

HELSINGIN YLIOPISTO

Kariesrokotteen kehityspolku ja tulevaisuudennäkymät

Suu- ja leukasairauksien osasto
Syventävä tutkielma

Laatija:
Nina Iivonen

Ohjaajat:
Dos., LT, EL, EHL Hannamari Välimaa
Professori, HLT, EHL Leo Tjäderhane

30.4.2025
Helsinki

Tiedekunta: Lääketieteellinen tiedekunta

Koulutusohjelma: Hammaslääketieteen koulutusohjelma

Opintosuunta: Hammaslääketieteen lisensiaatti

Tekijä: Nina Iivonen

Työn nimi: Kariesrokotteen kehityspolku ja tulevaisuudennäkymät

Työn laji: Syventävä tutkielma

Kuukausi ja vuosi: huhtikuu 2025

Sivumäärä: 30

Avainsanat: Anti-caries vaccine, *Streptococcus mutans*, caries prevention, vaccine adjuvant, mucosal immunization

Ohjaaja tai ohjaajat: Hannamari Välimaa & Leo Tjäderhane

Säilytyspaikka: HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto

Tiivistelmä:

Karies on maailmanlaajuinen ja monitekijäinen hampaan kovakudoksen sairaus, jonka hoitaminen aiheuttaa merkittävän osan suun terveydenhuollon kustannuksista. Se on biofilmivälitteinen tartuntatauti, jossa merkittävä patogeeni on *Streptococcus mutans* -bakteeri. Kariesta pystytään ennaltaehkäisemään tehokkaasti hyvällä omahoidolla sekä terveellisillä ruoka- ja juomatottumuksilla. Siitä huolimatta karies on pitkään ollut ja on edelleen maailmanlaajuinen terveysongelma.

Tämän syventävän tutkielman tavoitteena oli selvittää kariesrokotteen kehitysvaiheita viimeisten vuosikymmenien ajalta ja selvittää, millaisia haasteita kariesrokotteen kehittämisessä on ilmentynyt. Tutkimus toteutettiin systemaattisena kirjallisuuskatsauksena englanninkielisistä vertaisarvioituista kansainvälisistä lääketieteellisistä julkaisuista.

Kariesrokotetta on kehitetty jo yli 40 vuoden ajan. Tutkimusta on tehty paljon *in vitro* ja eläinmalleilla, ja niistä on saatu lupaavia tuloksia. Tutkimukset ovat keskittyneet paljolti erilaisten rokotteeksi soveltuvien taudinaiheuttajakomponenttien tunnistamiseen ja testaamiseen, potentiaalisten rokotteiden tehon parantamiseen erilaisten tehosteainesten eli adjuvanttien avulla sekä eri immunisaatioreittien tutkimiseen. Lupaavista tuloksista huolimatta markkinoille ei ole vielä saatu toimivaa kariesrokotetta. Ihmiskokeita kariesrokotteilla on tehty verrattain vähän.

Kariesrokotteen avulla pystyttäisiin merkittävästi tehostamaan kariksen ennaltaehkäisyä, koska sen antama suoja ei ole ihmisen omasta toiminnasta ja motivaatiosta riippuvainen. Mahdollisesta rokotteesta huolimatta ennaltaehkäisevä terveysneuvonta ja kariukseen liittyvä tietoisuuden lisääminen olisi edelleen merkittävässä roolissa kariksen ennaltaehkäisyssä, koska tehokkaimmin kariesta ehkäistään juuri hyvällä omahoidolla sekä terveellisillä ruoka- ja juomatottumuksilla.

Sisällysluettelo

1	Johdanto	1
2	Tutkimuksen tausta	3
2.1	Karies	3
2.1.1	Etiologia	3
2.1.2	Esiintyvyys	3
2.1.3	Ennaltaehkäisy	3
2.1.4	Hoito	4
2.2	Rokottaminen	5
2.2.1	Rokottaminen preventiivisenä menetelmänä	5
2.2.2	Rokotteiden koostumus	7
3	Tutkimuksen tavoitteet	10
4	Aineisto ja menetelmät	11
5	Tulokset	12
5.1	<i>Streptococcus mutans</i> taudinaiheuttajakomponenttina	12
5.2	Pintaproteiinien hyödyntäminen antigeenina	12
5.3	DNA-rokotteet	14
5.4	Adjuvantit	15
5.5	Ihmiskokeet	19
5.6	Muut lähestymistavat kariesrokotteen kehittämisessä	20
6	Pohdinta	23
	Lähteet	26

1 Johdanto

Karies on monitekijäinen hampaan kovakudoksen sairaus, joka koskettaa suurta osaa maailman väestöstä iästä, sukupuolesta ja sosioekonomisesta asemasta riippumatta. Sen taustalla ovat asidogeeniset eli happoa tuottavat bakteerit, joista aiheuttajana yleisin ja tutkituin on *Streptococcus mutans*. Karies aiheuttaa hampaan kovakudoksen rakenteen heikkenemistä, ja voi hoitamattomana johtaa pulpan eli hampaan ytimen tulehtumiseen. Pitkälle edenneenä karies voi vaatia hampaan poistamista. (1) Karies on mikrobien aiheuttama infektiosairaus, jolle ei ole vielä löydetty parannuskeinoa. Kariuksen hoitaminen potilaan itsensä tai suunhoidon ammattilaisen toimesta ei siis poista itse sairautta, vaan hoitokeinot ovat kariuksen aiheuttamien oireiden hoitamista. Hoitokeinot jaetaan pysäytyshoitoon ja korjaavaan hoitoon. Pysäytys-hoidossa pyritään kariuksen etenemisen hidastamiseen tai pysäyttämiseen potilaan omahoitoa tukemalla tai suunhoidon ammattilaisen suorittamilla toimilla, joita ovat muassa resiini-infiltraatio ja hopeadiamiinifluoridikäsittely. Korjaavassa hoidossa karioitunut hammaskudos poistetaan ja hammas paikataan. Jos kariespotilaan toiminta esimerkiksi ravitsemus- ja omahoitotottumusten suhteen ei hoitotoimien jälkeen muutu, ilmaantuu paikan viereen tai muualle hampaistoon yleensä uusi karieslesio. Kariuksen korjaava hoito aiheuttaaakin merkittävän osan suun terveydenhuollon kustannuksista (2).

Kariesta pystytään ennaltaehkäisemään tehokkaasti hyvällä omahoidolla ja terveellisillä ravitsemustottumuksilla. Omahoidossa keskeisintä on hampaiden oikeaoppinen harjaus, hammasvälien puhdistus ja fluoria sisältävän hammastahnan käyttö. Kariesta aiheuttavat bakteerit tuottavat happoja ihmisen ravinnon sisältämistä helposti fermentoituvista hiilihydraateista. Terveellisten ravitsemustottumusten osalta tärkeintä onkin säännöllinen ateriaritmi, sekä fermentoituvia sokereita sisältävien ruokien ja juomien mahdollisimman vähäinen käyttö. (1)

Ennaltaehkäisyyn yksinkertaisuudesta huolimatta karies on globaali ongelma. Ihmiset eivät usein miellä suun sairauksia oman yleisterveytensä kannalta kovinkaan merkityksellisiksi. Tämän seurauksena ihmisten oma, kariesta ennaltaehkäisevä toiminta ei ole ollut riittävän tehokasta kariuksen eliminoimiseksi. Kuten monia

mutakin tartuntatauteja, myös kariesta voitaisiin mahdollisesti ennaltaehkäistä rokotteen avulla. Tehokkaalla rokotteella pystyttäisiin vähentämään yksilön oman toiminnan painoarvoa kariksen ennaltaehkäisyssä. Näin ollen suun terveydenhuollon resursseja pystyttäisiin ohjaamaan paremmin suun terveyden edistämiseen ja preventiiviseen toimintaan kariksen hoitamisen sijaan.

Kariesrokotetta on kehitetty jo useiden vuosikymmenien ajan. Myös jo kehitettyjä kariesrokotteita on tutkittu paljon. Tämä syventävä tutkielma toteutettiin systemaattisena kirjallisuuskatsauksena. Katsaukseen valikoitui 19 julkaisua, joilla pyrittiin kuvaamaan mahdollisimman monipuolisesti erilaisia menetelmiä ja lähestymistapoja kariesrokotteen kehityspolulla eri vuosikymmeninä.

2 Tutkimuksen tausta

2.1 Karies

2.1.1 Etiologia

Karies on biofilmivälitteinen hampaan kovakudoksen sairaus. Sen taustalla on yleisimmin *Streptococcus mutans* -bakteerin (*S. mutans*) aiheuttama tartunta. Muita kariekseen yhdistettyjä bakteerikantoja ovat muut *mutans* -streptokokit kuten *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*), *non-mutans*-streptokokit sekä tietyt *Lactobacillus*- ja *Actinomyces* -lajit. Edellä mainitut bakteerit ovat asidogeenisiä eli niillä on kyky tuottaa happoja. Nämä hapot liuottavat hampaan pinnalta mineraaleja heikentäen näin hampaan kovakudoksen rakennetta. Kyseiset bakteerit ovat myös asiduurisia eli ne sietävät itse hyvin happamia olosuhteita. Karies on vahvasti elintapariippuvainen sairaus, sillä kariekseen yhdistetyt bakteerit tuottavat happoja yksilön ravinnosta peräisin olevista helposti fermentoituvista hiilihydraateista. (1)

2.1.2 Esiintyvyys

Karies on maailmanlaajuisesti yksi yleisimmistä tartuntataudeista. Sitä esiintyy laajasti kaikissa väestöryhmissä sosioekonomisesta asemasta ja iästä riippumatta. Kariestartunnan voi saada jo lapsena, ja se voi alkaa oirehtia heti ensimmäisen hampaan puhjettua. Lapset saavatkin tartunnan yleensä omilta vanhemmiltaan, kun vanhempi laittaa esimerkiksi saman lusikan ensin omaan ja sitten lapsensa suuhun, tai nuolaisee puhtaaksi lattialle pudonneen tutin. (1)

Terveys 2000- ja 2011-tutkimuksissa noin 30 prosentilla yli 30-vuotiaista oli vähintään yksi paikkaushoitoa vaativa kariesvaurio. Suomalaistutkimuksissa on kuitenkin havaittu, että suurin paikkaushoidontarve kasaantuu vain pienelle osalle väestöstä. (1)

2.1.3 Ennaltaehkäisy

Karies on ennaltaehkäistävissä hyvällä omahoidolla ja terveellisillä ravitsemustottumuksilla. Kuitenkin yksilölliset erot esimerkiksi suun ja hampaiston anatomian, syljen koostumuksen ja erityksen osalta sekä yksilön motoriikan tai kognition osalta voivat luoda haasteita laadukkaaseen omahoidon toteuttamiseen.

Hyvään omahoitoon kuuluvat hampaiden harjaaminen kahdesti päivässä fluoria sisältävällä hammastahnalla, sekä hammasvälien puhdistus kerran päivässä asianmukaista puhdistusvälinettä, kuten hammasväliharjaa, -tikkua tai hammaslankaa, käyttäen. Elintapojen osalta yksilön ravitsemustottumukset ovat keskeisessä roolissa. Hampaat kestävät noin viisi happohyökkäystä päivässä, joten säännöllisellä ateriaritmillä ja aterioiden välisen napostelun välttämällä hampaita voi suojata liialliselta happoaltistukselta. Helposti fermentoituvia hiilihydraatteja sisältävien tai happamien ruokien ja juomien runsasta ja säännöllistä käyttöä tulisi rajoittaa. Käytettäessä niiden nauttiminen olisi hyvä ajoittaa ruokailujen yhteyteen. Vesi on janojuomana hampaille turvallinen vaihtoehto. (1)

Vastaanotolla tehtäviä suun terveydenhuollon ammattilaisen suorittamia kariuksen ennaltaehkäisytoimia ovat muun muassa terveysneuvonta, omahoidon ohjaus, hampaiston puhdistus, fluorikäsittelyt ja erityisesti vastapuhjenneiden pysyvien poskihampaiden pinnoittaminen. Nämä eivät kuitenkaan yksinään riitä kariuksen ehkäisemiseen, jos potilaan omahoito- ja ravitsemustottumukset ovat puutteellisia. (1)

Vaikka karies olisi helposti ehkäistävässä laadukkaan omahoidon keinoin, on jatkuvasti kehitteillä myös lukuisia uusia keinoja kariuksen ennaltaehkäisyyn. Näitä ovat kariesrokotteen lisäksi muun muassa puolukkasuuuhuhde, probiootit ja antimikrobiset peptidit. Puolukkasuuuhuhteen teho kariuksen ennaltaehkäisyssä perustuu siihen, että se hillitsee *S. mutansin* kasvua (3). Probioottien osalta taas vaikutuksen ajatellaan syntyvän probioottien antimikrobisesta vaikutuksesta kariogeenisiä bakteereja vastaan (4). Spesifisesti kohdistetuilla antimikrobisilla peptideillä on saatu lupaavia tuloksia niiden eliminaatiotehosta spesifisesti *S. mutansia* vastaan vaikuttamatta haitallisesti suun muihin mikrobeihin (5).

2.1.4 Hoito

Kariuksen hoito voidaan jakaa pysäytyshoitoon ja korjaavaan hoitoon. Pysäytyshoito voi olla joko potilaan itse tai suun terveydenhuollon ammattilaisen suorittamaa. Potilaan itse tekemään pysäytyshoitoon kuuluu suun omahoidon tehostaminen, lisäfluoridin käyttö sekä ruokailutottumusten muuttaminen. Suun terveydenhuollon ammattilaisen suorittama pysäytyshoito sisältää potilaalle annettavan

terveysneuvonnan ja omahoidon ohjauksen, paikalliset fluorikäsittelyt, hampaan pinnoittamisen ja resiini-infiltraatiot. (1)

Korjaava hoito tarkoittaa sitä, että hammaslääkäri poistaa karioituneen hammaskudoksen ja menetetty kudos korvataan esimerkiksi yhdistelmämuovilla tai keraamisilla hammastäytteillä. Korjaavan hoidon myötä menetetään aina hammaskudosta, mikä heikentää hampaan pitkäaikaisennustetta. Hammastäytteet eivät myöskään kestä ikuisesti, minkä vuoksi täytettä joudutaan usein uusimaan tai korjaamaan henkilön elinaikana jopa useita kertoja. (2)

Hampaiden korjaava hoito aiheuttaa merkittäviä kustannuksia niin yksilölle kuin yhteiskunnalle. Merkittävä osa suun terveydenhuollon resursseista kuluu hampaiden korjaavaan hoitoon. (2) Tehokkaammalla kariuksen ennaltaehkäisyllä pystyttäisiin ohjaamaan näitä resursseja kohdennetummin suun terveyden edistämiseen.

2.2 Rokottaminen

2.2.1 Rokottaminen preventiivisenä menetelmänä

Ihmisen puolustusjärjestelmä perustuu luonnolliseen ja hankittuun immunitettiin. Elimistöön pyrkiessään taudinaiheuttajat kohtaavat ensimmäisenä luonnollisen eli synnynnäisen immunitetin mekanismeja. Tärkein luonnollisen puolustuksen osa on terve iho ja terveet limakalvot, jotka suojaavat elimistöä mekaanisesti taudinaiheuttajilta. Mekaanisen suojan lisäksi luonnolliseen puolustukseen kuuluvat liukoiset puolustustekijät, kuten limakalvoilla esiintyvät lysotsyymi ja laktoferriini, ja kudoksissa olevat osatekijät, joista keskeisiä ovat syöjäsolut eli fagosyytit. Liukoisten molekyylien tehtävänä on houkutella paikalle valkosoluja sekä aktivoida ja kohdentaa niiden toimintaa. Kudoksissa luonnollisen immunitetin osatekijät tunnistavat patogeeneja erilaisten hahmontunnistusreseptorien avulla, minkä seurauksena käynnistyy tulehdus- tai puolustusreaktio. Luonnollinen immunitetti ei kehity valikoivaksi, vaan toimii samalla tavalla myös kohdatessaan saman taudinaiheuttajan uudestaan. Hankittu immunitetti taas kehittyy spesifisesti tiettyä taudinaiheuttajaa vastaan. Sen toiminta on vasta-aine- ja soluvälitteistä. (6)

Kun elimistö kohtaa uuden taudinaiheuttajan, syntyy hankitun immuunivasteen soluissa primaarivaste, jossa muodostuu spesifisiä T- ja B-lymfosyyttejä kyseistä taudinaiheuttajaa vastaan. B-lymfosyytit tuottavat vasta-aineita, jotka ovat spesifisiä

kyseiselle taudinaiheuttajalle. Vasta-aineiden tehtävänä on muun muassa auttaa puolustusjärjestelmän soluja tunnistamaan taudinaiheuttajia, heikentää taudinaiheuttajien kykyä infektoida elimistön soluja sekä neutraloida taudinaiheuttajien tuottamia toksineja. (6) T-lymfosyyteistä tärkeimpiä ovat CD4+ -solut, jotka ohjaavat muiden puolustussolujen, kuten B-lymfosyyttien toimintaa, ja CD8+ -solut, jotka tuhoavat spesifisesti taudinaiheuttajan infektoimia soluja. Primaarivasteen jälkeen elimistöön jää antigeenispesifisiä T- ja B-lymfosyyttejä muistisoluiksi. Kun puolustusjärjestelmä kohtaa saman taudinaiheuttajan uudelleen, on elimistössä jo valmiiksi kyseiselle taudinaiheuttajalle spesifisiä lymfosyyttejä muistisoluina, jotka aktivoivat nopeasti spesifisen puolustusvasteen. Tätä kutsutaan sekundaarivasteeksi. Hankitun immunitetin tärkein ominaisuus onkin immunologisen muistin kehittyminen. (6, 7)

Rokottamisessa käytetään hyödyksi elimistön hankittua immunitettia. Rokotettaessa elimistöön viedään heikennettyä taudinaiheuttajaa tai sen osaa, jolloin aktivoidaan elimistön puolustusjärjestelmä ilman, että ihminen sairastuu kyseiseen tautiin. Rokottaminen saa aikaan hankitun immunitetin primaarivasteen. Kun ihminen myöhemmin altistuu kyseiselle taudinaiheuttajalle, käynnistyy sekundaarivaste, jolloin ihminen ei nopeasti aktivoituvan spesifin puolustusreaktion ansiosta sairastu kyseiseen tautiin tai saa vain lieviä oireita. Rokottaminen on aktiivista immunisaatiota, koska siinä valjastetaan elimistön omat solut tuottamaan puolustussoluja ja vasta-aineita taudinaiheuttajaa vastaan. Sillä saadaan aikaan pitkäaikainen suoja, joka voi rokotteesta riippuen kestää kuukausia tai jopa koko ihmisen eliniän. (6, 7)

Rokottamalla saatavaan immuunivasteen voimakkuuteen ja keston vaikuttavat muun muassa rokotteen koostumus, rokoteannokset, antoreitti ja ihmisistä johtuvat yksilölliset tekijät. Rokotteen koostumuksen osalta on olennaista, missä muodossa rokotteen taudinaiheuttajakomponentti on ja millaisia tehoste- ja apuaineita rokotteessa on käytetty. Esimerkiksi elävät heikennetyt taudinaiheuttajat aktivoivat immuunijärjestelmää tehokkaammin kuin taudinaiheuttajien pinta-antigeenit. Rokoteannosten osalta taas annosten lukumäärä ja antotiheys vaikuttavat immunitetin syntyyn. Osa rokotteista antaa riittävän suojan jo yhdellä annoksella, kun toisilla tarvitaan useita annoksia vastaavan tehon saavuttamiseen. Rokotteiden

tehosteannoksilla varmistetaan immunitetin säilyminen, koska saavutettu immunitetti hiipuu vähitellen. (6)

Rokotteita voidaan antaa useita eri antoreittejä käyttäen. Yleisimmin käytössä olevat antoreitit ovat lihakseen annettava injektio, nenäsumute tai suun kautta annettava rokote. Rokotteen antotavalla voi olla vaikutusta siihen, millaisia vasta-aineita muodostuu ja missä ne ilmentyvät. Esimerkiksi limakalvoilla immuunivaste voi jäädä riittämättömäksi, vaikka systeeminen vaste saataisiin riittävälle tasolle. (6)

Immuunivasteen muodostumiseen vaikuttavia yksilöllisiä tekijöitä ovat muun muassa ikä, perintötekijät sekä yksilön terveys- ja ravitsemustilanne. Esimerkiksi pienillä lapsilla immuunijärjestelmä ei ole vielä kypsynyt, kun taas ikääntyneillä immuunipuolustuksen toiminta alkaa heikkenemään. Tietyt sairaudet ja esimerkiksi raskaus taas voivat aiheuttaa yksilölle immuunipuutostilan, jossa immuunijärjestelmä on heikentynyt tai ei toimi oikein, jolloin esimerkiksi eläviä taudinaiheuttajia sisältäviä rokotteita ei voida käyttää. (6)

Aktiivisen immunisaation lisäksi ihmiselle voidaan antaa myös valmiita spesifisiä vasta-aineita taudinaiheuttajia tai niiden toksineja vastaan. Tätä menetelmää kutsutaan passiiviseksi immunisaatioksi. Passiivisella immunisaatiolla saadaan aikaan välitön suoja, ja sitä käytetäänkin yleensä silloin, kun yksilö on jo altistunut kyseiselle taudinaiheuttajalle. Vasta-aineilla aikaansaatu suoja on lyhytaikainen, koska vasta-aineet tuhoutuvat elimistössä vähitellen, eivätkä ne saa aikaan immunologisen muistin muodostumista. Myös äidistä lapsen istukan ja rintamaidon välityksellä siirtyvät vasta-aineet ovat passiivista immunisaatiota. (6)

Rokottaminen on yhteiskunnallisesti kustannustehokas tapa suojata väestöä tartuntataudeilta. Rokotusten avulla pystytään välttämään yksilöiden sairaalahoidon tarve, kun ihmiset eivät sairastu tai sairastavat taudit lievinä. Rokotetut ihmiset eivät myöskään levitä tautia, jolloin riittävällä rokotuskattavuudella saadaan aikaan niin kutsuttu laumasuoja. Laumasuoja suojaa myös niitä henkilöitä, joita ei voida esimerkiksi terveydellisistä syistä rokottaa. (6)

2.2.2 Rokotteiden koostumus

Rokotteet koostuvat taudinaiheuttajakomponentista sekä erilaisista säilöntä-, tehoste- ja apuaineista. Taudinaiheuttajakomponentit voivat olla kokonaisia

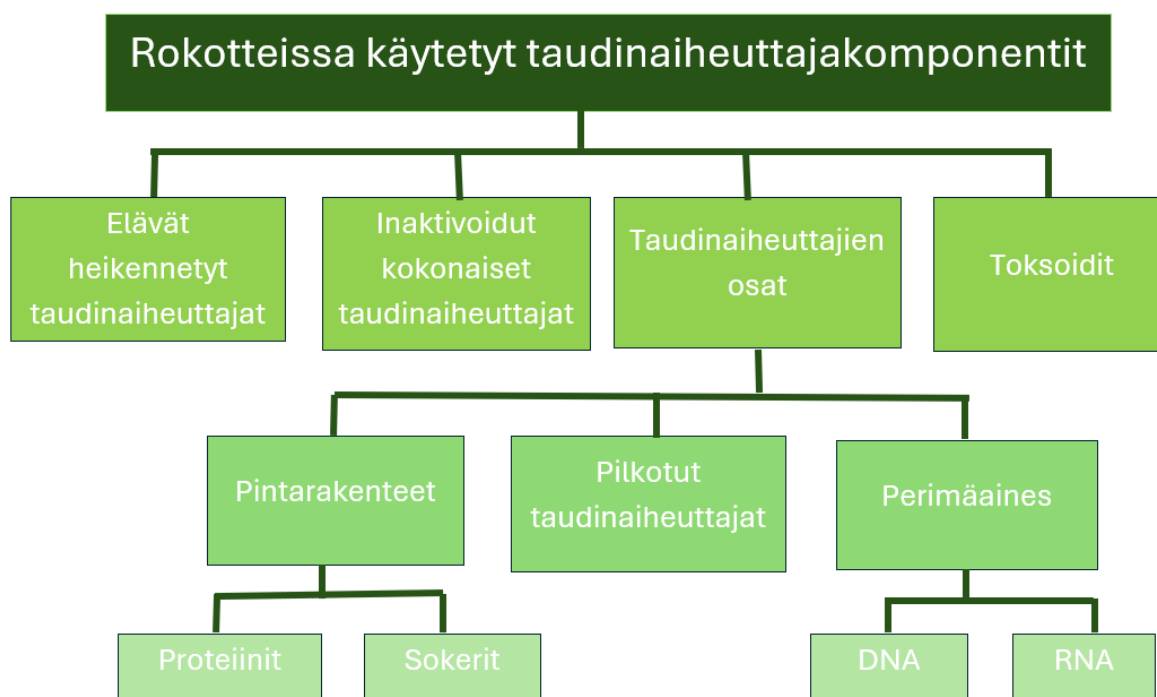
taudinaiheuttajia, niiden osia tai taudinaiheuttajan tuottamia toksoideja eli vaarattomaksi muokattuja taudinaiheuttajien tuottamia toksiineja. (6, 7) Rokotteissa käytetyt taudinaiheuttajakomponentit on koottu kuvaan 1.

Kokonaiset taudinaiheuttajat voivat olla eläviä ja heikennettyjä tai inaktivoituja. Eläviä heikennettyjä taudinaiheuttajia sisältävillä rokotteilla on paras immunogeenisuus, eli kyky saada aikaan immunologinen vaste, koska ne pystyvät lisääntymään rokotetun soluissa, ja tuottamaan näin ollen runsaasti antigeneja. Tämä mahdollistaa voimakkaan vasta-ainevasteen ja soluvälitteisen immunitetin vasteen syntymisen. Eläviä heikennettyjä taudinaiheuttajia sisältävien rokotteiden käyttöä kuitenkin rajoittaa se, ettei niitä voi antaa immuunipuutteisille, koska ne voivat aiheuttaa rokotetussa henkilössä infektion. Inaktivoituja taudinaiheuttajia sisältäviä rokotteita voidaan antaa kaikille turvallisesti, koska ne eivät voi aiheuttaa tautia. Taudinaiheuttajien osia sisältävissä rokotteissa käytetään esimerkiksi pilkottuja taudinaiheuttajia tai taudinaiheuttajien pintarakenteita, kuten proteiini- tai sokerirakenteita. Pintarakenteiden immunogeenisuus on kokonaisia taudinaiheuttajia heikompi, minkä vuoksi riittävän immuunivasteen saavuttamiseksi tarvitaan adjuvantti ja useita rokoteannoksia. Taudinaiheuttajia tai niiden osia sisältävien rokotteiden teho perustuu siihen, että rokotteesta saatavat antigeenit aktivoivat puolustusjärjestelmän soluja. (6, 7)

Uudempi lähestymistapa rokotteiden kehittämisessä on nukleiinihappojen hyödyntäminen. Taudinaiheuttajien pintarakenteiden geneettinen koodi voidaan siirtää rokotettavan yksilön soluihin, jolloin solut alkavat itse tuottaa haluttua antigeenia, joka taas aktivoi puolustusjärjestelmän soluja. Geneettinen koodi voidaan siirtää DNA- tai lähetti-RNA-molekyylinä (mRNA). Vektorina eli kantajaviruksena voivat toimia esimerkiksi vaarattomiksi tehdyt virukset, joilla on kyky tunkeutua tehokkaasti ihmisen soluihin, joissa DNA luetaan ensin mRNA:ksi, josta edelleen muodostuu itse rokoteantigeeni. mRNA-rokotteita voidaan viedä elimistöön nanolipipartikkeleihin pakattuina. Tällöin elimistön omat solut transloivat ilman transkriptiovaihetta suoraan rokote-mRNA:sta taudinaiheuttajan antigeneja, jotka aktivoivat immuunivasteen. (6)

Tehosteaineet eli adjuvantit parantavat rokotteiden tehoa muun muassa tehostamalla elimistön immuunivastetta aiheuttamalla paikallisen tulehdusreaktion ja aktivoimalla puolustusjärjestelmän soluja. Ne myös helpottavat

taudinaiheuttajakomponenttien pääsyä solujen sisään, ja ohjaavat niitä haluttuihin kudoksiin. Adjuvanttien avulla taudinaiheuttajakomponenttia ei tarvita rokotteessa niin paljon, koska adjuvantit parantavat vasta-aineiden sitoutumista ja toisaalta myös hidastavat taudinaiheuttajakomponenttien hajoamista elimistössä. Tyypillisiä adjuvantteja ovat esimerkiksi erilaiset alumiiniyhdisteet ja kantajaproteiinit. (6)



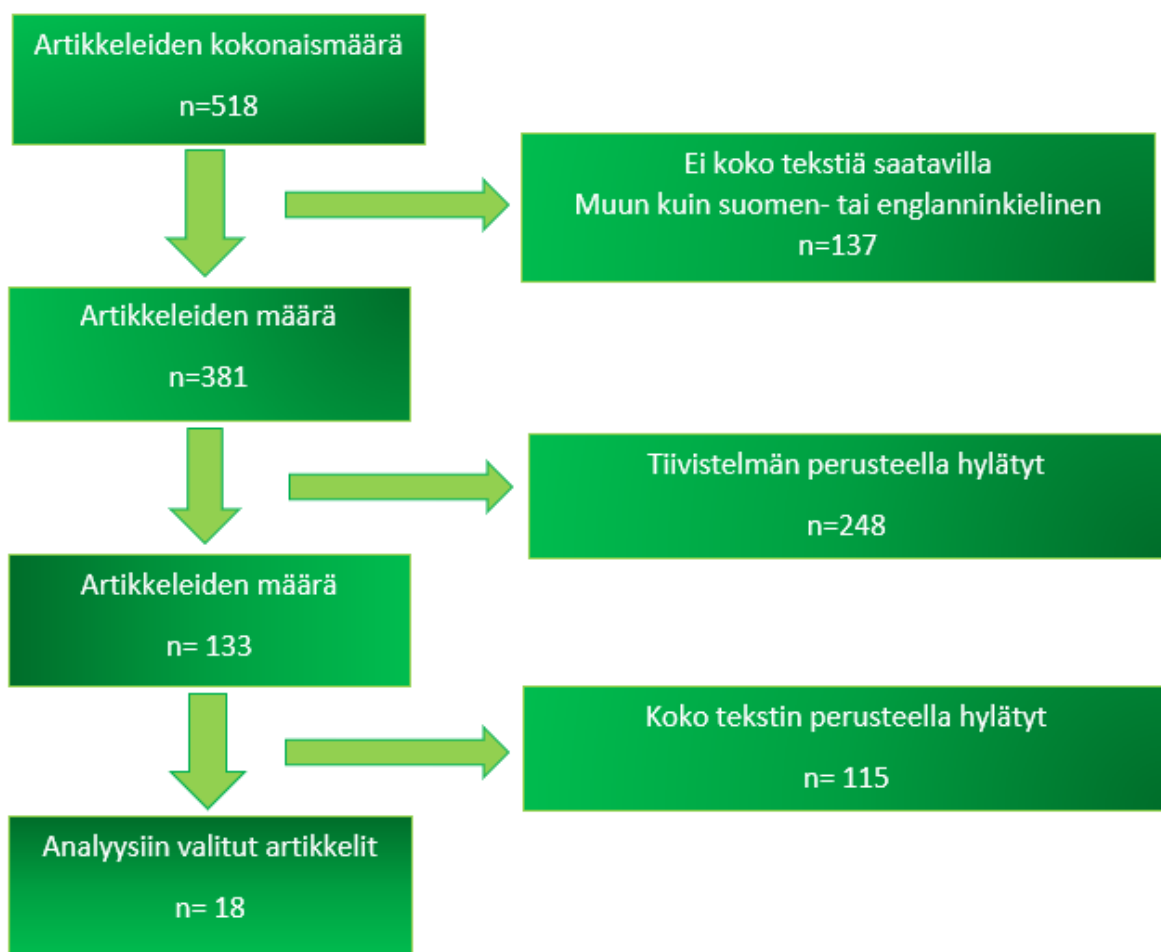
Kuva 1. Rokotteissa käytetyt taudinaiheuttajakomponentit. (6)

3 Tutkimuksen tavoitteet

Tämän tutkimuksen tavoitteena on selvittää, miten aktiiviseen immunisaatioon perustuvan kariesrokotteen kehittäminen on edennyt viimeisten vuosikymmenien aikana, ja minkälaisia rokotteista on kehitteillä. Samalla tarkastellaan, mitä kaikkea rokotteen kehittämisen suhteen on yritetty, ja mitä haasteita kehitystyössä on ilmentynyt. Passiiviseen immunisaatioon perustuva karieksen ehkäisy on rajattu tutkimuksesta pois. Tutkimuksen tarkoituksena on lisätä tietoisuutta karieksesta sairautena ja luoda katsaus rokotteen roolista karieksen ennaltaehkäisyyn tulevaisuudennäkymiin.

4 Aineisto ja menetelmät

Tutkielma toteutettiin systemaattisena kirjallisuuskatsauksena. Aineisto kerättiin PubMed -kirjastosta käyttämällä hakusanoja "caries" AND "vaccin*". Aineistohaku suoritettiin marraskuussa 2023. Tämän ajankohdan jälkeisiä julkaisuja ei ole huomioitu analyysissä. Artikkeleiden valintakriteerit olivat seuraavat: 1) artikkeli on suomen- tai englanninkielinen lääketieteellinen julkaisu, 2) koko teksti on saatavilla, 3) artikkeli on vertaisarvioitu ja 4) artikkeli käsittelee kariesrokotteen kehittämistä. Alla aineistohaun vuokaavio kuvassa 2.



Kuva 2. Aineistohaun vuokaavio

5 Tulokset

Tulokset -osion loppuun on koottu taulukkoon 1 tiivistetysti tutkimuksissa käytetyt taudinaiheuttajakomponentit, koe-eläimet, antoreitit ja adjuvantit. Tutkimukset on esitetty laajemmin alla aihealueittain tutkimusten lähestymistapojen mukaisesti jaoteltuina.

5.1 *Streptococcus mutans* taudinaiheuttajakomponenttina

Taubman ja Smith ovat eräitä pisimpään kariesrokotteen kehittämisesä mukana olleita tutkijoita. Vuonna 1974 he julkaisivat tutkimuksen, jonka tavoitteena oli stimuloida *S. mutansille* spesifisten syljen IgA-vasta-aineiden erittymistä injektoimalla kokonaisista tapetuista *S. mutans* -bakteereista valmistettua rokotetta ihonalaisesti rottien suurten sylkirauhasten läheisyyteen. Adjuvanttina he käyttivät Freundin adjuvanttia. Samalla he tutkivat immunisaation vaikutusta kariksen esiintymiseen rottien hampaistossa. He jakoivat tutkittavat rotat neljään ryhmään, jotka olivat I: non-immunisoidut ja non-infektoidut, II: non-immunisoidut ja infektoidut, III: valeimmunisoidut ja infektoidut, IV: immunisoidut ja infektoidut. Immunisaatio lisäsi syljen *S. mutansille* spesifisiä IgA-vasta-ainepitoisuuksia, mutta seerumin vasta-ainetasoihin ei immunisaatiolla saatu tuotettua riittävää muutosta. Myös valeimmunisoiduilla rotilla sekä syljen että seerumin spesifeissä vasta-ainetasoissa huomattiin lievää nousua, minkä tutkijat ajattelivat selittyvän käytetyn adjuvantin vaikutuksesta limakalvon läpäisevyyteen ja herkistymiseen käytetylle antigeenille. Kariesta oli merkitsevästi vähemmän immunisoidussa ryhmässä verrattuna muihin ryhmiin. (8)

5.2 Pintaproteiinien hyödyntäminen antigeenina

S. mutansin patogeenisuuden on ajateltu aiheutuvan sen kyvystä kiinnittyä hampaan pintaan erilaisten pintaproteiinien avulla. Lehner tutkimusryhmineen oli aiemmissa tutkimuksissaan selvittänyt ja puhdistanut kolme *S. mutansin* antigeenia, jotka olivat indusoineet suojan kariesta vastaan apinoilla tehdyillä tutkimuksilla. PAc-pintaproteiini, toisilta nimiltään antigeeni I/II, antigeeni B tai antigeeni P1, oli ollut rokoteantigeenina yhtä tehokas kuin kokonaisista inaktivoituista *S. mutanseista* valmistettu rokote. Adjuvanttina he käyttivät Freundin adjuvanttia ja alumiinihydroksidia. (9)

Vuonna 1981 julkaistussa tutkimuksessa Lehner tutkimusryhmineen tutki löytämiensä antigeenien kariekselta suojaavia ominaisuuksia apinoilla muun muassa selvittämällä muodostuvien vasta-aineiden luokkaa ja spesifisyyttä sekä syljessä että seerumissa. Lisäksi he selvittivät muutoksia *S. mutansin* kyvyssä kolonisoitua hampaan pinnalle. Kokeessa apinat immunisoidiin yhdestä kolmeen kertaan lihaksensisäisesti joko kokonaisilla tapetuilla *S. mutanseilla* tai antigeeneilla I, II, I/II tai III. Tulokset osoittivat, että immunisoiduilla apinoilla oli vähemmän *S. mutansia* kolonisoituneena hampaiden pinnoille kuin valeimmunisoiduilla apinoilla. Immunisoiduista ryhmistä koko soluilla immunisoiduilla apinoilla oli havaittavissa vähiten *S. mutansia*. Antigeenilla III immunisoiduilla apinoilla immunisaatiovaikutus oli lähes olematon. Seerumin antigeenispesifisen IgG -vasta-ainetuotannon tehostumisen osalta lupaavimmat tulokset saatiin antigeenilla I/II, ja vastaavaa IgA-vasta-ainetuotantoa kiihdytti eniten antigeeni I. Seerumin IgA-vasta-ainetasot olivat IgG-tasoa matalammat. Kokeessa ei saatu lainkaan aikaan syljen antigeenispesifistä IgA-vasta-ainetasojen nousua. Kliinisesti ja röntgenologisesti tarkasteltuna antigeeni II vähensi kariesta eniten hampaiden okklusaalipinnan fissuuroissa, kun taas muut vaikuttivat tehokkaammin hampaiden vapailla pinnoilla. Antigeeni III ei vähentänyt kariksen ilmaantumista ollenkaan. (9)

Muita paljon tutkittuja pintaproteiineja kariesrokotteen kehityksen osalta ovat olleet *S. sobrinuksen* pintaproteiini SpaA (10), *S. mutansin* ja *S. sobrinuksen* glukosyyli transferaasit (GTF) sekä *S. mutansin* glukaania sitovat proteiinit (GbpB). Glukosyyli transferaasit jaetaan glukoosia sitovaan osaan (GLU) ja katalyyttiseen osaan (CAT). Niiden on osoitettu olevan merkittäviä rakenteita *S. mutansin* ja *S. sobrinuksen* patogeenisuuden osalta bakteerin kiinnittymisessä hampaan pintaan. Glukaania sitovat proteiinit taas ovat osoittautuneet poikkeuksellisen immunogeenisiksi. (11)

Smith tutkimusryhmineen on keskittynyt tutkimuksissaan *S. mutansin* ja *S. sobrinuksen* glukosyyli transferaaseihin ja *S. mutansin* glukaania sitoviin proteiineihin. Rokotteiden immunogeenisuuden parantamiseksi he ovat etsineet peptidejä, jotka toimivat antigeenina T-lymfosyyteille. Tutkimusryhmä oli aiemmissa tutkimuksissaan osoittanut, että immunisointi diepitooppisella peptidillä antaa paremman suojan *S. sobrinusta* vastaan verrattuna immunisointiin monoepitooppisella peptidillä. Tutkimuksissaan he ovat käyttäneet GLU- ja CAT-

domeeneja glukosyyli transferaaseista. Adjuvanttina he ovat käyttäneet Freundin adjuvanttia. Tavoitteena oli tehostaa rokotteen aikaansaamaa immuunivastetta lisäämällä T-soluepitooppi (SYI) peptidikonstruktuihin, jotta rokote suojaisi sekä *S. mutansin* että *S. sobrinuksen* aiheuttamaa kariesta vastaan. Tutkimus toteutettiin rottakokeena, jossa rotat immunisoitiin ihonalaisesti suurten sylkirauhasten läheisyyteen. Tuloksena SYI-CAT yhdistelmä nosti parhaiten seerumin antigeenispesifisiä IgG- ja IgA-vasteita, ja laajensi rokotteen suojaamaan sekä *S. mutansin* että *S. sobrinuksen* aiheuttamaa kariesta vastaan. Syljen antigeenispesifisiin IgA-tasoihin SYI-CAT ei juurikaan vaikuttanut kummankaan bakteerin osalta. (11)

Vuonna 2022 de Souza Pereira tutkimusryhmineen selvitti uuden antigeenin, *S. mutansin* GlnH-proteiinin, toimivuutta kariksen vastaisena rokotteenä. GlnH-proteiini on *S. mutansin* ABC-kuljettajaproteiinin substraattia sitova komponentti, jolla on merkittävä rooli bakteerien aineenvaihdunnassa. Limakalvoadjuvanttina he käyttivät *E. colin* lämpölabiilia toksiinia LTK63. Tutkimus toteutettiin hiirikokeena, jossa hiiret immunisoitiin sublinguaalisesti. Tuloksena uusi rokote nosti merkittävästi seerumin antigeenispesifisiä IgG-tasoja. Rokote myös vähensi *S. mutansin* kolonisaatiota hampaan pinnalle, vaikka syljen antigeenispesifiset IgA-tasot eivät immunisaation myötä juurikaan nousseet. (12)

5.3 DNA-rokotteet

Viimeisen 20 vuoden aikana kariesrokotteiden kehityksen keskiössä ovat olleet DNA-rokotteet. Niiden toiminta perustuu siihen, että rokotteen taudinaiheuttajakomponenttina toimii pätkä DNA:ta, joka koodaa haluttua taudinaiheuttajan pintarakennetta. DNA:n asettuessa rokotetun soluihin, rokotetun solut alkavat tuottaa itse kyseistä pintarakennetta. Tällöin elimistö alkaa tuottaa vasta-aineita haluttua rakennetta vastaan ilman, että yksilöä tarvitsee altistaa taudinaiheuttajalle. DNA-rokotteet toimivat hyvin myös niissä tilanteissa, joissa halutaan suojata yksilö useita virulenssitekijöitä vastaan. (13)

DNA-rokotteiden kehittäminen kariksen osalta on perustunut pääasiassa siihen, että tutkimusryhmät ovat lisänneet aiemmin kehitettyihin DNA-rokotteisiin uusia geenejä parantaakseen rokotteen immunogeenisuutta. Esimerkiksi Niu tutkimusryhmineen

oli rakentanut fuusio-DNA-rokotteen, pGJA-P/VAX, joka sisälsi *S. mutansin* GTF:a koodaavan gtfB-geenin GLU-fragmentin ja antigeenia I/II koodaavan pac-geenin A-P-fragmentin. Tällä rokotteella oli onnistuttu vähentämään *S. mutansin* aiheuttaman kariuksen määrää, mutta sillä ei juurikaan ollut vaikutusta *S. sobrinuksen* aiheuttaman kariuksen ilmentymiseen. Vuoden 2009 tutkimuksessaan he lisäsivät edelliseen rokotteeseensa *S. sobrinuksen* GTF:a koodaavan gtfI-geenin CAT-fragmentin luoden pGJGAC/VAX-rokotteen. He tutkivat rokotteen kykyä immunisoida limakalvojen systemaattista ja humoraalista vastetta hiirillä, sekä rokotteen antamaa kariuksen vastaista suojaa rotilla. Immunisaatioreitteinä toimivat lihaksensisäinen ja intranasaalinen annostelu. Tuloksena sekä seerumin IgG- että syljen IgA -vasta-ainevasteet *S. mutansin* pintaproteiineille GLU ja antigeenille I/II olivat samat sekä uudessa että vanhassa rokotteessa. Vasta-ainevasteet *S. sobrinuksen* CAT-proteiinille olivat kuitenkin korkeammat uudella rokotteella immunisoiduilla hiirillä. Uudella rokotteella immunisoiduilla rotilla oli myös merkitsevästi vähemmän dentiinikariesta. Kiillekariuksen osalta rokotteen tehossa ei ollut eroa. Immunisaatioreitti ei vaikuttanut syljen IgA-vasta-ainetasoihin kummankaan antigeenin osalta. (13)

5.4 Adjuvantit

Lupaavien tulosten myötä *S. mutansin* antigeeni I/II on ollut useiden tutkimusryhmien kohteena kariesrokotteen kehittämiseksi. Antigeeni I/II ei kuitenkaan sellaisenaan ole saanut aikaan riittävää immuunivastetta, joten rokotteen tehon parantamiseksi on testattu erilaisia adjuvantteja. Myös erilaiset rokotteen antoreitit ovat olleet suosittuja tutkimuskohteita.

Saito tutkimusryhmineen lisäsi *S. mutansin* antigeenia I/II sisältävään rokotteeseen adjuvantiksi koleratoksiinin vuonna 2001. Koleratoksiinia oli aiemmissa limakalvorokotteita tutkivissa eläinkokeissa käytetty menestyksekkäästi limakalvoadjuvanttina. Sen ongelmana kariesrokotteen osalta on kuitenkin se, että se ei sellaisenaan sovellu adjuvantiksi ihmisten rokotteeseen toksiinin aiheuttamien kliinisten oireiden vuoksi. Tutkimusryhmä muokkasi koleratoksiinia niin, että se ei aiheuttaisi kliinisiä oireita. Tutkimus suoritettiin hiirillä, jotka rokotettiin intranasaalisesti. Rokote sai aikaan antigeenille spesifisen IgA-vasta-ainetuotannon hiirten syljessä. Lisäksi se esti *S. mutansien* kolonisaatiota hampaiden pinnalle. (14)

Myös Batista, Bi ja Yu tutkimusryhmineen testasi adjuvantin vaikutusta *S. mutansin* antigeenia I/II sisältävään rokotteeseen (15-17). Batista tutkimusryhmineen julkaisi vuonna 2017 tutkimuksen, jossa he lisäsivät adjuvantiksi *E. colin* labiilin toksisiin LTK4R. Lisäksi he tutkivat sublinguaalisen antotavan vaikutusta rokotteen immunisaatiokykyyn. Tutkimus suoritettiin hiirimallin avulla. LTK4R-adjuvantti lisäsi muodostuneiden vasta-aineiden spesifisyyttä rokotteen antigeenille. Rokote myös esti *S. mutansin* kolonisoitumista hampaan pinnalle valeimmunisoituihin hiiriin verrattuna. Sublinguaalinen antotapa antoi lupaavia tuloksia kariesrokotteen antoreittinä. (15)

Bi käytti tutkimusryhmineen kitosaanipohjaisia adjuvantteja. Kitosaanin on havaittu toimivan hyvänä adjuvanttina ihmisrokotteissa, koska se on helposti muokattavissa, biohajoava ja myrkytön. Tutkimusryhmän vuonna 2019 julkaisemassa tutkimuksessa adjuvantteina toimivat kitosaani-Pam3CSK4 sekä kitosaanin ja monofosforyylilipidi A:n yhdistelmä kitosaani-MPL. Tutkimus suoritettiin hiirikokeena, jossa hiiret immunisoitiin limakalvonalaisesti posken limakalvolle. Tuloksena antigeenille spesifiset syljen IgA- ja seerumin IgG-vasta-ainetasot olivat korkeammat adjuvantteja sisältävällä kuin pelkästään antigeenia sisältävällä rokotteella. Erot adjuvanttien tehojen välillä olivat merkityksettömät. Adjuvanttia sisältävillä rokotteilla immunisoiduilla hiirillä oli myös vähemmän *S. mutansin* aiheuttamaa kariesta verrokkiryhmään verrattuna. (16)

Lin tutkimusryhmän tavoitteena oli vuonna 2016 julkaistussa tutkimuksessa rakentaa uusi DNA-rokote pVAX1-plasmidin ja *S. mutansin* antigeenia III koodaavan geenin, wapA, yhdistelmästä. Lisäksi he testasivat kitosaanista johdettua trimetyylikitosaania (CSTM) adjuvanttina, sekä antotavan vaikutusta rokotteen tehoon rottamallilla. Tulokset osoittivat, että adjuvantti paransi sekä antigeenispesifisiä seerumin IgG- että syljen IgA-vasta-ainetasoja, ja vähensi kariksen esiintyvyyttä verrattuna paljaaseen plasmidiin. Intranasaalinen antoreitti tuotti myös tehokkaamman immuunivasteen lihaksensisäiseen antoreittiin verrattuna. Kyseisellä tutkimusryhmällä on kehitteillä uusi kuljetusjärjestelmä, TAT-proteiinitransduktiodomeeni, joka on soluihin tunkeutuva HIV:stä johdettu peptidi. Tämä peptidi on vaikuttanut potentiaaliselta adjuvantilta kariesrokotteen kehittämiseksi. (18)

Yun tutkimusryhmän tavoitteena oli kehittää uusi nanopartikkeleihin perustuva adjuvantti kariesrokotteelle. Nanopartikkelien käyttö adjuvantteina perustuu siihen, että niiden avulla antigeeni saadaan pakattua pienempään kokoon ja kulkeutumaan paremmin soluun. Yu tutkimusryhmineen julkaisi vuonna 2023 tutkimuksen, jossa he käyttivät adjuvanttina zeoliitti-imidatsolaatti-8-nanopartikkeliä. Tällä uudella ZIF-8@Pac-rokotteella he immunisoivat hiiriä intranasalisesti. Immunisaatio uutta adjuvanttia sisältävällä rokotteella sai aikaan voimakkaamman immuunivasteen verrattuna kontrollirokotteisiin. Uusi rokote muun muassa tehosti antigeenia esittelevien dendriittisolujen toimintaa, lisäsi CDT4+ -solujen määrää, nosti *S. mutansin* Pac-spesifisiä seerumin IgG- ja syljen IgA-vasta-ainetasoja sekä suojasi rottien hampaita kariotumiselta. Adjuvantti vaikutti myös lupaavalta turvallisuutensa suhteen, sillä se ei aiheuttanut kudoksessa voimakkaita vastareaktioita. (17)

Xu tutkimusryhmineen lisäsi vuonna 2005 julkaistussa tutkimuksessaan aiemmin kehittämänsä *S. mutansin* GLU-peptidiä ja antigeenia I/II koodaavaan DNA-rokotteeseensa, pGLUA-P, adjuvantiksi sytotoksisen T-lymfosyytin antigeenia CTLA4 koodaavan geenin, luoden uuden DNA-rokotteen pGJA-P. Heidän tavoitteenaan oli kohdentaa rokotteen kulkeutumista antigeenia esitteleville soluille ja tutkia lisäyksen vaikutusta immuunivasteen tehoon alkuperäiseen rokotteeseen verrattuna. Tutkimus toteutettiin rottakokeena, ja rotat immunisoitiin lihaksensisäistä ja intranasaalista antoreittiä käyttäen. Sekä alkuperäinen että uusi rokote sai aikaan seerumin antigeenispesifisen IgG-vasta-ainetuotannon lihaksensisäisellä annostelulla. Syljen antigeenispesifinen IgA-vasta-ainetuotanto saatiin aktivoitua ainoastaan intranasaalisella annostelulla. pGJA-P-rokote sai aikaan merkitsevästi nopeammat ja suuremmat vasta-ainevasteet niin limakalvolla kuin seerumissa, ja myös kariesleesioita esiintyi vähemmän kuin pGLUA-P-rokotteella immunisoitaessa. (19)

Shi on tutkimusryhmineen muiden tutkimusryhmien ohella osoittanut pGJA-P/VAX-DNA-rokotteen olevan lupaava vaihtoehto kariuksen ennaltaehkäisyssä. Rokotteen alhainen immunogeenisuus on kuitenkin tuottanut haasteita. Aiemmissä tutkimuksissaan Shi on tutkimusryhmineen kokeillut kitosaania ja bupivakaiinia rokotteen adjuvantteina, mutta niillä ei ole saatu riittävää hyötyä adjuvanttia sisältämättömään rokotteeseen verrattuna. Vuonna 2012 julkaistussa tutkimuksessaan he lisäsivät rokotteeseen adjuvantiksi *Salmonellasta* peräisin olevaa

flagelliiniproteiinia (FliC) koodaavan fliC-geenin, luoden pGJA-P/VAX plus FliC - DNA-rokotteen. Tutkimuksessa rotat immunisoitiin uudella rokotteella intranasalisesti. Tulokset osoittivat, että uusi rokote paransi antigeenispesifisiä seerumin IgG- ja syljen IgA-vasteita verrattuna vanhaan rokotteeseen. Uusi rokote esti myös tehokkaammin *S. mutansin* kolonisaatiota hampaan pinnalle ja antoi paremman suojan sekä kiille- että dentiinikariesta vastaan. (20)

Yang on tutkimusryhmineen rakentanut aiemmissä tutkimuksissaan *S. mutansin* antigeenia I/II koodaavan DNA-rokotteen, KF-rPac, käyttäen adjuvanttina *E. coli* flagelliinia KF. Rokote antoi rottakokeissa lupaavia tuloksia, mutta ihmiskokeita ajatellen tutkijaryhmää mietitytti flagelliinin aiheuttamat sivuvaikutukset, kuten systeeminen tulehdusvaste flagelliinille ja flagelliinin oma immunogeenisuus.

Vuonna 2017 julkaistussa tutkimuksessaan he muokkasivat flagelliinia niin, että sillä olisi mahdollisesti vähemmän sivuvaikutuksia ja rakensivat uuden DNA-rokotteen KFD2-ePac. Tutkimus toteutettiin immunisoimalla hiiriä ja rottia intranasalisesti. Tulokset osoittivat, että uuden ja vanhan rokotteen tehot vasta-aineiden tuotannossa ja kariuksen esiintymisen osalta olivat käytännössä samat. Uusi rokote indusoi kuitenkin vähemmän vasta-aineita itse adjuvantille ja aiheutti pienemmän systeemisen tulehdusvasteen, minkä vuoksi se voisi olla turvallisempi vaihtoehto alkuperäiselle rokotteelle. (21)

Redman tutkimusryhmineen oli aiemmissä tutkimuksissaan todennut *S. sobrinuksen* SpaA-antigeenin ja salmonella -kantajan yhdistelmän saavan aikaan seerumin ja syljen vasta-ainevasteen sekä suojaavan hampaita *S. sobrinuksen* aiheuttamalta kariekselta. Vuonna 1996 julkaistussa tutkimuksessa he tutkivat kahden eri elävän heikennetyn *Salmonella typhimurium* -kannan tehokkuutta rokotteen adjuvanttina. Toiseen *salmonella* -kantaan oli jätetty plasmidi ja toisesta se oli poistettu. Heidän tavoitteenaan oli tutkia rokotteen aikaansaamia seerumin ja syljen spesifisiä vasta-aineita SpaA:lle ja *salmonella* -kantajalle sekä rokotteen kykyä muodostaa suoja *S. sobrinuksen* aiheuttamaa kariesta vastaan. Tutkimus toteutettiin rottakokeena, jossa rotat immunisoitiin intragastrisesti. Tuloksena seerumin spesifiset IgG-vasta-aineet lisääntyivät paremmin immunisoiduilla kuin non-immunisoiduilla rotilla. Syljen IgA-vasteilla ei ollut eroa immunisoitujen ja non-immunisoidujen välillä. Syljen IgA-vasteet olivat paremmat plasmidin sisältävää kantajaa sisältävällä rokotteella, kun taas seerumin IgG-vasteet paremmat rokotteessa, jonka kantajalta oli poistettu

plasmidi. *S. sobrinuksen* aiheuttaman kariksen esiintymisessä plasmidia sisältävä rokote tehosi paremmin. Toisen immunisaatiokerran jälkeen seerumin vasta-aineiden pitkäaikaisvaste saavutettiin ainoastaan salmonella -kantajaa mutta ei SpaA:ta vastaan. (10)

5.5 Ihmiskokeet

Ihmiskokeita kariesrokotteen kehittämisen osalta on tehty verrattain vähän. Roa tutkimusryhmineen julkaisi vuonna 2008 tutkimuksen, jossa he selvittivät *S. mutansista* peräisin olevan antigeenin kykyä immunisoida luonnollisesti *S. mutansille* herkistyneiden ihmisten CDT4+-soluja. Antigeenina he käyttivät *S. mutansin* GTF-I(1301-1322)-peptidiä, joka on glukaania sitovan alueen osa. He jakoivat tutkittavat ihmiset kolmeen ryhmään kariesaktiivisuuden mukaan. Ryhmät olivat aktiivisen kariksen omaavat, karieshistorian omaavat mutta tutkimushetkellä terveet sekä täysin kariesvapaat. Tutkimus toteutettiin koehenkilöiden T-soluilla *in vitro*. Tuloksena CDT4+-solujen aktivaatiota tapahtui kariesaktiivisten ja täysin kariesvapaiden mutta ei juurikaan karieshistorian omaavien koehenkilöiden soluissa. Tutkijat arvelivat tuloksen johtuvan siitä, ettei sairastettu karies suojaa henkilöä pitkällä aikavälillä, ja että kariesvapailta on muodostunut tehokas vastustuskyky kariesta vastaan. (22)

Childers tutkimusryhmineen selvitti rokotteen eri limakalvoantoreittien toimivuutta ihmisillä. Tutkittavat antoreitit olivat oraallinen, intratonsillaarinen ja intranasaalinen annostelu. Intranasaalinen antotapa osoittautui tehokkaimmaksi. Vuonna 2006 he julkaisivat tutkimuksen, jossa he tutkivat aiemmissä kokeissaan immunisoitujen koehenkilöiden immuunivasteita kontrolliryhmään verrattuna. Immunisaatioon käytettiin *S. mutansista* rikastettua glukosyyli transferaasia (E-GTF) ja immunisaatioreittinä toimi intranasaalinen annostelu. Adjuvanttina he käyttivät liposomia. Sekä ensimmäisellä että toisella kerralla intranasaalisesti immunisoiduilla koehenkilöillä saatiin parhaat tulokset sekä syljen että seerumin antigeenispesifisistä IgA-vasteista. Nenähuuhteesta otettu näyte osoitti myös immunologisen muistin kehittymistä kaksinkertaisella intranasaalisella annostelulla. (23)

5.6 Muut lähestymistavat kariesrokotteen kehittämisessä

Dinis oli tutkimusryhmineen tunnistanut aiemmissa tutkimuksissaan enolaasin *S. sobrinuksen* yhdeksi virulenssitekijäksi. Enolaasi on tavallisesti glykolyysin ja glukoneogeenin entsyymi, mutta streptokokeilla se lokalisoituu solun pinnalle. Tutkimusryhmä havaitsi aiemmissa tutkimuksissaan, että *S. sobrinuksen* rekombinanttienolaasi (rEnolaasi) saa rotilla aikaan suojan *S. sobrinuksen* aiheuttamaa kariesta vastaan. Vuonna 2011 julkaistussa tutkimuksessa Dinis selvitti tutkimusryhmineen, voiko äidin immunisointi rEnolaasilla suojata jälkeläisiä *S. sobrinuksen* aiheuttamalta kariekselta, ja onko istukan kautta saatava suoja tehokkaampi imetykseltä saatuun suojaan verrattuna. Rotat immunisoitiin rEnolaasia sisältävällä rokotteella intranasaalisesti ja ihonalaisesti. Adjuvanttina rokotteessa toimi aluna. Naarasrotat immunisoitiin ennen parittelua. Syntyneet pennut jaettiin neljään eri ryhmään, jotka olivat immunisoidun naaraan synnyttämät ja imettämät, immunisoidun naaraan synnyttämät mutta valeimmunisoidun naaraan imettämät, valeimmunisoitujen naaraiden synnyttämät mutta immunisoitujen naaraiden imettämät sekä valeimmunisoidun naaraan synnyttämät ja imettämät. Kaikki jälkeläiset infektoitiin *S. sobrinuksella*. Tulokset osoittivat, että immunisoitujen naaraiden jälkeläisillä saatiin aikaan rEnolaasille spesifisten syljen IgA- ja seerumin IgG-vasta-aineiden nousu. *S. sobrinuksen* kolonisaatiota hampaiden pinnoilla oli merkitsevästi vähemmän immunisoitujen naaraiden jälkeläisillä ja etenkin niillä, joita oli myös imettänyt immunisoitu naaras. Kuitenkin myös pelkkä immunisoidun naaraan toteuttama imetys antoi suojaa valeimmunisoidun naaraan jälkeläisille verrattuna valeimmunisoidun naaraan synnyttämiin ja imettämiin jälkeläisiin. Kariksen osalta immunisoitujen naaraiden jälkeläisillä oli vähemmän kiillekariesvaurioita kuin valeimmunisoitujen naaraiden jälkeläisillä. Tulosten perusteella istukan kautta saatiin jälkeläisille parempi suoja kariesta vastaan kuin imetyksen kautta. (24)

Jia tutkimusryhmineen tutki vuonna 2020 julkaistussa tutkimuksessaan mikroRNA-estäjän vaikutusta DNA-rokotteen tehoon. Mikro-RNA:t ovat endogeenisiä, ei-koodaavia RNA-jaksoja, joiden tehtävänä on toimia soluissa transkription jälkeisinä säätelijöinä. Ne voivat esimerkiksi suppressoida geeniekspressiota inhiboimalla translaatiota. Aiemmissa tutkimuksissaan Jia tutkimusryhmineen havaitsi mikroRNA-9:llä (MiR-9) olevan paljon sitoutumiskohtia *S. mutansin* GLU-A-P -

fragmenteille, mikä voisi selittää näihin kohdistuvan DNA-rokotteen heikon tehon. Vuoden 2020 tutkimuksessaan he selvittivät, voidaanko mikroRNA-9-estäjällä parantaa kyseisen rokotteen tehoa. Tutkimus toteutettiin ihmisen ja hiiren kantasoluilla, sekä immunisoimalla hiiriä lihaksensisäisesti rokotteen ja miR-9-estäjän yhdistelmällä. Tuloksena miR-9-estäjän antaminen yhdessä DNA-rokotteen kanssa lisäsi kantasoluissa GLUA-P-antigeeniproteiinin ilmenemistä ja paransi hiirillä rokotteen immunogeenisuutta. (25)

Taulukko 1. Tutkimuskohteet.

Tutkimus	Taudinaiheuttajakomponentti	Koe-eläin	Antoreitti	Adjuvantti
Taubman & Smith 1974	Kokonaiset tapetut <i>S. mutansit</i>	Rotta	s.c.	Freundin adjuvantti
Lehner et al. 1981	Kokonaiset tapetut <i>S. mutansit</i> , <i>S. mutansin</i> pintaproteiinit I, II, I/II ja III	Apina	i.m.	Freundin adjuvantti, alumiinihydroksidi
Redman et al. 1996	<i>S. sobrinuksen</i> SpaA -proteiini	Rotta	i.g.	<i>Salmonella typhimurium</i>
Saito et al. 2001	<i>S. mutansin</i> pintaproteiini I/II	Hiiri	i.n.	Koleratoksiini
Smith et al. 2005	<i>S. mutansin</i> GbpB:n sekvenssin peptidi, GLU-peptidi ja CAT-peptidi sekä <i>S. sobrinuksen</i> CAT-peptidi	Rotta	s.c.	Freundin adjuvantti
Xu et al. 2005	<i>S. mutansin</i> gtfB-geenin GLU-fragmentti ja pac-geenin A-P-fragmentti	Rotta	i.m. ja i.n.	Ihmisen T-lymfosyytin antigeenia CTLA4 koodaava geeni
Childers et al. 2006	<i>S. mutansin</i> E-GTF -proteiini	Ihminen	i.n. ja i.t.	Liposomi
Roa et al. 2008	<i>S. mutansin</i> GTF-I(1301-1322)-peptidi	ihmisen CD4+ T-solut in vitro	-	-
Niu et al. 2009	<i>S. mutansin</i> gtfB-geenin GLU-fragmentti ja pac-geenin A-P-fragmentti, <i>S. sobrinuksen</i> gtfI-geenin CAT -fragmentti	Hiiri, rotta	i.m. ja i.n.	-
Dinis et al. 2011	<i>S. sobrinuksen</i> rEnolaasi-proteiini	Rotta	i.n. ja s.c.	Aluna
Shi et al. 2012	<i>S. mutansin</i> pac-geeni	Rotta	i.n.	<i>Salmonella enterican</i> flagelliinin fliC-geeni

Li et al. 2016	<i>S. mutansin</i> wapA-geeni (koodaa pintaproteiinia III) yhdistettynä pVAX1-plasmidiin	Rotta	i.m. ja i.n.	CSTM-nanopartikkeli
Batista et al. 2017	<i>S. mutansin</i> pintaproteiini I/II	Hiiri	s.l.	<i>E. colin</i> labiili toksiiini LTK4R
Yang et al. 2017	<i>S. mutansin</i> pac-geeni	Hiiri, rotta	i.n.	<i>E. colin</i> flagelliinin fliC-geeni
Bi et al. 2019	<i>S. mutansin</i> pintaproteiini I/II	Hiiri	s.m.	kitosaani-Pam3CSK4 ja kitosaani-MPL
Jia et al. 2020	MiR-9-estäjä	Hiiri, hiiren ja ihmisen kantasolut	i.m.	-
de Souza Pereira et al. 2022	<i>S. mutansin</i> GlnH-proteiini	Hiiri	s.l.	<i>E. colin</i> labiili toksiiini LTK63
Yu et al. 2023	<i>S. mutansin</i> pintaproteiini I/II	Hiiri	i.n.	Zeoliitti-imidatsolaatti-8 -nanopartikkeli

s.c. = ihonalainen, i.m. = lihaksensisäinen, i.g = intragastrinen, i.n. = intranasaalinen, i.t. = intratonsillaarinen, s.l. = sublinguaalinen, s.m. = submukosaalinen, p.o. = oraalinen

6 Pohdinta

Kariesrokote on ollut kehitteillä jo yli 40 vuoden ajan. Siitä huolimatta kaupallisessa käytössä olevaa kariesrokotetta ei vielä ole tarjolla. Karies ei ole hengenvaarallinen sairaus. Se on helposti ehkäistävissä hyvän omahoidon sekä terveellisten ruoka- ja juomatottumusten keinoin. Silti karies on edelleen merkittävä maailmanlaajuinen terveysongelma. Se vaikuttaa elämänlaatua heikentävästi aiheuttamalla yksilölle kipua ja särkyä, ja voi luoda toiminnallisia haasteita muun muassa silloin, kun kariuksen seurauksena joudutaan poistamaan hampaita. Poistettujen hampaiden myötä esimerkiksi ruuan pureskelu vaikeutuu. Karioituneet hampaat itsessään, samoin kuin kariuksen vuoksi poistetut hampaat, voivat myös esteettisessä mielessä vaikuttaa yksilön kokonaisvaltaiseen hyvinvointiin. Kariuksen hoidon aiheuttamat kustannukset ovat maailmanlaajuisesti merkittävät, joten tehokkaalle ja yksilön omasta toiminnasta riippumattomalle kariuksen ennaltaehkäisy menetelmälle olisi huomattava tarve.

Streptococcus mutansia ja sen komponentteja on tutkittu kariesrokotteen mahdollisena antigeenina kaikkein eniten, koska sen on ajateltu olevan merkittävin kariuksen yksittäinen aiheuttaja. *S. mutansia* vastaan kohdistuvat rokotteet ovatkin antaneet lupaavia tuloksia eläinmalleissa. Uusien antigeenien selvittäminen on kuitenkin edelleen varsin ajankohtainen tutkimuskohde.

Kariesrokotteen kehittämisen suurin ongelma on tähän asti ollut se, että karies on kovakudoksen sairaus, minkä vuoksi rokotteella on ollut vaikeaa saada aikaan riittävää immunisaatiota (16, 18, 20, 25). Kovakudoksessa ei ole omaa aineenvaihduntaa, joten kariekselta suojaavat komponentit pitää kuljettaa hampaan pinnalle muita reittejä pitkin. Ei siis ole itsestään selvää, että kaikki rokotusmenetelmät toimivat, koska hammas eroaa kovakudoksen osalta merkittävästi elimistön muista kudoksista. Koska hampaat sijaitsevat suuontelossa, ovat limakalvorokotteet osoittautuneet potentiaalisiksi lähestymistavaksi niin syljenerityksen kuin sijainnin osalta. Limakalvoilta vasta-aineet kuitenkin huuhtoutuvat nopeasti pois. Vasta-aineiden lisäksi myös itse puolustusolujen tulisi päästä kosketuksiin bakteerien kanssa, mikä sekin tuottaa puolustuksen osalta haasteita. Antigeenien muodostumisen osalta elävät, heikennetyt taudinaiheuttajat ovat osoittautuneet limakalvoimmunisaatiossa parhaimmaksi, joskaan ne eivät ole

kariesrokotteen kehityksessä olleet varsinkaan viime aikoina juurikaan tutkimuskäytössä niihin liittyvien yleisterveydellisten riskien vuoksi.

Tutkimusten mukaan syljen spesifisillä IgA-vasta-aineilla näyttäisi olevan limakalvoimmunisaatiossa ja karieksen ennaltaehkäisyssä merkittävämpi rooli kuin seerumin vasta-aineilla (18, 19). Tähänkin on kuitenkin löytynyt poikkeuksia. Esimerkiksi seerumista voi suodattua vasta-aineita ientaskunesteeseen. Joillain adjuvanteilla on myös kyky lisätä limakalvon läpäisevyyttä niin antigeeneille kuin vasta-aineille. (13)

Adjuvanttien avulla tutkittujen rokotteiden immunisaatiokykyä on saatu tehokkaasti nostettua eläinmalleissa. Adjuvanttien ongelmana on kuitenkin se, että on vaikeaa löytää ihmisille muuten lupaavalta vaikuttavalle kariesrokotteelle soveltuvaa adjuvanttia, joka olisi tehokas mutta turvallinen. (16, 21)

Viimeisten 20 vuoden aikana DNA-rokotteet ovat olleet yksi suosituimmista kehityshaaroista kariesrokotteen kehittämisessä. Niillä on lukuisia hyötyjä perinteisiin taudinaiheuttajaa sisältäviin rokotteisiin verrattuna. Ne eivät voi aiheuttaa itse sairautta. Ne myös toimivat pitkäaikaisena suojana, koska elimistö valmistaa itse taudinaiheuttajan antigeeniä (19). DNA-rokotteiden ongelma verrattuna muihin rokotemalleihin on kuitenkin niiden heikko pääsy kudoksiin, DNA:n rikkoutuminen ja DNA-rokotteiden korkeat tuotantokustannukset (21).

Huolimatta lukuisista lupaavia tuloksia antaneista eläinkokeista, ihmiskokeita on tehty kariesrokotteen osalta hyvin vähän. Koska karies ei ole hengenvaarallinen tauti, tutkimuksille on haasteellista saada rahoitusta, vaikka pitkällä aikavälillä rokote olisi mahdollisesti edullisempi lähestymistapa karieksen ennaltaehkäisyyn verrattuna esimerkiksi paikkaushoidon aiheuttamiin suun terveydenhuollon kustannuksiin. Rokotteen kehittämisen ja itse rokottamisen kustannustehokkuutta on kuitenkin syytä pohtia myös globaalilla tasolla, sillä Suomessa kuten myös muissa länsimaissa karieksen aiheuttamat ongelmat kasaantuvat yleensä vain pienelle osalle väestössä (1). Kehittyvissä maissa, joissa terveysvalistus ja terveydenhuolto ei tavoita ihmisiä länsimaita vastaavalla tavalla, koko väestöön kohdistuva karieksen ennaltaehkäisykeino olisi taloudellisesti taas jo paljon suuremmassa roolissa. (26)

Kariestartunutta saadaan useimmiten ensimmäisten elinvuosien aikana, mikä puoltaisi sitä, että rokotetta kehitettäisiin erityisesti lapsille suunnattavaksi (26). Monissa

maissa on käytössä kuitenkin kansalliset rokotusohjelmat, jotka suojaavat hengenvaarallisilta taudeilta, joten on tärkeää pohtia, mikä rooli kariesrokotteella olisi näissä rokotusohjelmissa, kun karies ei lukeudu tällaisiin henkeä uhkaaviin tai yleisterveyttä vaarantaviin sairauksiin.

Tässä katsauksessa keskityttiin ainoastaan karieksen ennaltaehkäisyyn aktiivisen immunisaation eli rokottamisen keinoin. Kariesta vastaan on kuitenkin kehitetty ja edelleen kehitteillä lukuisia muita keinoja. Esimerkiksi Lehner tutkimusryhmineen selvitti passiivisen immunisaation mahdollisuuksia karieksen ennaltaehkäisyssä immuunimaidon avulla (26). Viimeaikaisempia preventiivisiä lähestymistapoja taas ovat olleet jo aikaisemmin mainitut probiootit (4), puolukkasuuuhde (3) ja antimikrobiset peptidit (5).

Vaikka kariesrokote ja muut uudet karieksen ennaltaehkäisyn menetelmät saataisiin tehokkaaseen käyttöön, on tärkeää muistaa, että karieksen ennaltaehkäisyn kulmakivet ovat silti hyvässä omahoidossa ja terveellisissä ruoka- ja juomatottumuksissa. Monet ihmiset eivät miellä suun sairauksia kovinkaan merkityksellisiksi yleisterveytensä kannalta. Olisikin erittäin tärkeää lisätä tietoisuutta karieksesta sairautena ja motivoida ihmisiä huolehtimaan itse omasta suunterveydestään.

Lähteet

1. Karies (hallinta). Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Hammaslääkäriseura Apollonia ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim, 2020 (viitattu 13.5.2024). Saatavilla internetissä: www.kaypahoito.fi.
2. Hampaan paikkaushoito. Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Hammaslääkäriseura Apollonia ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim, 2023 (viitattu 13.5.2024). Saatavilla internetissä: www.kaypahoito.fi.
3. Pärnänen P, Lomu S, Räisänen IT, Tervahartiala T, Sorsa T. Antimicrobial and Anti-Inflammatory Oral Effects of Fermented Lingonberry Juice-A One-Year Prospective Human Intervention Study. *Eur J Dent.* 2023;17(4):1235-40.
4. Van Holm W, Zayed N, Lauwens K, Saghi M, Axelsson J, Aktan MK, et al. Oral Biofilm Composition, Dissemination to Keratinocytes, and Inflammatory Attenuation Depend on Probiotic and Synbiotic Strain Specificity. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2024.
5. Baker JL, He X, Shi W. Precision Reengineering of the Oral Microbiome for Caries Management. *Adv Dent Res.* 2019;30(2):34-9.
6. Heikkinen T, Järvinen A, Meri S, Vapalahti O, Vuopio J (toim.). *Immunologia* [online]. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 2024 (viitattu 16.12.2024). Saatavilla Internetissä (vaatii käyttäjätunnuksen): www.oppiportti.fi/op/tunnus.
7. Plotkin SA. Correlates of protection induced by vaccination. *Clin Vaccine Immunol.* 2010;17(7):1055-65.
8. Talbman MA, Smith DJ. Effects of local immunization with *Streptococcus mutans* on induction of salivary immunoglobulin A antibody and experimental dental caries in rats. *Infect Immun.* 1974;9(6):1079-91.
9. Lehner T, Russell MW, Caldwell J, Smith R. Immunization with purified protein antigens from *Streptococcus mutans* against dental caries in rhesus monkeys. *Infect Immun.* 1981;34(2):407-15.
10. Redman TK, Harmon CC, Michalek SM. Oral immunization with recombinant *Salmonella typhimurium* expressing surface protein antigen A (SpaA) of *Streptococcus sobrinus*: effects of the *Salmonella* virulence plasmid on the induction of protective and sustained humoral responses in rats. *Vaccine.* 1996;14(9):868-78.
11. Smith DJ, King WF, Rivero J, Taubman MA. Immunological and protective effects of diepitopic subunit dental caries vaccines. *Infect Immun.* 2005;73(5):2797-804.
12. de Souza Pereira G, Batista MT, Dos Santos NFB, Passos HM, da Silva DA, Ferreira EL, et al. *Streptococcus mutans* glutamate binding protein (GlnH) as antigen target for a mucosal anti-caries vaccine. *Braz J Microbiol.* 2022;53(4):1941-9.
13. Niu Y, Sun J, Fan M, Xu QA, Guo J, Jia R, et al. Construction of a new fusion anti-caries DNA vaccine. *J Dent Res.* 2009;88(5):455-60.
14. Saito M, Otake S, Ohmura M, Hirasawa M, Takada K, Mega J, et al. Protective immunity to *Streptococcus mutans* induced by nasal vaccination with surface protein antigen and mutant cholera toxin adjuvant. *J Infect Dis.* 2001;183(5):823-6.
15. Batista MT, Ferreira EL, Pereira GS, Stafford P, Maeda D, Rodrigues JF, et al. LT adjuvant modulates epitope specificity and improves the efficacy of murine antibodies elicited by sublingual vaccination with the N-terminal domain of *Streptococcus mutans* P1. *Vaccine.* 2017;35(52):7273-82.

16. Bi Y, Xu Q, Su L, Xu J, Liu Z, Yang Y, et al. The Combinations Chitosan-Pam(3)CSK(4) and Chitosan-Monophosphoryl Lipid A: Promising Immune-Enhancing Adjuvants for Anticaries Vaccine PAc. *Infect Immun.* 2019;87(12).
17. Yu YB, Liu Y, Liang H, Dong X, Yang XY, Li S, et al. A Nanoparticle-Based Anticaries Vaccine Enhances the Persistent Immune Response To Inhibit *Streptococcus mutans* and Prevent Caries. *Microbiol Spectr.* 2023;11(2):e0432822.
18. Li H, Lu Y, Xiang J, Jiang H, Zhong Y, Lu Y. Enhancement of immunogenic response and protection in model rats by CSTM nanoparticles anticaries DNA vaccine. *Nanomedicine (Lond).* 2016;11(11):1407-16.
19. Xu QA, Yu F, Fan M, Bian Z, Guo J, Jia R, et al. Immunogenicity and protective efficacy of a targeted fusion DNA construct against dental caries. *Caries Res.* 2005;39(5):422-31.
20. Shi W, Li YH, Liu F, Yang JY, Zhou DH, Chen YQ, et al. Flagellin enhances saliva IgA response and protection of anti-caries DNA vaccine. *J Dent Res.* 2012;91(3):249-54.
21. Yang J, Sun Y, Bao R, Zhou D, Yang Y, Cao Y, et al. Second-generation Flagellin-rPAc Fusion Protein, KFD2-rPAc, Shows High Protective Efficacy against Dental Caries with Low Potential Side Effects. *Sci Rep.* 2017;7(1):11191.
22. Roa NS, Gómez SI, Rodríguez A. Cytokines produced by CD4+ T cells against a synthetic GTF-I(1301-1322) peptide of *Streptococcus mutans* in naturally sensitized humans. *Acta Odontol Latinoam.* 2008;21(2):153-8.
23. Childers NK, Li F, Dasanayake AP, Li Y, Kirk K, Michalek SM. Immune response in humans to a nasal boost with *Streptococcus mutans* antigens. *Oral Microbiol Immunol.* 2006;21(5):309-13.
24. Dinis M, Trigo G, Chaves N, Fonseca AJ, Ribeiro A, Tavares D, et al. rEnolase maternal immunization confers caries protection on offspring. *J Dent Res.* 2011;90(3):325-30.
25. Jia R, Yan L, Guo J. Enhancing the immunogenicity of a DNA vaccine against *Streptococcus mutans* by attenuating the inhibition of endogenous miR-9. *Vaccine.* 2020;38(6):1424-30.
26. Russell MW, Childers NK, Michalek SM, Smith DJ, Taubman MA. A Caries Vaccine? The state of the science of immunization against dental caries. *Caries Res.* 2004;38(3):230-5.