

---

# 8

## Les stratégies vaccinales ont-elles un avenir en parodontologie ?

Les exposés des experts, comme on le verra dans ce chapitre, ne concordent pas complètement dans leurs évaluations, positive ou négative, des perspectives vaccinales. Les mêmes différences apparaissent dans les données bibliographiques. Les arguments respectifs sont présentés plus loin selon deux approches différentes.

### Anticorps parodontaux

Avant de coloniser le parodonte, les micro-organismes pénètrent dans la bouche où ils sont transportés par la salive et les mouvements de déglutition vers le pharynx et l'œsophage. Cette clairance physiologique des germes buccaux, pathogènes ou non, est facilitée par les anticorps salivaires qui augmentent l'adhésion au mucus. Ces anticorps appartiennent essentiellement au système immunitaire commun à la plupart des muqueuses (Iscaki et coll., 1993). À ces anticorps « sécrétoires » s'ajoutent des anticorps d'origine sérique ou gingivale, appelés anticorps « systémiques ».

Les anticorps sécrétoires salivaires sont synthétisés par des formations lymphoïdes situées dans les glandes salivaires majeures ou mineures. De type IgA dimère, ils sont transportés de manière active à travers les cellules épithéliales grâce à un récepteur membranaire, le poly-Ig récepteur ou composant sécrétoire (SC) (Brandtzaeg, 1981). Après sécrétion, le SC reste fixé à l'IgA pour former une molécule polymérique composite (S-IgA) résistante à la plupart des protéases. Cependant, l'une des deux sous-classes d'IgA est électivement sensible à des enzymes appelées IgA<sub>1</sub>-protéases, synthétisées par des espèces microbiennes variées (Kilian et coll., 1988), en

particulier par *Prevotella* (Frandsen et coll., 1995). Bien que les S-IgA puissent diffuser vers le liquide gingival, leur concentration y est faible et leur rôle se situe essentiellement au niveau de la muqueuse buccale.

Les anticorps du liquide gingival sont surtout de type IgG, plus accessoirement des IgM ou des IgA monomériques sans relations avec les S-IgA. Classiquement attribués à une diffusion d'anticorps sériques dans le sillon gingival, ces anticorps sont en partie synthétisés localement. Leur rôle serait de neutraliser ou d'éliminer les agents pathogènes colonisant le parodonte. Ce sont sur ces anticorps inductibles par voie systémique que reposent essentiellement les espoirs de vaccination contre les parodontopathies.

### Anticorps sériques anti-bactéries parodontales

Ces anticorps ont été les plus étudiés car ils sont très stables du fait de l'absence de protéases actives dans le sérum et de la facilité à les collecter (Ebersole et coll., 1992). Les tests réalisés avec un grand nombre de bactéries pathogènes montrent que la quasi-totalité des sujets atteints de parodontopathies développe des anticorps sériques dirigés contre un ou plusieurs de ces germes, définissant ainsi des groupes de réponse (Haffajee et coll., 1995). La spécificité de la réponse est corrélée avec les différentes formes cliniques de parodontopathies ainsi qu'avec les résultats microbiologiques : anticorps anti-*Actinobacillus actinomycetemcomitans* dans la parodontite juvénile localisée (PJL) (Raney et coll., 1982; Ebersole et coll., 1983; Ling et coll., 1993), anti-*Porphyromonas gingivalis* dans la parodontite à progression rapide (PPR) (Ebersole et coll., 1991; Ebersole et Cappelli, 1994; Ebersole et coll., 1983), la parodontite juvénile généralisée (PJG), la parodontite de l'adulte (PA) (Mooney et coll., 1994; Farida et coll., 1986; Gunsolley et coll., 1987; Brown et coll., 1991; Lopatin et coll., 1992; Saito et coll., 1993a et b) et les parodontites du sujet âgé (McArthur et coll., 1995). À ces anticorps s'ajoutent d'autres spécificités, notamment anti-*Prevotella intermedia* (Baumgartner et coll., 1992), et des associations variées peuvent être observées dans la plupart des formes cliniques (Zafirooulos et coll., 1992).

Les IgG constituent l'isotype majoritaire de ces anticorps et leurs sous-classes ont été particulièrement étudiées. En effet, alors que la sous-classe majoritaire des IgG sériques totales est l'IgG<sub>1</sub>, celle des anticorps sériques anti-*A. actinomycetemcomitans* (Ling et coll., 1993; Ebersole et Cappelli, 1994; Wilson et Hamilton, 1992, 1995a et b) et anti-*P. gingivalis* (Whitney et coll., 1992; Lopatin et Blackburn, 1992) est l'IgG<sub>2</sub>. Ces résultats, confirmés par de nombreux laboratoires, ont été observés dans toutes les formes de parodontopathies : PJL (Ling et coll., 1993; Wilson et Hamilton, 1992), PPR (Whitney et coll., 1992), PJG (Wilson et Hamilton, 1995a et b) et PA (Lopatin et coll., 1992). L'augmentation de la proportion des IgG<sub>2</sub>

parmi les anticorps est indépendante du pourcentage des IgG<sub>2</sub> totales dans le sérum qui varie selon la race (plus élevé chez les Noirs), l'âge (augmentation progressive jusqu'à la puberté) et l'atteinte parodontale (augmentée en cas de PJI) (Lu et coll., 1994). Les autres isotypes IgG<sub>3</sub> et IgG<sub>4</sub> ont été beaucoup moins étudiés du fait de leurs taux plus faibles. Les anticorps IgA sériques anti-Aa contiennent des pourcentages normaux de formes polymériques et d'IgA<sub>1</sub> (Brown et coll., 1991). Quant aux anticorps IgM, leur taux est généralement supérieur à celui des témoins (Ebersole et coll., 1983), excepté dans le cas de la PA où il est au contraire inférieur (Farida et coll., 1986; Schenck et coll., 1989).

L'avidité (affinité fonctionnelle) des anticorps anti-*A. actinomycetemcomitans* et anti-*P. gingivalis* est faible par rapport à celle des anticorps anti-tétaniques (Lopatin et coll., 1992). Cependant cette comparaison doit être modulée en considérant le fait que les antitoxines vaccinales sont des anticorps hyper-immuns, réputés pour leur très forte affinité. Par ailleurs, il faut souligner que, malgré plusieurs études bien réalisées, aucune conclusion cohérente ne se dégage encore des résultats obtenus sur les différences d'avidité entre les anticorps des sujets atteints de parodontopathies et ceux des témoins (Chen et coll., 1991; Whitney et coll., 1992; Mooney et coll., 1993; Saito et coll., 1993a et b).

## Anticorps du fluide gingival

Bien qu'il existe une diffusion du sérum vers le fluide gingival, de nombreux arguments plaident en faveur d'une importante synthèse locale d'anticorps, surajoutée à la simple diffusion sérique. L'étude des anticorps viraux sans relation avec le parodonte (anti-cytomégalo-virus, anti-coxsackie et anti-ourliens) montre que leur taux est beaucoup plus faible que dans le sérum (Hochman et coll., 1994), alors que celui des anticorps anti-bactéries parodontales, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* et *Porphyromonas gingivalis*, est supérieur à celui du sérum (Ebersole et Cappelli, 1994; Reinhardt et coll., 1989). Ces anticorps sont en grande majorité des IgG<sub>2</sub>, mais l'augmentation du taux des anti-*P. gingivalis*, a été observée pour toutes les sous-classes d'IgG notamment pour les IgG<sub>4</sub> où le titre peut être 24 fois supérieur à celui du sérum (Reinhardt et coll., 1989). L'augmentation semble moins importante pour les anti-*A. actinomycetemcomitans* (Baumgartner et coll., 1992). Pour les IgA anti-*A. actinomycetemcomitans*, l'augmentation porte essentiellement sur les IgA<sub>2</sub> (Engström et coll., 1993). Dans tous les cas, il existe une bonne corrélation individuelle entre les taux sériques et gingivaux (Kinane et coll., 1993).

Des variations locales peuvent être observées chez un même sujet, selon le caractère pathologique, ou non, du site. Dans la PA, les IgG<sub>1</sub> et IgG<sub>4</sub> totales sont beaucoup plus augmentées au niveau des lésions que dans les sites

normaux, y compris en tenant compte de la concentration en albumine sérique (Kinane et coll., 1993). De la même manière, Ebersole et coll. (1994) ont montré que parmi les sites avec augmentation des IgG<sub>4</sub> anti-*A. actinomycetemcomitans*, 95 % étaient colonisés par cette bactérie. Une corrélation entre la concentration totale de cette dernière sous-classe et l'activité de la maladie a par ailleurs été signalée dans la PA (Wilton et coll., 1993).

Les variations des immunoglobulines locales ne concernent pas uniquement les IgG, mais également des molécules peu abondantes, mais très actives, peut-être aussi de grande importance. Ainsi, Suzuki et coll. (1995) ont récemment montré que la concentration en IgE dans le liquide gingival était très élevée avec un titre moyen de 1 208 U/ml contre 49 U/ml dans le sérum.

### **Corrélation inverse entre les anticorps et la sévérité clinique**

Les anticorps peuvent intervenir à deux niveaux : salivaire (Smith et coll., 1994), en coopération avec les IgA sécrétoires (Schenck et coll., 1993), et local. L'absence de sévérité particulière des parodontopathies au cours des hypogammaglobulinémies communes, des déficits en IgA ou en sous-classes d'IgG ne constitue pas un argument contre le rôle protecteur des anticorps (Engström et coll., 1992; Dahlen et coll., 1993; Kirstila et coll., 1994). En effet, le déficit immunitaire est incomplet chez ces patients, la réponse locale n'a pas souvent été étudiée et des mécanismes immuns compensateurs peuvent intervenir. Par contre, il a été observé que les sujets ayant les taux d'anticorps les plus élevés, notamment d'isotype IgA (Grbic et coll., 1995), développaient des formes moins graves de PJG et de PPR (Gunsolley et coll., 1987), et que la sévérité des gingivites expérimentales chez l'homme était inversement corrélée au taux des anticorps (Danielsen et coll., 1993). Ces observations sont très en faveur d'un rôle protecteur des anticorps. En effet, leur taux devrait augmenter avec la stimulation antigénique bactérienne, et diminuer après guérison, comme cela a été confirmé par l'analyse de l'évolution des anticorps après traitement chirurgical (Chen et coll., 1991; Johnson et coll., 1993; Ebersole et coll., 1985).

### **Modes d'action des anticorps**

D'importantes limitations théoriques ont été apportées au rôle protecteur local des anticorps du fluide gingival (McArthur et coll., 1993). La présence du complément sérique suggère que des complexes immuns locaux (Johannesen et coll., 1983) et des auto-anticorps anti-collagène (Sugawara et coll., 1992; Anusaksathien et coll., 1992) et anti-desmosomes (Govze

et coll., 1993) aggravent les lésions locales par activation de la voie « classique » anticorps-dépendante. Cependant la plupart des anticorps sont des IgG<sub>2</sub>, qui activent très mal le complément, alors que les germes parodontaux peuvent activer directement la cascade complémentaire par la voie « alterne » sans intervention d'anticorps spécifiques (Horiba et coll., 1992). L'existence de protéases libérées par les bactéries et par les polynucléaires a été démontrée à la fois *in vivo* (Gregory et coll., 1992) et *in vitro* (Jansen et coll., 1994). Il ne semble pas cependant que ce phénomène soit suffisant pour dégrader une proportion significative d'immunoglobulines puisque le taux des anticorps locaux est au contraire supérieur à celui du sérum (Ebersole et Cappelli, 1994; Reinhardt et coll., 1989). L'objection majeure tenait à la sous-classe IgG<sub>2</sub>, faible activateur des polynucléaires (Lopatin et coll., 1992). En fait, des expériences réalisées sur des IgG totales ont démontré que les anticorps sériques anti-*Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Underwood et coll., 1993) ou anti-*Porphyromonas gingivalis* (Wilton et coll., 1993) augmentaient l'opsonisation de ces bactéries. De plus, des études sur des IgG<sub>2</sub> anti-*A. actinomycetemcomitans* purifiées ont montré qu'elles peuvent augmenter spécifiquement la phagocytose et la lyse de la bactérie avec la même activité que les IgG<sub>1</sub> (Wilson et coll., 1995a et b).

Des tests *in vitro* ont été mis au point pour démontrer le rôle protecteur des anticorps contre la lyse osseuse accompagnant les parodontites. Des cultures osseuses de voûte crânienne murine ont été incubées avec des extraits membranaires de *P. gingivalis* ou *A. actinomycetemcomitans* en présence d'anticorps humains. Une action protectrice anti-ostéoclasique a été observée avec des anticorps anti-*P. gingivalis* et, dans une moindre mesure, avec des anti-*A. actinomycetemcomitans* (Meghji et coll., 1993). De même chez le rat, des anticorps anti-fimbrilline de *P. gingivalis* (Evans et coll., 1992a et b) ainsi que des anticorps anti-*A. actinomycetemcomitans* (Eastcott et coll., 1994) ont permis de protéger les animaux contre la lyse osseuse orale induite par ces bactéries.

## Spécificité des anticorps et vaccins

Le but d'un vaccin est de protéger contre la maladie et non pas d'empêcher totalement la colonisation par l'agent pathogène. Il paraît en effet irréaliste d'éliminer de façon durable des germes tels que *P. gingivalis*, qui font partie de la flore endogène de la bouche et qui induisent très précocement des anticorps spécifiques, comme l'ont montré récemment Sixou et coll. (1995). Des études se sont multipliées pour identifier les anticorps de spécificités véritablement protectrices dans l'optique d'un vaccin. En effet, la réponse spontanée est insuffisante et, comme l'ont montré des immunisations anti-*Porphyromonas gingivalis* et anti-*Prevotella*

*intermedia*, certains anticorps peuvent même avoir des effets délétères (Ebersole et coll., 1991). Le plus grand nombre d'études antigéniques concernent des protéines de *P. gingivalis* situées sur les fimbrias (Evans et coll., 1992a et b; Ogawa, 1994) ou à la surface cellulaire (Ogawa et coll., 1992, 1994a et b; Kokeguchi et coll., 1994; Oshikiri et coll., 1994) et des protéases (Cridland et coll., 1994). Des protections ont été obtenues dans différents modèles animaux. Le modèle du rat semble particulièrement intéressant pour la sélection et la caractérisation des antigènes vaccinaux (Eastcott et coll., 1994; Evans et coll., 1992a et b), tandis que pour les essais précédant l'emploi chez l'homme, l'utilisation du singe cynomolgus *Macaca fascicularis* (Ebersole et coll., 1990; Persson et coll., 1994a et b; Blanchard et coll., 1991; Giardino et coll., 1996) est d'autant plus appropriée que cette espèce développe des parodontites spontanées dues aux germes humains (Giardino et coll., 1996; Persson et coll., 1994a et b).

## Conclusions

D'importants progrès ont été réalisés durant ces dernières années sur la nature de la réponse anticorps contre les agents des parodontopathies chez l'homme. Ces progrès ont porté sur la comparaison entre les anticorps locaux et les anticorps sériques et sur leur rôle protecteur, notamment celui de la sous-classe IgG<sub>2</sub>. L'intérêt actuel porte de plus en plus sur l'étude de la spécificité de ces anticorps au niveau moléculaire, avec la recherche de protéines vaccinales. Ces travaux sont rendus possibles par l'utilisation de modèles animaux, notamment de macaque dont les atteintes spontanées sont superposables à celles de l'homme.

## Le problème des vaccinations anti-parodontites

### But et mécanismes de la vaccination

Le but d'une vaccination n'est pas d'éradiquer un micro-organisme mais de prévenir une maladie. Les études les plus récentes ont démontré que les vaccinations les plus efficaces n'empêchaient pas un certain degré d'invasion chez des sujets ne présentant pourtant aucun symptôme. En dehors des vaccinations anti-toxines, le mécanisme intime de la prévention est en grande partie inconnu. Nous savons qu'il implique des anticorps et des lymphocytes T, mais la part de chacun de ces mécanismes

n'est pas toujours déterminée. Cependant, l'efficacité individuelle de la vaccination est généralement estimée par le taux des anticorps sériques dirigés contre l'antigène vaccinal. Ces anticorps peuvent être eux-mêmes les agents protecteurs, mais ils peuvent être également en simple corrélation positive avec l'agent protecteur réel.

La mise au point d'un vaccin et son indication sont guidées par les connaissances scientifiques actuelles, même si elles sont souvent fragmentaires. En effet, l'insuffisance de ces connaissances ne doit pas constituer un frein à la recherche vaccinale car de nombreux vaccins efficaces ont été mis au point d'après des hypothèses qui n'ont pas été ultérieurement, entièrement confirmées. En ce qui concerne les parodontopathies, l'état actuel de nos connaissances semble suffisant pour servir de guide à l'établissement d'une stratégie de recherche vaccinale.

## Vaccination locale ou vaccination générale ?

Le parodonte est une structure située à la limite entre le milieu extérieur et le milieu intérieur. Les germes à l'origine des parodontites sont apportés par la salive, tandis que les éléments protecteurs proviennent du sang ou sont synthétisés localement. La salive contient des anticorps d'un type particulier, les immunoglobulines A sécrétoires (S-IgA), dont l'activité a été utilisée pour la vaccination anti-poliomyélitique par voie buccale. Ce type de vaccination a l'intérêt d'une grande facilité d'administration ; en revanche, il présente une grande difficulté de mise au point car le système immunitaire sécrétoire nécessite des antigènes vivants (virus ou bactéries) capables d'une colonisation locale durable qui est malaisée à induire et non dénuée de risques infectieux. Les S-IgA n'atteignent pas (ou peu) le sulcus gingivo-dentaire qui est baigné par le fluide gingival provenant en grande partie du plasma. Les anticorps gingivaux sont essentiellement des immunoglobulines G (IgG) dont la sous-classe majoritaire est l'IgG<sub>2</sub> pour les anticorps anti-bactéries parodontales. Une partie de ces anticorps est synthétisée dans le parodonte ce qui explique pourquoi leur taux est plus élevé que dans le plasma. Les anticorps sériques sont en effet moins abondants que les anticorps locaux, mais ce sont également des IgG<sub>2</sub>, sous-classe qui active peu le complément (donc peu inflammatoire) et qui semble dans ce cas précis favoriser la phagocytose par les polynucléaires. Dans l'état actuel de nos connaissances, il semble que la vaccination par voie parentérale avec des germes tués, ou mieux des protéines purifiées, soit la meilleure piste pour une recherche préliminaire. En effet, les vaccinations de ce type induisent des taux élevés d'anticorps de haute affinité. Cependant, les autres voies, telles que les lavages buccaux avec des vaccins tués et la voie orale avec des vaccins vivants, peuvent également stimuler simultanément le système immunitaire « systémique » qui produit les anticorps sériques.

## Avec quel antigène vacciner ?

Selon le type de vaccination envisagé, systémique ou sécrétoire, la forme de l'agent immunisant et l'adjuvant utilisé seront différents. La vaccination systémique peut être réalisée par voie intramusculaire en utilisant des protéines de surface impliquées dans la pathogénicité du germe. Plusieurs molécules provenant d'agents différents peuvent être théoriquement incorporées dans un même vaccin avec un adjuvant classique. Le choix de chaque molécule est orienté par les données épidémiologiques, bactériologiques et expérimentales. L'épidémiologie et la bactériologie renseignent sur les espèces microbiennes et les sous-types les plus pathogènes et les plus fréquents. L'expérimentation animale, comportant une étape de *screening* chez le rat puis des essais sur le singe *cynomolgus*, renseigne sur la molécule (éventuellement sur les épitopes) induisant les anticorps les plus protecteurs et les mieux corrélés avec les résultats cliniques.

La vaccination sécrétoire nécessite des molécules purifiées incorporées dans des polymères ou des liposomes, ou bien des germes vivants ou des molécules d'ADN. Dans le premier cas, l'adjonction de la chaîne B et d'une petite quantité de chaîne A de la toxine cholérique semble indispensable comme adjuvant et des rappels annuels seront sans doute nécessaires. Dans le second cas, se pose le problème du vecteur : germe atténué ou recombinant. Les agents des parodontopathies étant eux-mêmes peu pathogènes, il semble difficile d'affirmer avec certitude l'innocuité totale d'un variant vaccinal et d'exclure la possibilité d'apparition de révertants pathogènes. En ce qui concerne les germes recombinants, qui peuvent en même temps contenir non seulement des protéines de plusieurs origines, mais aussi l'adjuvant cholérique, de nombreux travaux sont actuellement en cours pour établir quels agents, viraux (canari pox, adénovirus, poliovirus) ou bactériens (salmonelles, shigelles, BCG), sont les meilleurs vecteurs pour l'immunité muqueuse. La voie d'administration de ces vaccins serait buccale ou nasale. Par ailleurs l'utilisation d'ADN codant pour les molécules vaccinales comporte des risques théoriques auto-immuns et cancéreux, et n'a pas d'effet anamnétique.

## Pourquoi vacciner ?

Cette question résume le point-clé du problème. La vaccination est un acte préventif qui doit être sans risque puisqu'il s'agit d'un acte réalisé sur un sujet sain et surtout sur un enfant sain. Jusqu'à présent, la mise au point de vaccins ne s'est adressée qu'à la prévention de maladies presque toujours mortelles (variole, rage, tétanos, sida), très souvent mortelles (diphtérie, typhoïde, fièvre jaune, choléra, tuberculose, hépatite B), invalidantes (poliomyélites), ou très fréquentes et parfois sévères (coqueluche, rubéole,



oreillons, rougeole). Fréquence et sévérité de la maladie sont donc les deux indications d'une vaccination auxquelles s'ajoutent des critères nouveaux, de type économique (sous réserve bien sûr d'innocuité et d'efficacité). Ils seront probablement pris en compte dans les indications futures d'une éventuelle vaccination anti-ulcéreuse. Si le développement des maladies parodontales se poursuit, leur coût fonctionnel humain total (désagrément individuel multiplié par le nombre de personnes atteintes) et leur coût financier pourraient constituer une indication à la vaccination de masse par un produit sans danger.

## Conclusions

Les connaissances sur l'immunité parodontale sont encore incomplètes, mais elles sont cependant suffisantes pour établir une stratégie pour la mise au point d'un vaccin. L'indication de cette vaccination peut ne pas sembler justifiée pour le moment, mais la progression de l'incidence des parodontites, malgré l'amélioration générale de l'hygiène buccale, fait redouter que ces maladies ne deviennent le problème de l'ensemble de la population, justifiant ainsi l'indication d'une vaccination de tous les enfants. La mise au point de ce vaccin nécessitant un temps assez long, il semble indispensable que les recherches correspondantes puissent être rapidement développées.

## Intérêt de la vaccination dans les thérapeutiques préventives

La vaccination est presque exclusivement utilisée à ce jour comme moyen de prévention de maladies infectieuses transmissibles mortelles ou invalidantes. Le développement des connaissances du système immunitaire et de la possibilité de le manipuler laisse cependant envisager que la vaccination puisse être utilisée à des fins thérapeutiques, pour stimuler des réponses immunitaires appropriées (immunité anti-tumorale) ou, au contraire, pour inhiber le développement de réponses immunitaires exacerbées ou indésirées (maladie auto-immunes ou allergiques).

## Vaccins contre les maladies infectieuses

Il existe un certain nombre de recommandations pour l'établissement d'un vaccin contre les maladies infectieuses.

- l'agent infectieux doit être isolé et identifié,
- le mécanisme de l'effet pathogène doit être connu,
- le concept d'immunité protectrice contre la maladie doit être prouvé,
- le vaccin doit contenir les antigènes appropriés et des adjuvants capables d'induire une immunité à long terme,
- le vaccin ne doit pas présenter d'effets secondaires.

La vaccination anti-infectieuse est destinée à munir l'individu d'une mémoire immunologique vis-à-vis du pathogène avant que celui-ci entre en contact avec l'hôte. Cela permet de « gagner du temps » au moment de l'infection, puisque les cellules immunes spécifiques du pathogène sont déjà présentes chez le sujet vacciné et que le temps nécessaire à leur réactivation par le pathogène (réponse secondaire) et à l'induction d'une immunité protectrice sera très court comparé au temps nécessaire pour l'immunisation lors d'une primo-infection. L'avantage de la vaccination est, de plus, de limiter les effets pathogènes de l'infection (lésions tissulaires, complications diverses). Il apparaît donc clair que pour vacciner efficacement, il faut savoir quel type de réponses immunitaires (humorale ou cellulaire ou les deux) est capable de neutraliser l'agent infectieux (immunité humorale) et, le cas échéant, assurer la destruction de cellules infectées (immunité cellulaire).

## Types de réponses immunitaires

Avant d'aborder la question de l'approche vaccinale dans la prévention des maladies parodontales, il est nécessaire de donner un aperçu des modalités de fonctionnement du système immunitaire.

L'induction d'une immunité humorale médiée par les lymphocytes B dirigée contre des antigènes protéiques requiert l'activation de lymphocytes T auxiliaires CD4<sup>+</sup> de type Th2 (producteurs d'IL-4, IL-5, IL-6, IL-10). L'activation de ces cellules T CD4<sup>+</sup> spécifiques d'antigène se fait par reconnaissance d'une forme dégradée peptidique de l'antigène présentée par les molécules de classe-II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) des cellules présentatrices d'antigène (APC) de type macrophage. L'induction d'une immunité cellulaire médiée par des lymphocytes T comporte l'activation d'autres cellules T CD4<sup>+</sup> classe-II restreintes, de type Th1, impliquées comme cellules effectrices de réponses d'hypersensibilité retardée (HSR) et aussi comme cellules régulatrices (productrices IL-2, IFN- $\gamma$ ) nécessaires pour l'augmentation de la réponse cytotoxique (CTL) médiée par les cellules T CD8<sup>+</sup>. Les lymphocytes CD8<sup>+</sup> reconnaissent des peptides antigéniques présentés par les molécules de classe I du CMH des APC.

## Nature de l'antigène

La nature de l'antigène (exogène ou endogène) conditionne la nature de la réponse immunitaire (humorale ou cellulaire).

D'une façon générale, les antigènes exogènes (protéines, micro-organismes tués) induisent essentiellement l'activation des cellules T CD4<sup>+</sup> et suffisent, en général, pour induire une HSR et des anticorps spécifiques des réponses humorales. En effet, les antigènes exogènes sont en général internalisés par endocytose, dégradés en peptides dans les compartiments endosomaux/lysosomiaux des APC où ils se lient aux molécules de classe-II. Les complexes classe-II/peptides sont ensuite transportés à la surface cellulaire et sont reconnus par le récepteur à l'antigène de cellules T CD4<sup>+</sup> classe-II restreintes. Les antigènes endogènes, *i.e.* biosynthétisés dans la cellule (protéines du soi et protéines issues des micro-organismes se répliquant dans le cytoplasme cellulaire), sont dégradés en peptides dans le cytoplasme, puis transportés vers le réticulum endoplasmique où ils s'associent avec les molécules de classe-I en cours de biosynthèse. Les complexes classe-I/peptides sont ensuite transportés à la surface cellulaire et présentés aux cellules T CD8<sup>+</sup>/classe-I restreintes.

## Différents types de vaccins

Il existe actuellement trois types de vaccins anti-infectieux : les vaccins composés du micro-organisme intact inactivé, les vaccins composés du micro-organisme intact vivant atténué et les vaccins dits « sous-unités » composés de protéines virales purifiées.

Trois autres types de vaccins sont actuellement en cours d'expérimentation : les vaccins peptidiques, les vaccins à ARN et les vaccins à ADN.

### Micro-organismes intacts

- *Micro-organismes inactivés* (grippe, polio systémique, hépatite A, choléra). Les vaccins utilisant des micro-organismes tués induisent une bonne réponse anticorps et protègent de la maladie, sont faciles à préparer et peu coûteux. Ils ne permettent pas de générer de CTL et peuvent parfois avoir des effets toxiques. La reproductibilité est variable. Enfin, il est essentiel de s'assurer de l'absence totale de microorganismes vivants, ce qui peut être contraignant.

- *Micro-organismes vivants atténués* (polio oral, rougeole, oreillons, rubéole, tuberculose, fièvre jaune). Les vaccins utilisant des micro-organismes vivants atténués sont efficaces pour induire des réponses anticorps et cytotoxiques (CTL), et confèrent généralement une bonne protection contre la maladie. Les inconvénients liés à l'utilisation de micro-organismes

vivants, bien qu'atténués, comportent les risques liés, entre autres, à la persistance possible du micro-organisme dans des tissus hôtes (cancers, pathologies auto-immunes et dégénératives, complications). Ce type de vaccin est peu recommandé chez le nourrisson. Enfin il est plus dépendant de la chaîne du froid que les « vaccins inactivés ».

- *Vaccins sous-unités* (diphtérie, tétanos, hépatite B). Il s'agit de préparations vaccinales composées non pas du pathogène intact, mais d'une « partie du pathogène » sous forme d'une ou plusieurs protéines majeures. Ce type de vaccin permet de cibler la réponse immunitaire sur la ou les protéines d'intérêt vaccinal, et ne présente pas de risques d'effets secondaires ni de complications survenant avec la vaccination par le micro-organisme intact. Un vaccin « sous-unité » induit des anticorps protecteurs mais peut aussi induire des réponses CTL. Si les protéines vaccinales sont présentes sous forme globulaire, leur phagocytose par des cellules présentatrices d'antigènes aboutit à l'apprêtement et à la présentation de peptides par les molécules de classe-I. C'est le cas du vaccin sous-unité contre l'hépatite B, produit sous forme particulière dans la levure. Les préparations vaccinales sont conditionnées sous forme lyophilisée, ce qui assure la stabilité des protéines.

### **Vecteurs vivants recombinants**

Il s'agit de l'insertion d'un ou plusieurs gènes codant une ou des protéine(s) du pathogène d'intérêt vaccinal, dans le génome d'une bactérie ou d'un virus atténué (rendu avirulent par délétion d'une partie du génome). Ces vecteurs sont choisis pour leur efficacité à induire une forte expression du gène inséré dans les cellules hôtes. Cette approche, encore expérimentale, permet d'induire des réponses anticorps et CTL de forte intensité. Dans certains cas, les réponses peuvent être potentialisées par l'insertion de gènes codant des cytokines capables d'augmenter la réponse des cellules T auxiliaires (IL-2) et des CTL (IL-12, IFN- $\gamma$ ).

Les vecteurs d'expression viraux généralement utilisés en recherche sont le virus de la vaccine, l'adénovirus et le poliovirus. Les vecteurs d'expression bactériens sont *Salmonella typhi*, BCG et *Listeria*. Les vecteurs recombinants présentent plusieurs avantages qui semblent liés à la réplication du vecteur dans la cellule cible (permettant la présentation de l'antigène sur les voies classe I et classe II) et à l'expression d'une forte densité d'antigène :

- induction d'une immunité ciblée contre un antigène donné, voire contre un peptide immunodominant particulier,
- induction d'une mémoire immunologique,
- effet protecteur même après vaccination par voie orale (ou via d'autres muqueuses), qui dépend de la propriété invasive du vecteur qui pallie la dégradation dans le tube digestif,
- possibilité de combiner plusieurs vaccins en une seule dose vaccinale.

Les inconvénients des vecteurs recombinants sont essentiellement les risques de pathogénèse associés à la réversion vers la virulence. On ne sait pas combien de temps le vecteur persiste dans la cellule hôte, ni si la persistance du vecteur dans l'organisme (qui est semble-t-il nécessaire au développement de la mémoire immunologique) pourrait générer à terme des complications, voire des cancers. En outre, l'induction d'une réponse immune contre les antigènes du vecteur lui-même peut limiter l'efficacité d'immunisations de rappel, qui pourraient aboutir à l'élimination du vecteur avant que la réponse mémoire ait eu le temps d'être stimulée.

### **Vaccination par l'ADN nu recombinant**

Récemment, le traitement de maladies génétiques par apport des gènes déficients (thérapie génique) a ouvert une nouvelle voie dans la mise au point de nouvelles stratégies vaccinales fondées, selon un principe analogue, sur l'administration par injection transépidermique ou intramusculaire d'ADN bactérien plasmidique « nu » contenant un ou plusieurs gènes codant des protéines eucaryotes. L'ADN plasmidique recombinant est ainsi présent dans le cytoplasme cellulaire, puis transcrit dans le noyau cellulaire grâce au matériel enzymatique de la cellule hôte, mais ne possède aucune séquence codant les protéines bactériennes, ni aucune séquence d'intégration dans le génome hôte. La protéine synthétisée est exprimée dans le cytoplasme, accessible à la présentation par les molécules de classe-I et capable d'induire des CTL ainsi qu'une immunité humorale mémoire. De nombreux travaux ont montré que cette approche est efficace pour l'immunisation contre des antigènes infectieux (virus influenza, VIH) et susceptible de protéger contre la maladie. Des essais cliniques phase I et II de vaccination par l'ADN nu sont actuellement en cours chez les sujets atteints de sida. Des études sont actuellement développées pour tester l'innocuité de l'ADN vaccinal.

Les avantages de la vaccination par ADN recombinant sont :

- la genèse d'une immunité humorale et cellulaire avec une mémoire de longue durée,
- l'absence de risques de virulence causés par les vecteurs recombinants vivants,
- la possibilité de combiner plusieurs antigènes dans des vaccins multivalents contre plusieurs pathogènes,
- la diminution du nombre de vaccinations chez l'enfant, nécessaires pour conférer une protection,
- l'efficacité pour la vaccination contre des infections chroniques (hépatite, VIH).

Les inconvénients potentiels sont la possibilité d'intégration de matériel génétique dans le génome et les risques de mutagenèse chez l'hôte. Il reste aussi à préciser dans quelle mesure une expression prolongée de l'antigène dans la cellule (favorisant une immunité mémoire) pourrait aboutir à une tolérance (l'antigène serait alors considéré comme un antigène du soi) ou, au contraire, à des lésions tissulaires (liées à des réponses immunitaires persistantes).

### **La vaccination au sens pasteurien peut-elle être envisagée dans la prévention des maladies parodontales?**

La réponse implique de poser quatre questions essentielles : Les maladies parodontales sont-elles des maladies infectieuses ou des maladies inflammatoires chroniques évoluant par poussées? Le ou les pathogènes en cause sont-ils des agents transmissibles directement impliqués dans le déclenchement et la progression de la maladie? La réponse immunitaire est-elle protectrice ou plutôt génératrice des lésions? La thérapeutique la plus appropriée repose-t-elle sur la vaccination ou sur un traitement anti-inflammatoire topique?

En outre, l'indication d'une vaccination dans la prévention de maladies doit tenir compte de deux aspects :

- Un aspect médical : une immunisation peut protéger contre le développement de maladies et des lésions, de préférence (mais pas nécessairement) avec élimination du pathogène. Protection de l'individu, mais surtout de la population contre des maladies transmissibles graves et invalidantes, voire mortelles. L'efficacité vaccinale étant souvent dépendante de l'administration du pathogène vivant, une vaccination n'est pas toujours sans danger : la décision relative à l'établissement d'un nouveau vaccin doit prendre ces éléments en considération.
- Un aspect socio-économique : si le vaccin est recommandé, devra-t-il être prescrit à la population générale ou plus particulièrement à un ou des groupes d'individus « à risques ». Il est important de comparer, en outre, l'effet bénéfique de la vaccination à celui des agents pharmacologiques (anti-inflammatoires topiques) ou immunologiques (immunisation passive).

LES MALADIES PARODONTALES PEUVENT-ELLES ÊTRE CONSIDÉRÉES  
COMME DES MALADIES INFECTIEUSES?

Les données bibliographiques, largement insuffisantes, ne permettent pas d'élucider l'étiologie de la maladie. Les lésions semblent être associées à un seuil de quantité des bactéries commensales de la flore, présentes dans la plaque gingivale, mais cela n'est pas absolu et reste vrai seulement pour certains individus dits « à risque ». Par définition, il n'y a donc pas de

caractère infectieux ni contagieux, puisqu'il s'agit de symbiotes et non pas de micro-organismes étrangers au milieu buccal.

#### LES MALADIES PARODONTALES SONT-ELLES DUES À UN DYSFONCTIONNEMENT IMMUNITAIRE ?

L'analyse de la littérature ne permet pas de conclure que les maladies parodontales sont associées à une déficience partielle ou totale de l'immunité spécifique. En effet, quel que soit le type de maladie parodontale considérée, la présence d'anticorps spécifiques de plusieurs bactéries de la plaque en quantité plus élevée chez les patients signe le déclenchement d'une immunité spécifique avec contribution des lymphocytes B et des lymphocytes auxiliaires CD4<sup>+</sup>. L'analyse plus fine et qualitative des anticorps spécifiques présents dans le liquide crévicaire des patients révèle toutefois :

- une répartition en sous-classes d'IgG évoquant un rôle limité à l'opsonisation des bactéries ou l'activation de polynucléaires ;
- une plus faible avidité des anticorps (susceptibilité à se fixer sur différents épitopes antigéniques) ; dans des modèles expérimentaux animaux, cette avidité semble être augmentée par le traitement. Cependant, il n'existe pas actuellement de modèle animal satisfaisant permettant d'extrapoler les résultats de l'animal à l'homme (composition de la flore buccale et dentition de l'homme différentes de celles du rat, du chien et du singe). D'autre part, il y a peu d'arguments pour penser que la pathologie parodontale est liée à une avidité plus faible des anticorps dirigés contre les bactéries de la plaque gingivale, ou à la production de sous-classes d'IgG fonctionnellement importantes pour l'élimination et/ou la destruction de ces bactéries.

#### LA RÉPONSE IMMUNITAIRE INDUITE AU COURS DES PARODONTOPATHIES EST-ELLE PROTECTRICE OU PATHOGÈNE ?

Dans les parodontopathies, la réponse immune contre les bactéries comporte, outre l'immunité humorale, une immunité cellulaire (macrophages, cellules T CD4<sup>+</sup>, etc.) également impliquée dans la réponse inflammatoire, via la production d'une cascade de cytokines dotées d'effets pro-inflammatoires. On note la présence, dans la muqueuse gingivale, de cellules T effectrices de l'immunité cellulaire (lymphocytes CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>), de macrophages et surtout de cellules dendritiques de Langerhans (cellules sentinelles de l'immunité des muqueuses). En outre, de nombreuses cytokines pro-inflammatoires sont retrouvées dans le fluide gingival. Ces signaux d'activation cellulaire sont comparables à ceux générés au cours d'une réponse immunitaire. La présence de lymphocytes CD4<sup>+</sup>, impliqués dans l'hypersensibilité retardée, et de lymphocytes CD8<sup>+</sup>, impliqués dans la cytotoxicité et la lyse de cellules infectées, évoque la possibilité d'induction locale de lésions, peut-être par réactivité croisée entre antigènes bactériens et antigènes tissulaires, comme cela est bien connu dans de nombreux

systèmes. L'ensemble de ces analyses suggère que la réponse immunitaire serait non pas protectrice, mais plutôt destructrice dans cette affection.

#### VACCINATION OU TRAITEMENT TOPIQUE?

L'effet pathogène de la réponse immunitaire au cours des maladies parodontales semble corrélé à l'apparition d'une inflammation chronique évoluant par poussées, de façon analogue aux maladies inflammatoires chroniques du tube digestif. Cette similitude suggère la possibilité d'une réponse immune par défaut de tolérance orale, résultant de l'absence de mécanismes régulateurs d'immunité cellulaire contre des antigènes de la flore saprophyte ou d'antigènes protéiques.

Si tel est le cas, une approche vaccinale destinée à stimuler l'immunité cellulaire ne paraît pas souhaitable, et des traitements topiques anti-inflammatoires pourraient limiter la progression et la chronicité des lésions.

Toutefois, dans les cas où certaines bactéries semblent jouer un rôle important dans la pathogénie des lésions, l'immunisation passive avec des anticorps spécifiques de la bactérie en cause (par injection locale, subgingivale) pourrait réduire la charge bactérienne à des taux plus physiologiques. C'est le cas en particulier de la parodontose juvénile, où la présence de taux élevés d'*Actinobacillus actinomycetemcomitans* paraît directement corrélée à la pathogénie des lésions. Par contre, l'immunisation systémique ou même locale avec la bactérie inactivée, ou (si elles sont connues) avec les protéines impliquées dans l'attachement des bactéries à la plaque, risquerait d'induire, outre des anticorps spécifiques (en admettant que leur augmentation suffise à contrôler l'attachement des bactéries), des réponses immunes cellulaires qui, selon le raisonnement développé ci-dessus, ne feraient qu'exacerber la réaction inflammatoire et les réponses immunes pathogènes.

## Perspectives de recherche

L'état actuel des problèmes de santé publique et socio-économiques posés par les maladies parodontales ne permet pas d'envisager la vaccination comme une approche préventive des lésions parodontales. Il est possible de développer dans un avenir proche deux pistes de recherche : un axe de recherche clinique pouvant apporter des solutions thérapeutiques à court terme; un axe de recherche fondamentale visant à définir à moyen terme les mécanismes immunologiques impliqués dans les étapes précoces de présentation antigénique conduisant à la pathologie inflammatoire.

Le projet de recherche clinique repose sur l'administration d'anti-inflammatoires topiques de type ciclosporine A et de rétinoïdes (dérivés de la vitamine A), qui ont fait la preuve de leur efficacité dans le traitement d'autres maladies inflammatoires chroniques d'étiologie connue ou inconnue.



Le projet de recherche fondamentale comporte deux axes principaux : l'analyse des mécanismes impliqués dans la présentation de l'antigène aux lymphocytes T dans la muqueuse buccale, et aboutissant à une hypersensibilité retardée; l'analyse de la possibilité d'induire une tolérance orale aux bactéries de la flore buccale le plus souvent associées aux maladies parodontales.

## RÉFÉRENCES

- ANUSAKSATHIEN O, SINGH G, MATTHEWS N, DOLBY AE. Autoimmunity to collagen in adult periodontal disease : immunoglobulin classes in sera and tissue. *J Periodont Res* 1992 **27** : 55-61
- BAUMGARTNER JC, FALKLER WA JR, BERNIE RS, SUZUKI JB. Serum IgG reactive with oral anaerobic microorganisms associated with infections of endodontic origin. *Oral Microbiol Immunol* 1992 **7** : 106-110
- BLANCHARD SB, COX SE, EBERSOLE JL. Salivary IgA response to *Porphyromonas gingivalis* in the cynomolgus monkey. I. Total IgA and IgA antibody levels to *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol* 1991 **6** : 341-349
- BRANDTZAEG P. Transport models for secretory IgA and secretory IgM. *J Clin Exp Immunol* 1981 **44** : 221-232
- BROWN TA, BYRES L, GARDNER M, VAN DYKE TE. Subclass and molecular form of immunoglobulin A antibodies to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in juvenile periodontitis. *Infect Immun* 1991 **59** : 1126-1130
- CHEN C, SLOTS J. The current status and future prospects of altering the pathogenic microflora of periodontal disease. *Curr Opin Periodontol* 1993 : 71-77
- CHEN HA, JOHNSON BD, SIMS TJ, DARVEAU RP, MONCLA BJ, WHITNEY CW, ENGEL D, PAGE RC. Humoral immune response to *Porphyromonas gingivalis* before and following therapy in rapidly progressive periodontitis patients. *J Periodontol* 1991 **62** : 781-791
- DAHLEN G, BJÖRKANDER J, GAHNBERG L, SLOTS J, HANSON LA. Periodontal disease and dental caries in relation to primary IgG subclass and other humoral immunodeficiencies. *J Clin Periodontol* 1993 **20** : 7-13
- DANIELSEN B, WILTON JM, BAEUM V, JOHNSON NW, FEJERSKOV O. Serum immunoglobulin G antibodies to *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* and *Streptococcus sanguis* during experimental gingivitis in young adults. *Oral Microbiol Immunol* 1993 **8** : 154-160
- EASTCOTT JW, YAMASHITA K, TAUBMAN MA, HARADA Y, SMITH DJ. Adoptive transfer of cloned T helper cells ameliorates periodontal disease in nude rats. *Oral Microbiol Immunol* 1994 **9** : 284-289
- EBERSOLE JL, BRUNSVOLD M, STEFFENSEN B, WOOD R, HOLT S.C. Effects of immunization with *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* on progression of ligature-induced periodontitis in the nonhuman primate *Macaca fascicularis*. *Infect Immun* 1991 **59** : 3351-3359
- EBERSOLE JL, CAPPELLI D. Gingival crevicular fluid antibody to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* 1994 **9** : 335-344

- EBERSOLE JL, CAPELLI D, STEFFEN MJ. Characteristics and utilization of antibody measurements in clinical studies of periodontal disease. *J Microbiol* 1992 **63** : 1110-1116
- EBERSOLE JL, KRAIG E, BAUMAN G, SPITZNAGEL JK, KOLODRUBETZ D. Molecular approaches to leucotoxin as a virulence component in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Arch Oral Biol* 1990 **35** : 69S-78S
- EBERSOLE JL, TAUBMAN MA, SMITH DJ, HAFFAJEE AD. Effect of subgingival scaling on systemic antibody responses to oral microorganisms. *Infect Immun* 1985 **48** : 534-539
- EBERSOLE JL, TAUBMAN MA, SMITH DJ, HAMMOND BF, FREY DE. Human immune responses to oral microorganisms. II. Serum antibody responses to antigens from *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* and the correlation with localized juvenile periodontitis. *J Clin Immunol* 1983 **3** : 321-331
- ENGSTRÖM GN, ENGSTRÖM PE, HAMMARSTRÖM L, SMITH CI. Oral conditions in individuals with selective immunoglobulin A deficiency and common variable immunodeficiency. *J Periodontol* 1992 **63** : 984-989
- ENGSTRÖM PE, LARSSON A, NORHAGEN G, SMITH CIE, SÄLBERG M, HELGELAND K, HAMMARSTRÖM L. Specificity and levels of oral and systemic antibodies to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol* 1993 **20** : 746-751
- EVANS RT, KLAUSEN B, GENCO RJ. Immunization with fimbrial protein and peptide protects against *Porphyromonas gingivalis* -induced periodontal tissue destruction. *Adv Exp Med Biol* 1992a **327** : 255-261
- EVANS RT, KLAUSEN B, SOJAR HT, BEDI GS, SFINTESCU C, RAMAMURTHY NS, GOLUB LM, GENCO RJ. Immunization with *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* fimbriae protects against periodontal destruction. *Infect Immun* 1992b **60** : 2926-2935
- FARIDA R, MARSH PD, NEWMAN HN, RULE DC, IVANYI L. Serological investigation of various forms of inflammatory periodontitis. *J Periodont Res* 1986 **21** : 365-374
- FARIDA R, WILSON M, IVANYI L. Serum IgG antibodies to liposaccharides in various forms of periodontal disease in man. *Arch Oral Biol* 1986 **11** : 711-715
- FRANSEN EVG, REINHOLDT J, KJELDEN M, KILIAN M. *In vivo* cleavage of immunoglobulin A1 by immunoglobulin A1 proteases from *Prevotella* and *Campylobacter* species. *Oral Microbiol Immunol* 1995 **10** : 281-296
- GIARDINO A, EBERSOLE JL, HOLT SC. Characteristics of systemic antibody responses of nonhuman primates following active immunization with *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Bacteroides fragilis*. *Oral Microbiol Immunol* 1996 **11** : 79-87
- GOVZE Y, HERZBERG MC. Serum and gingival crevicular fluid anti-desmosomal antibodies in periodontitis. *J Periodontol* 1993 **64** : 603-608
- GRBIC JT, SINGER RE, JANS HH, CELENTI RS, LAMSTER IB. Immunoglobulin isotypes in gingival crevicular fluid : possible protective role of IgA. *J Periodontol* 1995 **66** : 55-61
- GREGORY RL, KIM DE, KINDLE JC, HOBBS LC, LLOYD DR. Immunoglobulin-degrading enzymes in localized juvenile periodontitis. *J Periodont Res* 1992 **27** : 176-183
- GUNSOLLEY JC, BURMEISTER JA, TEW JG, BEST AM, RANNEY RR. Relationship of serum antibody to attachment level patterns in young adults with juvenile periodontitis or generalized severe periodontitis. *J Periodontol* 1987 **58** : 314-320
- HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS, TAUBMAN MA, SIOSON J, SMITH DJ. Patterns of antibody response in subjects with periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1995 **10** : 129-137

- HOCHMAN N, MIZRACHI E, EHRLICH J, MORAG A, SCHLESINGER M, EVER-HADANI P, ZAKAY-RONES Z. Prevalence of viral antibodies in gingival crevicular fluid. *Microbiologica* 1994 **17** : 75-84
- HORIBA N, MAEKAWA Y, YAMAUCHI Y, ITO M, MATSUMOTO T, NAKAMURA H. Complement activation by lipopolysaccharides purified from Gram-negative bacteria isolated from infected root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodon* 1992 **74** : 648-651
- ISCAKI S, BOUVET JP. Human secretory immunoglobulin A and its role in mucosal defence. *Bulletin de l'Institut Pasteur* 1993 **91** : 203-224
- JANSEN HJ, VAN DER HOEVEN JS, VAN DEN KIEBOOM CWA, GÖERTZ JHC, CAMP PJM, BAKKEREN JAJM. Degradation of immunoglobulin G by periodontal bacteria. *Oral Microbiol Immunol* 1994 **9** : 345-351
- JOHANNESSEN AC, NILSEN R, SKAUG N. Deposits of immunoglobulins and complement factor C3 in human dental periapical inflammatory lesions. *Scand J Dent Res* 1983 **91** : 191-199
- JOHNSON V, JOHNSON BD, SIMS TJ, WHITNEY CW, MONCLA BJ, ENGEL LD, PAGE RC. Effects of treatment on antibody titer to *Porphyromonas gingivalis* in gingival crevicular fluid of patients rapidly progressive periodontitis. *J Periodontol* 1993 **64** : 559-565
- KILLAN M, MESTECKI J, RUSSELL MW. Defense mechanisms involving Fc-depending functions of immunoglobulin A and their subversion by immunoglobulin A proteases. *Microbiol Rev* 1988 **52** : 296-303
- KINANE DF, MOONEY J, MCFARLANE TW, McDONALD M. Local and systemic antibody response to putative periodontopathogens in patients with chronic periodontitis : correlation with clinical indices. *Oral Microbiol Immunol* 1993 **8** : 65-68
- KIRSTILA V, TENUOVO J, RUUSKANEN O, NIKOSKELAINEN J, IRJALA K, VIJLA P. Salivary defense factors and oral health in patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 1994 **14** : 229-236
- KOKEGUCHI S, MIYAMOTO M, OHYAMA H, HONGYO H, TAKIGAWA M, KURIHARA H, MURAYAMA Y, KATO K. Biochemical properties of the major outer membrane proteins of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbios* 1994 **77** : 247-252
- LING TY, SIMMS TJ, CHEN HA, WHITNEY CW, MONCLA BJ, ENGEL LD, PAGE RC. Titer and subclass distribution of serum IgG antibody reactive with *Actinobacillus actinomycetem-comitans* in localized juvenile periodontitis. *J Clin Immunol* 1993 **13** : 101-112
- LOPATIN DE, BLACKBURN E. Avidity and titer of immunoglobulin G subclasses to *Porphyromonas gingivalis* in adult periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 1992 **7** : 332-337
- LU H, WANG M, GUNSOLLEY JC, SCHENKEIN HA, TEW JG. Serum immunoglobulin G subclass concentrations in periodontally healthy and diseased individuals. *Infect Immun* 1994 **62** : 1677-1682
- MCARTHUR WP, BLOOM C, TAYLOR M, SMITH J, WHEELER T, MAGNUSSON NI. Antibody responses to suspected periodontal pathogens in elderly subjects with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1995 **22** : 842-849
- MCARTHUR WP, CLARK WB. Specific antibodies and their potential role in periodontal diseases. *J Periodontol* 1993 **64** : 807-818
- McDONNELL M, ASKARI F. Molecular medicine : DNA vaccines. *N Engl J Med* 1996 **134** : 42-45

- MEGHJI S, HENDERSON B, WILSON M. High titer antisera from patients with periodontal disease inhibit bacterial capsule-induced bone breakdown. *J Periodont Res* 1993 **28** : 115-121
- MOONEY J, ADONOGIANAKI E, KINANE DF. Relative avidity of serum antibodies to putative periodontogens in periodontal disease. *J Periodont Res* 1993 **28** : 444-450
- MOONEY J, KINANE DF. Humoral immune responses to *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis and rapidly progressive periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1994 **9** : 321-326
- OGAWA T. The potential protective immune responses to synthetic peptides containing conserved epitopes of *Porphyromonas gingivalis* fimbrial protein. *J Med Microbiol* 1994a **41** : 349-358
- OGAWA T. Molecular cloning and characterization of the genes encoding the immunoreactive major cell-surface proteins of *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Microbiol Lett* 1994b **120** : 23-30
- OGAWA T, KURIBAYASHI S, SHIMAUCHI H, TODA T, HAMADA S. Immunochemical and biochemical characterization of outer membrane proteins of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 1992 **60** : 4528-4533
- OSHIKIRI K, KAWAMURA I, HARA K, MITSUYAMA M. Specific immune response to the 40-kDa outer-membrane protein of *Porphyromonas gingivalis* in mice. *Arch Oral Biol* 1994 **39** : 707-713
- PERSSON GR, ENGEL D, WHITNEY C, DARVEAU R, WEINBERG A, BRUNSVOLD M, PAGE RC. Immunization against *Porphyromonas gingivalis* inhibits progression of experimental periodontitis in nonhuman primates. *Infect Immun* 1994a **62** : 1026-1031
- PERSSON GR, ENGEL LD, WHITNEY CW, WEINBERG A, MONCLA BJ, DARVEAU RP, HOUSTON L, BRAHAM P, PAGE RC. Macaca fascicularis as a model in which to assess the safety and efficacy of a vaccine for periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1994b **9** : 104-111
- RANNEY RR, YANNI NR, BURMEISTER JA, TEW JG. Relationship between attachment loss and precipitating serum antibody to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adolescents and young adults having severe periodontal destruction. *J Periodontol* 1982 **53** : 1-7
- REINHARDT RA, McDONALD TL, BOLTON RW, DUBOIS LM, KALDAHL WB. IgG subclasses in gingiva crevicular fluid from active versus stable periodontal sites. *J Periodontol* 1989 **60** : 44-50
- SAITO A, HOSAKA Y, NAKAGAWA T, SEIDA K, YAMADA S, TAKAZOE I, OKUDA K. Significance of serum antibody against surface antigens of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in patients with adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1993a **8** : 146-153
- SAITO A, HOSAKA Y, NAKAGAWA T, YAMADA S, OKUDA K. Relative avidity of serum immunoglobulin G antibody for the fimbria antigen of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in patients with adult periodontitis. *Infect Immun* 1993b **61** : 332-334
- SCHENCK K, POPPELSDORF D, DENIS C, TOLLEFSEN T. Levels of salivary IgA antibodies reactive with bacteria from dental plaque are associated with susceptibility to experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 1993 **20** : 411-417
- SCHENCK K, PORTER SR, TOLLEFSEN T, JOHANSEN JR, SCULLY C. Serum levels of antibodies against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in various forms of human periodontitis. *Acta Odontol Scand* 1989 **47** : 271-277
- SIXOU JL, BONNAURE-MALLET M, MOUTON C. Serum antibodies to *Porphyromonas gingivalis* in children. *J Periodontol* 1995 **66** : 369-376

- SMITH DJ, VAN HOUTE J, KENT R, TAUBMAN MA. Effect of antibody in gingival crevicular fluid on early colonization of exposed root surface by mutans streptococci. *Oral Microbiol Immunol* 1994 **9** : 65-69
- SUGAWARA M, YAMASHITA K, YOSHIE H, HARA K. Detection of, and anti-collagen antibody produced by CD5-positive B cells in inflamed gingival tissues. *J Periodont Res* 1992 **27** : 489-498
- SUZUKI T, SUGITA N, YOSHIE H, HARA K. Presence of activated eosinophils, high IgE and sCD23 titers in gingival crevicular fluid of patients with adult periodontitis. *J Periodont Res* 1995 **30** : 159-166
- UNDERWOOD K, SJÖSTRÖM K, DARVEAU R, LAMONT R, SCHENKEIN H, GUNSOLLEY J, PAGE R, ENGEL D. Serum antibody opsonic activity against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *J Infect Dis* 1993 **168** : 1436-1443
- WHITNEY C, ANT J, MONCLA B, JOHNSON B, PAGE R, ENGEL D. Serum immunoglobulin G antibody to *Porphyromonas gingivalis* in rapidly progressive periodontitis : titer, avidity, and subclass distribution. *Infect Immun* 1992 **60** : 2194-2200
- WILSON ME, BRONSON PM, HAMILTON RG. Immunoglobulin G2 antibodies promote neutrophil killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 1995a **63** : 1070-1075
- WILSON ME, HAMILTON RG. Immunoglobulin G subclass response of juvenile periodontitis subjects to principal outer membrane proteins of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 1995b **63** : 1062-1069
- WILSON ME, HAMILTON RG. Immunoglobulin G subclass response of localized juvenile periodontitis. *Infect Immun* 1992 **60** : 1806-1812
- WILTON JM, BAMPTON JL, HURST TJ, CAVES J, POWELL JR. Interleukin -1b and IgG subclass concentrations in gingival crevicular fluid from patients with adult periodontitis. *Arch Oral Biol* 1993 **38** : 55-60
- WILTON JMA, HURST TJ, STERNE JAC. Elevated opsonic activity for *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* in serum from patients with a history of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1993 **20** : 563-569
- ZAFIROPOULOS GG, FLORES-DE-JACOBY L, HUNGERE KD, NISENGARD RJ. Humoral antibodies in periodontal disease. *J Periodontol* 1992 **63** : 80-86