

原 著

歯周炎患者における抗菌ペプチド LL-37 の臨床的意義

北川原 聡

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 生体支持組織学系専攻 生体硬組織再生学講座 歯周病学分野
(受付日：2010年7月6日 受理日：2010年11月12日)

The clinical relevance of antibacterial peptide (LL-37) in periodontitis patients

Satoshi Kitagawara

Section of Periodontology, Department of Hard Tissue Engineering, Division of Bio-Matrix, Graduate School of
Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, JAPAN
(Received : July 1, 2010 Accepted : November 12, 2010)

Abstract : The purpose of this study was to examine the salivary LL-37 levels together with the presence/absence of major periodontopathic bacteria, and to evaluate the clinical relevance of this antibacterial peptide in patients of periodontitis. Unstimulated salivary samples were collected from 72 periodontitis patients and 22 periodontally healthy controls. The concentration of LL-37 in the saliva was measured by enzyme-linked immunosorbent assay, and the presence of four periodontopathic bacteria (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*) was determined using polymerase chain reaction. Periodontal examination included determination of the probing pocket depth (PPD), the clinical attachment level (CAL), and bleeding on probing (BOP). The subjects with periodontitis showed significantly higher LL-37 levels in the saliva than the healthy controls. A higher prevalence of periodontopathic bacteria was observed in the periodontitis patients, and the salivary LL-37 levels were particularly elevated in patients with *T. denticola* or *A. actinomycetemcomitans* as compared to the results in patients without these periodontopathic bacteria. The salivary concentration of LL-37 was positively correlated with the percentage of teeth with a PPD of ≥ 5 mm or CAL of ≥ 5 mm in the periodontitis patients. The results of multiple regression analysis revealed that the concentration of LL-37 in the saliva was significantly correlated with the presence of *T. denticola*. In conclusion, production of LL-37 seemed to be increased in association with periodontopathic bacterial infection. However, it was not sufficient to eliminate these bacteria and prevent periodontal destruction in patients with periodontitis.

Nihon Shishubyo Gakkai Kaishi (J Jpn Soc Periodontol) 52(4): 401-408, 2010.

連絡先：北川原 聡

〒113-8549 東京都文京区湯島1丁目5番45号

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 生体支持組織学系専攻 生体硬組織再生学講座 歯周病学分野

Satoshi Kitagawara

Section of Periodontology, Department of Hard Tissue Engineering, Division of Bio-Matrix, Graduate School of Tokyo
Medical and Dental University, Tokyo, JAPAN

1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8549, JAPAN

E-mail : ktgwperi@tmd.ac.jp

Key words : LL-37, antimicrobial peptide, periodontitis, periodontopathic bacteria, *Treponema denticola*

要旨 : 本研究では、抗菌ペプチドである LL-37 の唾液中の濃度の測定と共に主要な歯周病原細菌の検出を行い、本ペプチドの歯周炎患者における臨床的意義を検討した。サンプルとして無刺激唾液を 72 名の歯周炎患者および 22 名の健常者より採取した。唾液中の LL-37 濃度の測定を ELISA 法により、4 種の歯周病原細菌 (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*) の検出を PCR 法により行った。また、歯周組織検査としてプロービングポケットデプス (PPD)、臨床的アタッチメントレベル (CAL)、プロービング時の出血の有無を記録した。その結果、歯周炎患者の唾液中の LL-37 濃度は健常者と比べ有意に高い値を示した。歯周炎患者では歯周病原細菌が高い割合で検出され、*T. denticola* や *A. actinomycetemcomitans* が検出された患者ではこれらの細菌が検出されていない患者と比べ、LL-37 濃度は有意に高い値を示した。また、歯周炎患者における 5mm 以上の PPD/CAL を持つ歯の割合と唾液中の LL-37 濃度の間には正の相関が認められた。さらに重回帰分析の結果、*T. denticola* の存在と唾液中の LL-37 濃度との関連が示唆された。本研究より、LL-37 は歯周病原細菌の存在に呼応するように産生量が上昇するが、その作用は歯周病原細菌を除去し、歯周組織破壊を食い止めるには十分でないと考えられた。

日本歯周病学会誌(日歯周誌)52(4) : 401-408, 2010.

キーワード : LL-37, 抗菌ペプチド, 歯周病, 歯周病原細菌, *Treponema denticola*

緒 言

歯周病は、歯周病原細菌と宿主細胞との相互作用により歯周組織の破壊が引き起こされる炎症性疾患である。生体は細菌に対する防御反応として様々な自然免疫能を有しているが、そのひとつとして抗菌ペプチドの存在が挙げられる。抗菌ペプチドは 30 数個前後のアミノ酸からなる抗菌活性を持つペプチドで、ヒトが産生するものとして、defensin と cathelicidin が知られている。LL-37 は、cathelicidin 型抗菌蛋白質である CAP-18 (Cationic protein of 18kDa) の C 末端に存在するペプチド (LL-37/hCAP-18)^{1,2)} であり、口腔内では細菌の感染により非特異的に好中球や歯肉上皮細胞、あるいは末梢リンパ球から産生される³⁾。LL-37 は、細菌、真菌、ウイルスなど微生物に対して幅広く抵抗性を示すだけでなく^{4,5)}、LPS の中和作用や、好中球、単球、T 細胞などの細胞遊走能の活性化、血管新生促進による創傷治癒に関与することなどが報告されている⁶⁻¹²⁾。このような作用から、歯周病の予防や発症、進行などに LL-37 が関与している可能性があると考えられてきた。Kostmann 症候群、Papillon-Lefèvre 症候群、好中球減少症など、LL-37 産生が極度に低くなるような全身疾患患者では、歯周病に対する感受性が上がるため、有病率が高いと考えられている¹³⁻¹⁵⁾。一方、最近では慢性歯周炎患者の歯肉溝滲出液中における LL-37 量の増加が報告されている^{16,17)}。しかしながら、LL-37 と歯周病の病態や臨床症状との関連についての報告は少なく、不明点

が多い。そこで本研究では、歯周病患者と健康な歯周組織をもつ健常者を対象として唾液中の LL-37 濃度の測定および歯周病原細菌の検出を行い、歯周病の臨床症状との関連性について比較検討した。

材料及び方法

1. 被験者

本研究は東京医科歯科大学歯学部倫理委員会により承諾され、被験者には事前に研究内容を十分説明し、同意を得た上で実施した。被験者は東京医科歯科大学歯学部附属病院を受診し、歯周組織検査により以下の選考基準を満たした歯周炎患者 72 名、および対照群として健康な歯周組織をもつ健常者 22 名で、問診により重篤な全身疾患がなく、過去 3 カ月以内に歯周病の治療と抗菌剤の投与を受けていないことを確認した。

歯周組織検査として、1 歯につき 6 点法でプロービングポケットデプス (PPD)、臨床的アタッチメントレベル (CAL)、プロービング時の出血 (BOP) を測定した。歯周炎患者は、残存歯が 20 本以上あり、各 1/4 顎において 1 歯以上に 4mm 以上の歯周ポケットが存在する者とした。健常者は、全顎にわたり 4mm 以上の歯周ポケットが認められない者とした。

2. サンプルの採取と処理

各被験者より安静時の無刺激唾液を 0.5ml 採取した。これに滅菌蒸留水 0.5ml を加え、ボルテックスミキサーにて 1 分間攪拌した後、6000×g で 5 分間遠心分離し、上清とペレットに分けた。QIAamp DNA

表 1

	歯周炎患者	健常者
被験者数(男性:女性)	72 (34:38)	22 (6:16)
年齢*	51.80 ± 13.60	27.60 ± 8.40
喫煙の有無(あり, なし)	(30:42)	(2:20)
平均PPD(mm)*	3.15 ± 0.82	1.70 ± 0.22
平均CAL(mm)*	3.59 ± 0.93	1.70 ± 0.23
LL-37濃度(ng/ml)*	223.72 ± 223.02	129.37 ± 141.89

(mean±SD) *P<0.05

Mini Kit (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA) を用いてペレット中の細菌 DNA を、付属の取扱説明書に記載された方法に従い抽出した。この細菌 DNA 抽出物と上清は解析を行うまで -80°C で保存した。

3. 唾液中の歯周病原細菌の検出および LL-37 量の測定

唾液中の 4 種の歯周病原細菌 (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) の有無は、Ashimoto らの方法¹⁸⁾ に従いポリメラーゼチェーンリアクション (PCR) 法にて判定した。すなわち、プライマーは各細菌 4 種の 16S rRNA をターゲットとし、5 μ l の細菌 DNA 抽出液に 45 μ l の反応液 {プライマー各 0.5 μ M, 10xPCR buffer (Promega, Madison, WI, USA) 5 μ l, Taq DNA polymerase (Promega) 1.25unit, dNTP ミックス (Pharmacia LKB, Piscataway, NJ, USA) 0.2mM, MgCl₂ 1.5mM (*A. actinomycetemcomitans* については 1.0mM)} を加え、サーマルサイクラー (PTC-200, MJ Research, Boston, MA, USA) を用いて特定遺伝子を増幅させた。PCR 産物は 1.0% アガロースゲルにて電気泳動後、ethidium bromide 0.5 μ g/ml を用い染色し、各細菌に特異的なバンドの有無を確認した。LL-37 量は前述した唾液上清から、Hbt human LL-37 test kit (Hycult biotechnology, Uden, Netherlands) を用いて、付属の取扱説明書に記載された方法に従い ELISA 法にて測定した。

4. 統計処理

歯周炎患者と健常者における年齢、性別、臨床的パラメーター値の比較には Mann-Whitney's U test および Fisher's exact test を用いた。また、歯周病原細菌の有無や喫煙の有無による LL-37 値の比較は Mann-Whitney's U test を用いた。各歯周炎患者における 5mm 以上の PPD または CAL が占める歯数の割合と唾液中の LL-37 濃度との相関については、Spearman's correlation coefficient を用いて検定した。

また、重回帰分析を行い、唾液中の LL-37 濃度に、年齢、性別、歯周病の有無、現在の喫煙習慣の有無、PPD、CAL、BOP、歯周病原細菌の有無が影響するかどうかを分析した。これら全ての統計解析は JMP[®] Ver. 8.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いて行った。

結 果

本研究における被験者の平均年齢、喫煙経験、臨床的パラメーターの平均値および唾液中の LL-37 濃度を表 1 に示す。歯周炎患者群では健常者群と比較して、平均年齢、平均 PPD、平均 CAL、BOP 陽性歯率に加え、唾液中の LL-37 濃度が有意に高い値を示した。また、各歯周炎患者において、5mm 以上の PPD、CAL を示す歯数の割合を計算し、これと唾液中の LL-37 濃度との関連を調べたところ、正の相関が認められた (図 1, 2)。

歯周病患者における唾液中の *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans* の検出率は、それぞれ 83.3%, 87.5%, 68.1%, 12.5% であった。これらの歯周病原細菌は健常者からは検出されなかった。歯周炎患者において、*T. denticola* または *A. actinomycetemcomitans* が検出された場合には、検出されなかった場合と比べ、LL-37 濃度は有意に高い値を示した (図 3)。*T. forsythia* が検出された場合においても、唾液中の LL-37 濃度は検出されない場合と比べ高値を示したが、有意差は認められなかった。また、歯周炎患者で現在の喫煙習慣の有無により二群に分け比較したところ、被験者の平均 PPD (喫煙経験あり 2.89 ± 0.69mm vs 喫煙経験なし 3.21 ± 0.84mm (mean ± SD)) および平均 CAL (喫煙経験あり 3.21 ± 0.66mm vs 喫煙経験なし 3.68 ± 0.97mm (mean ± SD)) について差は認められなかったものの、唾液中の LL-37 濃度については現在喫煙

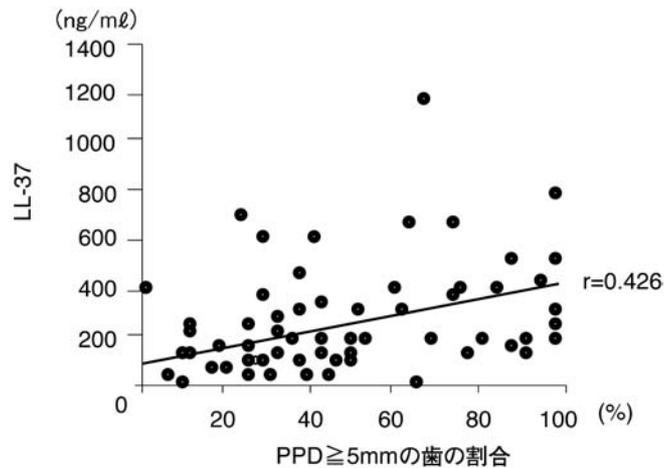


図1 歯周炎患者における5mm以上のプロービングポケットデプスをもつ歯の割合と唾液中のLL-37濃度との関係

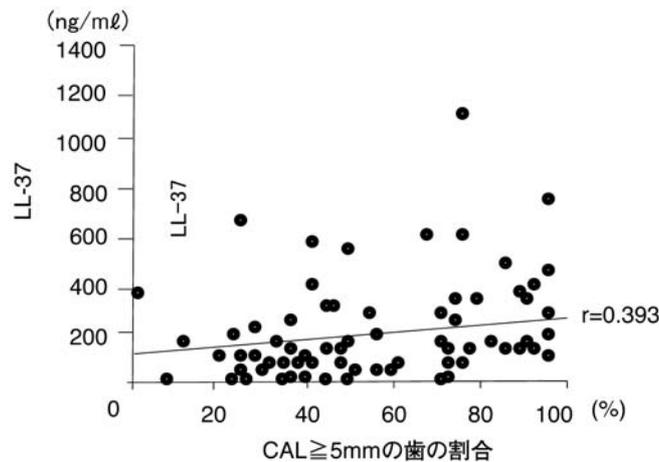


図2 歯周炎患者における5mm以上の臨床的アタッチメントレベルをもつ歯の割合と唾液中のLL-37濃度との関係

者は非喫煙者と比べ有意に低い値を示した(図4)。また、LL-37の濃度に関連する要素を求めるために、重回帰分析を行ったところ、*T. denticola*の検出の有無とLL-37の濃度との間に関連が認められた(表2)。

考 察

抗菌ペプチドであるLL-37は自然免疫系の一因子として働き、*in vitro*の研究により、口腔内細菌に対して抗菌性を示すことが、明らかにされている^{9,19-22)}。このことから、歯周病の予防や発症、進行にもLL-37の存在が影響を与えていると考えられるが、歯周病の病態や臨床症状との関連についての報告は限られていた。

本研究の結果、歯周炎患者では健常者に比べ、唾液中のLL-37濃度が有意に高いことが確認された。今回採取した無刺激唾液中のLL-37は、歯肉などの上

皮細胞および歯肉中の好中球に由来していると思われる。Daleら³⁾は、歯周外科時に採取した歯肉組織を免疫染色および*in situ hybridization*により処理し観察した結果、好中球でLL-37が強く発現し、接合上皮や歯肉溝上皮部に浸潤していることを報告している。また、Türkoğluら¹⁷⁾やPukloら¹⁶⁾は、慢性歯周炎患者の歯肉溝滲出液中において、健常者と比べLL-37量が多いことを報告している。これらのことは、炎症時に好中球におけるLL-37の産生亢進が起きていることが推測される。

これまでの報告では、LL-37レベルの低下を引き起こす全身疾患を有する患者では、歯周病原細菌の排除がうまくいかなることで歯周病が発症する可能性が指摘されている。de Haarら^{13,23)}はPapillon-Lefèvre症候群患者由来の多形核白血球ではLL-37の分泌能が低下し、これが*A. actinomycetem-comitans*の排除を困難にし歯周炎が進行する可能性

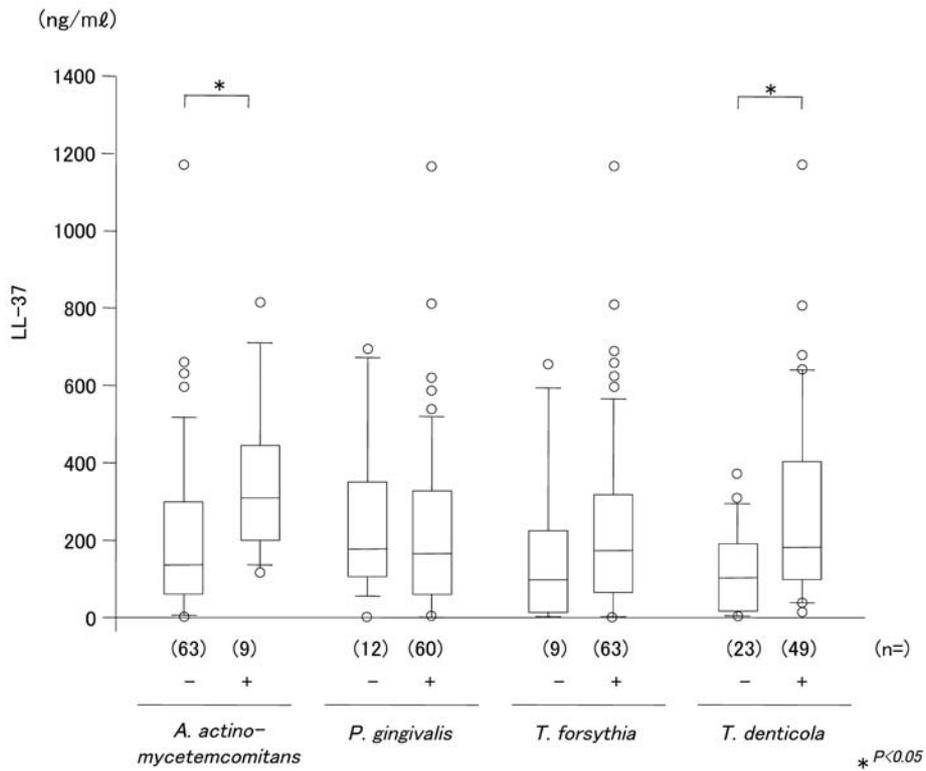


図3 歯周炎患者における歯周病原細菌の検出と唾液中の LL-37 濃度との関係。箱の上下辺は上位と下位の四分位、中心線は中央値、ひげは 10%点と 90%点を示す。

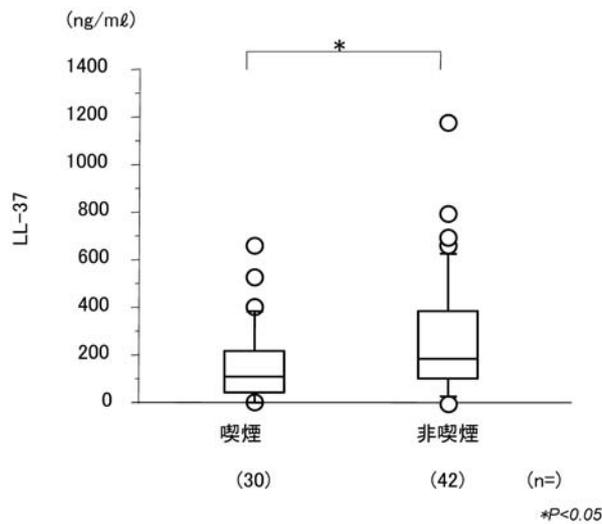


図4 歯周炎患者における現在の喫煙習慣の有無と唾液中の LL-37 濃度との関係。箱の上下辺は上位と下位の四分位、中心線は中央値、ひげは 10%点と 90%点を示す。

を指摘している。本研究の被験者は重篤な全身疾患を持たない歯周炎患者であるが、これらの者からは歯周病原細菌が高頻度に検出され、なかでも *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans* が検出された患者では、検

出されなかった患者と比較して唾液中の LL-37 濃度が有意に高い値を示した。また *T. forsythia* についても、有意差こそ認められなかったものの、菌が検出された患者では唾液中の濃度が高い傾向が認められた。

表 2

項	推定値	p値(Prch > ld)
性別	10.80	0.63
年齢	59.47	0.06
喫煙の有無	-8.97	0.70
残存歯数	-30.75	0.18
<i>P.gingivalis</i>	-41.79	0.23
<i>T.forsythia</i>	25.66	0.49
<i>T.denticola</i>	61.30	0.024 *
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	0.44	0.99
歯周病の有無	-38.96	0.58
PPD \geq 7mmの歯の割合	-24.14	0.73
CAL \geq 7mmの歯の割合	92.18	0.21
BOP(+) ^a の歯の割合	-32.64	0.38
PPD \geq 4mmの歯の割合	169.37	0.05
CAL \geq 4mmの歯の割合	-156.24	0.13

* $P < 0.05$

一方, Hosokawa ら²⁴⁾ は in vitro において, 歯肉上皮細胞や好中球を細菌で刺激した際の LL-37 の産生量を測定しているが, *P. gingivalis* で刺激した場合の LL-37 産生量は, *A. actinomycetemcomitans* や *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* といった細菌で刺激した場合と比べ低いことを報告している。また, *P. gingivalis* は gingipine などのプロテアーゼを産生することが知られており, これにより LL-37 が分解されることが報告されている²⁵⁾。*P. gingivalis* が検出されていても, 唾液中の LL-37 濃度の上昇が認められなかったのはこのような理由によると考えられる。

さらに重回帰分析により, 年齢, 性別, 歯周病の有無, 現在の喫煙習慣の有無, PPD, CAL, BOP, 歯周病原細菌の有無を考慮しても, *T. denticola* の有無と唾液中の LL-37 レベルには有意な関連性が認められている。これらのことから, 特殊な全身疾患を持たない多くの歯周炎患者の場合には, LL-37 の産生は病原細菌の感染に呼応する形で増加すると考えられ, LL-37 の産生量低下が歯周病発症の主因となっているとは考えにくい。むしろ, LL-37 の産生が亢進していたとしても, その歯周病原細菌に対する抗菌効果は不十分であるのかもしれない。In vitro において, 歯周病原細菌, なかでも *A. actinomycetemcomitans* や red complex に属する細菌 (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) は, 非歯周病原細菌と比べ好中球による貪食や LL-37 による殺菌作用に対する抵抗性が高いことが報告されている²⁶⁾。これらの持続的な

細菌感染が, 歯周組織破壊の広がりとならざる LL-37 の産生亢進を促すことを示していると考えられる。局所的な評価であるが, 歯肉溝滲出液中の LL-37 量と PPD, CAL 値との間に正の相関があることがこれまでも報告されている^{17,24)}。

LL-37 は当初, 抗菌ペプチドとして見いだされ注目された。しかし, 菌血症の動物実験モデルを用いた実験^{27,28)} などから, LL-37 は宿主の様々な細胞に対して作用し, 生体を防御しているものと考えられるようになった。例えば LL-37 は LPS に中和作用を示すことが知られているが, Mookherjee ら²⁹⁾ は LL-37 がヒト由来単球細胞 (THP-1) を用いた研究で, LPS による NF-kappa B の活性化を抑えることで炎症性サイトカイン産生を抑制し, 過剰な炎症反応を抑えることを報告している。LL-37 は好中球に対しても様々な影響を及ぼすことが知られている。抗菌ペプチドが作用する宿主細胞の受容体はいくつか報告されているが, LL-37 はそのひとつである formyl peptide receptor-like 1 を介して好中球を炎症局所へと遊走させることが明らかとなっている¹¹⁾。また, LL-37 は好中球による活性酸素の発生を高めることで, 好中球における細菌の取込みを促進させると同時に, 炎症性サイトカインの放出を抑制する³⁰⁾。さらに, 好中球は寿命の短い細胞で自発的にアポトーシスを起こすが, LL-37 はそれを抑制することも報告されている^{31, 32)}。好中球のアポトーシスが抑制されることは食細胞としての機能が維持されることを意味し, 感染防御の観点から宿主に有利に働くと考えられる。これ

らのことから、歯周炎における LL-37 の防御的な働きは、病原細菌に対する直接的な殺菌よりも、むしろ細菌によって引き起こされた炎症反応を軽減すると同時に好中球の機能を補助するという、宿主に対する働きが占める部分が大きい可能性がある。

喫煙は歯周病のリスクファクターとして良く知られている³³⁾。本研究でも喫煙習慣のある歯周炎患者では、非喫煙患者と比較して唾液中の LL-37 濃度が有意に低かった。喫煙と LL-37 の関連について報告している論文はないが、喫煙による白血球や歯肉上皮細胞の機能低下が LL-37 の産生やその後の生体防御に何らかの影響を及ぼしたのかもしれない。今後は喫煙が LL-37 に与える影響について詳細に検討する必要があると思われる。

本研究の結果、唾液中の LL-37 濃度は歯周病の進行に伴いその産生量が増加していることが明らかとなった。これは歯周病原細菌に対する自然免疫反応として起こり、歯周組織に対し防御的に働くが、その作用だけでは局所から完全に歯周病原細菌を排除するには至らず、歯周組織破壊を食い止めるには十分でないと考えられる。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、研究の遂行に終始ご協力いただきました和泉雄一教授、長澤敏行先生、竹内康雄先生をはじめ、多くの関係者に感謝いたします。本論文の要旨の一部は第 51 回日本歯周病学会春季学術大会(2009 年 4 月 25 日)において発表した。

文 献

- 1) Bals R, Wang X, Zasloff M, Wilson JM: The peptide antibiotic LL-37/hCAP-18 is expressed in epithelia of the human lung where it has broad antimicrobial activity at the airway surface. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 9541-9546, 1998.
- 2) Gudmundsson GH, Agerberth B: Neutrophil antibacterial peptides, multifunctional effector molecules in the mammalian immune system. *J Immunol Methods*, 232: 45-54, 1999.
- 3) Dale BA, Kimball JR, Krisanaprakornkit S, Roberts F, Robinovitch M, O'Neal R, Valore EV, Ganz T, Anderson GM, Weinberg A: Localized antimicrobial peptide expression in human gingiva. *J Periodontal Res*, 36: 285-294, 2001.
- 4) Diamond G, Beckloff N, Ryan LK: Host defense peptides in the oral cavity and the lung: similarities and differences. *J Dent Res*, 87: 915-927, 2008.
- 5) Guthmiller JM, Vargas KG, Srikantha R, Schomberg LL, Weistroffer PL, McCray PB, Jr., Tack BF: Susceptibilities of oral bacteria and yeast to mammalian cathelicidins. *Antimicrob Agents Chemother*, 45: 3216-3219, 2001.
- 6) Chertov O, Michiel DF, Xu L, Wang JM, Tani K, Murphy WJ, Longo DL, Taub DD, Oppenheim JJ: Identification of defensin-1, defensin-2, and CAP37/azurocidin as T-cell chemoattractant proteins released from interleukin-8-stimulated neutrophils. *J Biol Chem*, 271: 2935-2940, 1996.
- 7) Ciornei CD, Sigurdardottir T, Schmidtchen A, Bodelsson M: Antimicrobial and chemoattractant activity, lipopolysaccharide neutralization, cytotoxicity, and inhibition by serum of analogs of human cathelicidin LL-37. *Antimicrob Agents Chemother*, 49: 2845-2850, 2005.
- 8) Koczulla R, von Degenfeld G, Kupatt C, Krotz F, Zahler S, Gloe T, Issbrucker K, Unterberger P, Zaiou M, Lebherz C, Karl A, Raake P, Pfosser A, Boekstegers P, Welsch U, Hiemstra PS, Vogelmeier C, Gallo RL, Clauss M, Bals R: An angiogenic role for the human peptide antibiotic LL-37/hCAP-18. *J Clin Invest*, 111: 1665-1672, 2003.
- 9) Lee SH, Jun HK, Lee HR, Chung CP, Choi BK: Antibacterial and lipopolysaccharide (LPS)-neutralising activity of human cationic antimicrobial peptides against periodontopathogens. *Int J Antimicrob Agents*, 35: 138-145, 2010.
- 10) Nagaoka I, Hirota S, Niyonsaba F, Hirata M, Adachi Y, Tamura H, Heumann D: Cathelicidin family of antibacterial peptides CAP18 and CAP11 inhibit the expression of TNF- α by blocking the binding of LPS to CD14(+) cells. *J Immunol*, 167: 3329-3338, 2001.
- 11) Yang DB, Chen Q, Schmidt AP, Anderson GM, Wang JM, Wooters J, Oppenheim JJ, Chertov O: LL-37, the neutrophil granule- and epithelial cell-derived cathelicidin, utilizes formyl peptide receptor-like 1 (FPR1) as a receptor to chemoattract human peripheral blood neutrophils, monocytes, and T cells. *J Exp Med*, 192: 1069-1074, 2000.
- 12) Zheng Y, Niyonsaba F, Ushio H, Nagaoka I, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H: Cathelicidin LL-37 induces the generation of reactive oxygen species and release of human α -defensins from neutrophils. *Br J Dermatol*, 157: 1124-1131, 2007.
- 13) de Haar SF, Jansen DC, Schoenmaker T, De Vree H, Everts V, Beertsen W: Loss-of-function mutations in cathepsin C in two families with Papillon-Lefèvre syndrome are associated with deficiency of serine proteinases in PMNs. *Hum Mutat*, 23: 524, 2004.

- 14) Karlsson J, Carlsson G, Ramme KG, Hagglund H, Fadeel B, Nordenskjöld M, Henter JI, Palmblad J, Putsep K, Andersson M: Low plasma levels of the protein pro-LL-37 as an early indication of severe disease in patients with chronic neutropenia. *Br J Haematol*, 137: 166-169, 2007.
- 15) Pütsep K, Carlsson G, Boman HG, Andersson M: Deficiency of antibacterial peptides in patients with morbus Kostmann: an observation study. *Lancet*, 360: 1144-1149, 2002.
- 16) Puklo M, Guentsch A, Hiemstra PS, Eick S, Potempa J: Analysis of neutrophil-derived antimicrobial peptides in gingival crevicular fluid suggests importance of cathelicidin LL-37 in the innate immune response against periodontogenic bacteria. *Oral Microbiol Immunol*, 23: 328-335, 2008.
- 17) Türkoğlu O, Emingil G, Kütükçüler N, Atilla G: Gingival crevicular fluid levels of cathelicidin LL-37 and interleukin-18 in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*, 80: 969-976, 2009.
- 18) Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J: Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol*, 11: 266-273, 1996.
- 19) Altman H, Steinberg D, Porat Y, Mor A, Fridman D, Friedman M, Bachrach G: *In vitro* assessment of antimicrobial peptides as potential agents against several oral bacteria. *J Antimicrob Chemother*, 58: 198-201, 2006.
- 20) Komatsuzawa H, Ouhara K, Kawai T, Yamada S, Fujiwara T, Shiba H, Kurihara H, Taubman MA, Sugai M: Susceptibility of periodontopathogenic and cariogenic bacteria to defensins and potential therapeutic use of defensins in oral diseases. *Curr Pharm Des*, 13: 3084-3095, 2007.
- 21) Ouhara K, Komatsuzawa H, Yamada S, Shiba H, Fujiwara T, Ohara M, Sayama K, Hashimoto K, Kurihara H, Sugai M: Susceptibilities of periodontopathogenic and cariogenic bacteria to antibacterial peptides, β -defensins and LL37, produced by human epithelial cells. *J Antimicrob Chemother*, 55: 888-896, 2005.
- 22) Tanaka D, Miyasaki KT, Lehrer RI: Sensitivity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Capnocytophaga* spp. to the bactericidal action of LL-37: a cathelicidin found in human leukocytes and epithelium. *Oral Microbiol Immunol*, 15: 226-231, 2000.
- 23) de Haar SF, Hiemstra PS, van Steenberg MT, Everts V, Beertsen W: Role of polymorphonuclear leukocyte-derived serine proteinases in defense against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun*, 74: 5284-5291, 2006.
- 24) Hosokawa I, Hosokawa Y, Komatsuzawa H, Goncalves RB, Karimbux N, Napimoga MH, Seki M, Ouhara K, Sugai M, Taubman MA, Kawai T: Innate immune peptide LL-37 displays distinct expression pattern from beta-defensins in inflamed gingival tissue. *Clin Exp Immunol*, 146: 218-225, 2006.
- 25) Gutner M, Chaushu S, Balter D, Bachrach G: Saliva enables the antimicrobial activity of LL-37 in the presence of proteases of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*, 77: 5558-5563, 2009.
- 26) Ji S, Hyun J, Park E, Lee BL, Kim KK, Choi Y: Susceptibility of various oral bacteria to antimicrobial peptides and to phagocytosis by neutrophils. *J Periodontol Res*, 42: 410-419, 2007.
- 27) Fukumoto K, Nagaoka I, Yamataka A, Kobayashi H, Yanai T, Kato Y, Miyano T: Effect of antibacterial cathelicidin peptide CAP18/LL-37 on sepsis in neonatal rats. *Pediatr Surg Int*, 21: 20-24, 2005.
- 28) Scott MG, Davidson DJ, Gold MR, Bowdish D, Hancock RE: The human antimicrobial peptide LL-37 is a multifunctional modulator of innate immune responses. *J Immunol*, 169: 3883-3891, 2002.
- 29) Mookherjee N, Brown KL, Bowdish DM, Doria S, Falsafi R, Hokamp K, Roche FM, Mu R, Doho GH, Pistolic J, Powers JP, Bryan J, Brinkman FS, Hancock RE: Modulation of the TLR-mediated inflammatory response by the endogenous human host defense peptide LL-37. *J Immunol*, 176: 2455-2464, 2006.
- 30) Alalwani MS, Sierigk J, Herr C, Pinkenburg O, Gallo R, Vogelmeier C, Bals R: The antimicrobial peptide LL-37 modulates the inflammatory and host defense response of human neutrophils. *Eur J Immunol*, 2010.
- 31) Barlow PG, Li Y, Wilkinson TS, Bowdish DM, Lau YE, Cosseau C, Haslett C, Simpson AJ, Hancock RE, Davidson DJ: The human cationic host defense peptide LL-37 mediates contrasting effects on apoptotic pathways in different primary cells of the innate immune system. *J Leukoc Biol*, 80: 509-520, 2006.
- 32) Nagaoka I, Tamura H, Hirata M: An antimicrobial cathelicidin peptide, human CAP18/LL-37, suppresses neutrophil apoptosis via the activation of formyl-peptide receptor-like 1 and P2X7. *J Immunol*, 176: 3044-3052, 2006.
- 33) Kinane DF, Chestnutt IG: Smoking and periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 11: 356-365, 2000.