizumab immunogeen bevonden in een deel van de patiënten.

Om de ADA respons te kwantificeren zijn verschillende testen ontwikkeld, elke met andere eigenschappen. Aangezien alle testen antistoffen gebruiken als reagentia voor coat en/of detectie, en zowel de ADA als de drug antistoffen zijn, kunnen er verschillende vormen van interferentie ontstaan. Dit kan leiden tot vals-positieve of vals-negatieve resultaten, wat mogelijk een negatieve uitwerking kan hebben op de patiëntenbehandeling, of op het ontwikkelen van een nieuw medicijn. In **Hoofdstuk 2** worden de verschillende testen besproken om ADA te kunnen meten, alsmede de verschillende factoren die in deze testen kunnen storen.

Anti-TNF antistoffen reduceren ontsteking door TNF te binden, waardoor zijn binding met de TNF-receptoren wordt verhinderd. In **Hoofdstuk 3** wordt TNF zelf, en de interactie van TNF met TNF-receptoren onderzocht. Biologisch actief TNF is een instabiele trimeer die, onder fysiologische condities, snel dissocieert in biologisch inactieve monomeren. In dit onderzoek laten we zien dat op hoge concentraties TNF ook dissocieert, maar dat monomeren kunnen her-associëren tot een actieve trimeer, een proces dat monomeeruitwisseling heet. De resultaten laten verder zien dat adalimumab, infliximab en etanercept deze monomeeruitwisseling verhinderen, en op die manier de trimere vorm van TNF stabiliseren. Daarentegen kunnen certolizumab en golimumab dit proces niet volledig stoppen, hoewel ze het proces wel vertragen.

Zoals hierboven beschreven is de vorming van ADA geassocieerd met een verlaagde concentratie vrije drug. Hoewel velen hebben gespeculeerd dat dit zou kunnen ontstaan via neutralisatie of via versnelde klaring is er weinig direct bewijs over dit onderwerp beschikbaar. In **Hoofdstuk 4** onderzoeken we de neutraliserende capaciteit van ADA tegen alle anti-TNF antistoffen. De resultaten laten zien dat in alle patiënten meer dan 97% van de ADA tegen adalimumab, golimumab en certolizumab neutraliserend zijn, en in meer dan 90% van de ADA tegen de chimere antistof infliximab. Dit suggereert dat de overgrote meerderheid van de ADA competeert met TNF voor de TNF bindingsplaats, en dat neutralisatie dus een belangrijke rol speelt in het reduceren van de vrije drug concentratie.

De bevindingen die in Hoofdstuk 4 worden beschreven kunnen mogelijk op twee manieren worden verklaard, I) de TNF bindingsplaats is zeer immunogeen, of II) het idiotype is het meest immunogene gedeelte van de antistof, ongeacht de specificiteit. We hebben daarom de ADA respons tegen een ander therapeutische antistof onderzocht, de anti- α 4 integrine antistof natalizumab die wordt gebruikt als behandeling voor

multiple sclerose. Zoals in **Hoofdstuk 5** wordt beschreven is de ADA respons tegen natalizumab ook sterk beperkt tot de antigeenbindingsplek. Samen met de resultaten van Hoofdstuk 4 concluderen we daarom dat ADA voornamelijk gericht zijn op het idiotype van therapeutische antistoffen.

Patiënten die ADA maken tegen infliximab hebben een verhoogde kans op infusiereacties, een bijwerking van infliximab. Door de allergieachtige verschijnselen van deze reacties wordt gedacht dat IgE-ADA hierin een rol spelen, hoewel de gepubliceerde resultaten over de aanwezigheid van IgE-ADA elkaar tegenspreken. Deze onenigheid wordt in ieder geval deels veroorzaakt door het gebrek aan een robuuste test om IgE-ADA te kunnen meten en een positieve controle voor testvalidatie. In **Hoofdstuk 6** wordt een nieuwe test beschreven inclusief een recombinante humane IgE anti-infliximab antistof als positieve controle. Met deze test hebben we bepaald dat in de meerderheid van de patiënten met een infusiereactie geen IgE-ADA te detecteren is. Slechts enkele patiënten waren positief voor IgE-ADA, meestal in lage hoeveelheden, en al deze patiënten waren daarnaast ook sterk positief voor IgG-ADA. De resultaten van deze studie geven aan dat infusiereacties niet geassocieerd zijn met IgE-ADA.

Het was al vastgesteld dat IgG-ADA geassocieerd zijn met infusiereacties in infliximab en natalizumab behandelde patiënten. De mechanismes achter deze klinische manifestaties zijn onbekend, maar er is gesuggereerd dat de vorming van immuuncomplexen tussen ADA en drug een rol kan spelen. In **Hoofdstuk 7** wordt onderzocht welke factoren de complexvorming tussen infliximab en ADA beïnvloeden, en wat het immuunactiverende vermogen is van deze complexen. De concentratie en de ratio werden gevonden als twee onafhankelijke factoren die bepalend waren voor de immuuncomplexgrootte. Er werd geen immuunactivatie gezien door dimeren, tetrameren en hexameren, waarschijnlijk door hun conformatie. Zeer grote complexen hadden wel enig vermogen om het immuunsysteem te activeren. Deze resultaten impliceren dat immuuncomplexen tussen ADA en drug over het algemeen niet schadelijk zijn. Echter, in zeldzame gevallen, wanneer drug en ADA in gelijke en hoge hoeveelheden aanwezig zijn, zouden grote complexen gevormd kunnen worden die immuunactiverend kunnen werken, wat mogelijk leidt tot de bijwerkingen die gezien worden in de kliniek.

De resultaten die in dit proefschrift worden beschreven geven nieuwe informatie over de mechanismes die betrokken zijn bij (ongewenste) klinische effecten die worden waargenomen in ADA positieve patiënten. Deze resultaten zouden de behandeling van deze patiënten kunnen verbeteren, en kunnen verder gebruikt worden voor het ontwikkelen van nieuwe therapeutische antistoffen.

LIST OF PUBLICATIONS

K.A. van Schie, P. Ooijevaar-de Heer, S. Kruithof, C. Plasencia, T. Jurado, D. Pascual-Salcedo, J.F. Brandse, G.R.A.M. D'Haens, G.J. Wolbink, T. Rispens
Infusion reactions during infliximab treatment are not associated with IgE anti-infliximab antibodies. *Ann Rheum Dis.* 2017;76:1285-1288

K.A. van Schie, S. Kruithof, P.A. van Schouwenburg, A. Vennegoor, J. Killestein, G. Wolbink, T. Rispens
Neutralizing capacity of monoclonal and polyclonal anti-natalizumab antibodies: The immune response to antibody therapeutics preferentially targets the antigen-binding site. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Mar;139(3):1035-1037

K.A. van Schie, P. Ooijevaar-de Heer, L. Dijk, S. Kruithof, G. Wolbink, T. Rispens
Therapeutic TNF inhibitors can differentially stabilize trimeric TNF by inhibiting monomer exchange. *Sci Rep.* 2016 Sep 8;6:32747.

K.A. van Schie, G.J. Wolbink, T. Rispens
Cross-reactive and pre-existing antibodies to therapeutic antibodies – Effects on treatment and immunogenicity. *MAbs.* 2015;7(4):662-71.

K.A. van Schie, M.H. Hart, E.R. de Groot, S. Kruithof, L.A. Aarden, G.J. Wolbink, T. Rispens
The antibody response against human and chimeric anti-TNF therapeutic antibodies primarily targets the TNF binding region. *Ann Rheum Dis.* 2015 Jan;74(1):311-4.

P.A. van Schouwenburg, S. Kruithof, C. Votsmeier, **K. van Schie**, M.H. Hart, R.N. de Jong, E.E. van Buren, M. van Ham, L. Aarden, G. Wolbink, D. Wouters, T. Rispens
Functional analysis of the anti-adalimumab response using patient-derived monoclonal antibodies. *J Biol Chem.* 2014 Dec 12;289(50):34482-8.

LIST OF CO-AUTHORS AND THEIR CONTRIBUTIONS TO THE MANUSCRIPT

Cross-reactive and pre-existing antibodies to therapeutic antibodies—Effects on treatment and immunogenicity

K.A. van Schie	Drafting the manuscript and final approval of the manuscript
G.J. Wolbink	Critically reviewing and final approval of the manuscript.
T. Rispens	Drafting the manuscript, critically reviewing and final approval of the manuscript.

Therapeutic TNF inhibitors can differentially stabilize trimeric TNF by inhibiting monomer exchange

K.A. van Schie	Study concept and design, conducting experiments, analysis and interpretation of the results, drafting the manuscript, reviewing the results and final approval of the manuscript.
P. Ooijevaar-de Heer	Conducting experiments, analysis and interpretation of the results, reviewing the results and final approval of the manuscript.
L. Dijk	Conducting experiments, analysis and interpretation of the results, reviewing the results and final approval of the manuscript.
S. Kruithof	Conducting experiments, analysis and interpretation of the results, reviewing the results and final approval of the manuscript.
G.J. Wolbink	Analysis and interpretation of the results, drafting the manuscript, reviewing the results and final approval of the manuscript.
T. Rispens	Study concept and design, conducting experiments, analysis and interpretation of the results, drafting the manuscript, reviewing the results and final approval of the manuscript.

The antibody response against human and chimeric anti-TNF therapeutic antibodies primarily targets the TNF binding region

K.A. van Schie	Study concept and design, acquisition of data, analysis and interpretation of the results, drafting the manuscript and final approval of the manuscript.
M.H. Hart	Acquisition of data, analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
E.R. de Groot	Acquisition of data, analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
S. Kruithof	Acquisition of data, analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
L.A. Aarden	Study concept and design, analysis and interpretation of the results, study supervision, critically reviewing and final approval of the manuscript.
G.J. Wolbink	Study concept and design, analysis and interpretation of the results, obtaining funding, study supervision, critically reviewing and final approval of the manuscript.
T. Rispens	Study concept and design, analysis and interpretation of the results, study supervision, critically reviewing and final approval of the manuscript.

Neutralizing capacity of monoclonal and polyclonal anti-natalizumab antibodies: The immune response to antibody therapeutics preferentially targets the antigen-binding site

K.A. van Schie	Acquisition of data, analysis and interpretation of the results, drafting the manuscript and final approval of the manuscript.
S. Kruithof	Acquisition of data, analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
P.A. van Schouwenburg	Acquisition of data, analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
A. Vennegoor	Analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
J. Killestein	Analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.

G.J. Wolbink	Study concept and design, analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
T. Rispens	Study concept and design, analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.

Infusion reactions during infliximab treatment are not associated with IgE anti-infliximab antibodies

K.A. van Schie	Acquisition of data, analysis and interpretation of the results, drafting the manuscript and final approval of the manuscript.
P. Ooijevaar-de Heer	Acquisition of data, analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
S. Kruithof	Acquisition of data, analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
C. Plasencia	Analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
T. Jurado	Analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
D. Pascual-Salcedo	Analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
J.F. Brandse	Analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
G.R.A.M. D'Haens	Analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
G.J. Wolbink	Study concept and design, analysis and interpretation of the results, critically reviewing and final approval of the manuscript.
T. Rispens	Study concept and design, design of the experiments, analysis and interpretation of the results, drafting the manuscript, critically reviewing and final approval of the manuscript.

PHD PORTFOLIO

General courses	Year	ECTS
Sanquin Science course	2013	0.6
Advanced immunology	2014	2.9
European Network of Immunology – Advanced Immunology Summer School	2014	1.8
Specific courses		
Presenting	2015	0.3
Scientific English Writing	2015	3
Mass Spectrometry, Proteomics & Protein Research	2015	1.4
Practical biostatistics	2015	1.4
Pharmacokinetics	2017	1.5
Conferences		
European Immunogenicity Platform (EIP) München, Germany / Lissabon, Portugal Oral (2015)	2013, 2015	2
Interactive Infection & Immunology retreat (Triple I) Kameryck/Vinkeveen, The Netherlands Oral (2014)	2013, 2014	2
Winterschool Nederlandse Vereniging van Immunologie (NVVI) Noordwijkerhout/Kaatsheuvel, The Netherlands Liverpool, The United Kingdom Posters (2013,2014), Orals (2015, 2016)	2013, 2014, 2015, 2016	3
Prophylactic and Therapeutic Antibodies (Keystone Symposia) Keystone, Colorado, USA Oral, poster	2014	2
Antibody Biology & Engineering (Gordon Research Seminar & Conference) Galveston, Texas, USA Orals	2016	2.5

Seminars, meetings & masterclasses	Year	ECTS
Department meetings	2013-2017	5
Journal club	2013-2017	5
Landsteiner lectures and guest speaker seminars	2013-2017	5
Sanquin Science Day (posters)	2014, 2016	1
Masterclass Timothy Springer Children's Hospital Boston, Massachusetts, USA	2014	0.2
Annual ARC symposium Amsterdam, The Netherlands	2016	0.5
Teaching		
Bachelor Student: Patricia van der Woude (9 months)	2014-2015	5
Computer course assistant - Immunology	2015-2016	1

CURRICULUM VITAE

Karin van Schie werd op 15 oktober 1988 geboren in Naaldwijk. In 2006 behaalde ze haar HAVO diploma met het profiel Natuur en Gezondheid. Daarna begon ze aan de Hogeschool Rotterdam met de bachelor Biologie en Medisch Laboratorium onderzoek. Tijdens haar bachelor liep ze stage bij het Erasmus MC in Rotterdam onder begeleiding van Dr. Robert Kraaij, waar ze deel nam aan onderzoek naar adenovirus-gebaseerde gentherapie voor de behandeling van prostaatkanker. Bij het Biomedical Primate Research Centre in Rijswijk deed ze haar tweede bachelor stage onder leiding van Dr. Jeffrey



Bajramovic, waar ze onderzoek deed naar het vervangen van Compleet Friends Adjuvant. In 2010 sloot ze haar bachelor cum laude af, en vervolgde haar opleiding aan de Vrije Universiteit te Amsterdam met de master Biomedical Sciences. Haar eerste masterstage deed ze bij de afdeling Immunopathologie van Sanquin, waar ze onder leiding van Dr. Anja ten Brinke de intracellulaire signalering van Toll-like receptoren onderzocht. Haar afstudeerstage vond plaats op de afdeling Pathologie van het VUmc, waar ze onder leiding van Dr. Astrid Greijer onderzoek deed naar de effecten van het BАРF1 eiwit op de apoptose-route in nasopharynx- en maagcarcinomen. Zij rondde haar master begin 2013 af met een literatuurstudie aan de afdeling Immunopathologie van Sanquin onder leiding van Dr. Theo Rispens. Hierin zette ze uiteen welke testen beschikbaar zijn voor het meten van het antistofrespons tegen anti-TNF antistoffen, en welke factoren kunnen storen in deze testen. Een deel van deze literatuurstudie is terug te vinden in hoofdstuk 2 van dit proefschrift. Bij dezelfde afdeling begon ze aansluitend haar promotieonderzoek onder leiding van Dr. Theo Rispens en Dr. Gertjan Wolbink, waar ze verder onderzoek deed naar de immunogeniciteit van therapeutische antistoffen. Met dit onderzoek probeerde ze de immunologische mechanismes te ontrafelen voor verschillende observaties uit de kliniek. De resultaten van dit onderzoek zijn beschreven in dit proefschrift.

DANKWOORD

Vanaf mijn eerste dag als masterstudent bij Immunopathologie wist ik het al: dit is de meest fantastische afdeling om bij te kunnen werken. Het is daarom ook niet verrassend dat mijn promotietraject dat daarop volgde vier supermooie jaren zijn geworden. Lieve collega's van IP, jullie hebben er altijd voor gezorgd dat ik me thuis voelde en dat ik met veel plezier naar mijn werk ging. Bedankt daarvoor!

Theo, mijn copromotor, jij bent het fundament van dit onderzoek. Vanaf het begin van mijn promotietraject had je al voor de komende tien jaar experimenten in gedachten, zodat ik op de zogenaamde 'rijdende trein' kon springen. Ik heb deze vier jaar zó veel van je geleerd. Natuurlijk alle mogelijke weetjes over antistoffen, assays opzetten en isosbestische punten, maar ook over minder wetenschappelijke dingen zoals de crime van het paper-submitten, wetenschapspolitiek, en je advies dat me altijd is bijgebleven: wetenschap is niet het enige wat telt. Dankjewel voor de mooie samenwerking deze vier fantastische jaren!

Gertjan, mijn copromotor, de besprekingen ik met jou had gingen vooral over papers. Van jou heb ik geleerd de kern van het onderzoek samen te vatten, zodat het verhaal een zo duidelijk mogelijke boodschap kreeg. Uiteraard ging het ook vaak over hoe we die papers zo goed mogelijk weg konden krijgen. Als ik kijk naar de inhoud van dit boekje, denk ik dat we daar in geslaagd zijn. Dankjewel Gertjan!

Marieke, jij bent mijn promotor en het hoofd van deze geweldige afdeling. We spraken elkaar niet vaak, maar aan het einde van mijn promotietraject, toen er kinken in de kabels kwamen, stond je voor me klaar. Het is niet voor niets dat IP zo'n fijne omgeving is: jij vecht voor iedere collega en zorgt voor iedereen, vaak zonder dat we het zelf door hebben. Dankjewel!

Simone, de held in dit verhaal, de Master of HPLC, jij pipetteert met de snelheid van het licht! Jij hebt er voor gezorgd dat dit boekje op tijd af is gekomen, zelfs met twee keer zwangerschapsverlof. De verschrikkelijke TRIA's en de monster-macrofaagproeven (die eigenlijk best leuk waren, op de duimblessures na) hebben hun vruchten afgeworpen. Ik ben blij dat jij mijn paranimf wil zijn bij deze laatste monsterproef!

Willem, mijn paranimf, samen hebben we heel wat enerverende biologicalsbesprekingen meegemaakt. Toch moet ik bekennen dat ik ze nog niet heb gemist... Wat ik wel zal missen zijn de vele vrijdagmiddagborrels en de geweldige feestjes die we hebben gehad, dus wellicht kom ik nog eens partycrashen, haha. Het antistofcongres en vooral de

aansluitende vakantie in Houston met jou, Sanne en Gillian blijft een mooie herinnering. Ik kijk nu al weer uit naar de NVVI!

Dan natuurlijk alle AIO's (en zeker ook de oudjes!) van IP: Richard, Peter-Paul (met een streepje ertussen!), Anouk, Lea, Astrid, Twan, Anna & Anna (dank voor het heerlijke AAAAA-diner), Sanne (zeg nog eens posterkoker?), Inge (alle vier: dank voor het SAAI-diner!), Anno, Saskia, Niels (dankjewel voor je cruciale last-minute hulp om mijn proefschrift op tijd af te krijgen!), Laura & Laura, Mischa, Sonja, Mateusz, Iwan, Marein, Gerben, Casper, Judith, Jana en Jorn. Zowel tijdens het werk als erna zorgden jullie voor megaveel gezelligheid. Ik kon mijn frustraties bij jullie kwijt, maar jullie deelden ook mijn blijdschap als ik springend door het lab ging omdat er een belangrijke proef was gelukt. Bedankt voor de geweldige tijd die ik met jullie had!

Fatima, zonder zou ik opgeslokt zijn door alle bureaucratie rond het promotietraject. Jij bent, samen met Kaoutar, een rots in de branding voor de hele afdeling. Bedankt voor alle hulp de afgelopen jaren.

Alle collega's van IP die ik nog niet genoemd heb, Tineke, Angela, Dorina, Ingrid, Anja, Margreet, Annelies, Kristof, Marlieke (ik kijk nu al uit naar onze lunches in Leiden!), Diana, Patricia (mijn enige student, dankjewel voor je hulp bij m'n onderzoek!), Sacha, Ruchira, Rob, Lucien, Gerard (bedankt voor de vele leuke discussies!), Robbert, Jolanda, Brenda, John, Elisabeth, Henk, Marja, Gijs, Ellen, Pleuni, Mieke, Irma, Miranda, Ninotska, Karien, Steven, Gillian en Dorien. Bedankt voor jullie hulp bij mijn experimenten, jullie kennis en ervaring, de gezellige labdagen en labweekendjes weg, jullie eeuwige gekakel in de kantoorruimte, maar bovenal jullie gezelligheid die de afdeling zo speciaal maakt!

De samenwerking tussen de Biologicalsgroep op research en die van de diagnostiek is heel waardevol, en ik wil alle mensen van diagnostiek dan ook bedanken: Annick, Henk, Mark, Tom, Desiree, Astrid, Tjitske, Ronald en Asma. En sorry voor alle dingen die ik per ongeluk op jullie lab kapot heb gemaakt...

Erik, Mark en Simon, dankjewel voor jullie engelengeduld dat jullie met mij hadden als ik weer eens een experiment met de FACS, imagestream of confocal had gepland. Het kost wat moeite, maar het heeft het boekje wel gehaald!

Samenwerkingen maken het onderzoek beter en leuker, en ik wil daarom de collega's bij Reade en het AMC bedanken voor de nuttige werkbesprekingen, Roman en Erik van het LUMC voor de geweldige EM foto's die jullie hebben gemaakt van de

antistofcomplexen, en Stefan en Wim voor de AF4 experimenten die ik bij jullie op het LACDR mocht uitvoeren.

Mijn nieuwe Reumatologie collega's, en vooral die op C5-61: jullie hebben er voor gezorgd dat ik me meteen thuis voelde op mijn nieuwe plek in het LUMC. Dankjewel daarvoor!

Alle vrienden uit het Westland, van de VU, en alle nieuwe vrienden die ik er nu in Amsterdam bij heb gekregen (Yeti's, ik kijk nu al uit naar het volgende fietsavontuur!), dankjewel voor de gezelligheid buiten het werk om. Ik hou van de gezellige etentjes, verjaardagen en nachten in de kroeg die ik met jullie beleef. Bruce, wat gaaf dat je mijn kافت wilde ontwerpen, hij is perfect! En Angelique, Lianne en Ruben, ook al zie of spreek ik jullie niet zo vaak, bij jullie kan ik altijd terecht. Ik kan me geen betere vrienden wensen!

Jeroen, mijn grote broer, jij loopt altijd een stapje voor me uit waardoor je me laat zien hoe het moet (of niet moet, haha!). Ons raakvlak is de wetenschap, en ik waardeer de wetenschappelijke discussies die ik met jou kan voeren. Jouw natuurkundige blik op de immunologie komt soms verfrissend uit de hoek, en heeft meer dan eens mijn onderzoek beïnvloed. Dankjewel daarvoor!

Papa, mama, dankjewel voor jullie vertrouwen in mij. Jullie hebben mij een onbezorgde jeugd en studententijd bezorgd, en hebben me altijd gesteund in mijn weg naar de top. Bij jullie thuis waan ik me altijd eventjes op vakantie, weg van alle drukte van het werk. Bedankt dat jullie er altijd voor me zijn.

Maarten, jij weet als geen ander hoe veel verschillende emoties een promotietraject kan losmaken. Altijd ben je er voor me, als het goed gaat maar juist ook als het minder goed gaat. Jouw relativeringsvermogen zorgt ervoor dat problemen in oplossingen worden omgezet, en een peperdure state-of-the-art microscoop wordt gereduceerd naar 'dus eigenlijk is het gewoon een soort MRI, wat is daar nou weer nieuw aan?'. Jij kent me soms beter dan ik mezelf ken, en daarmee help je me om de juiste beslissingen te nemen zodat ik op de goede route blijf. Met jou is het leven gewoon leuker, en daar ben ik je heel dankbaar voor!