

歯周病とプロスタグランジン

野口 和行

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 先進治療科学専攻
顎顔面機能再建学講座 歯周病態制御学分野

Periodontal diseases and prostaglandins

Kazuyuki Noguchi

Department of Periodontology, Field of Oral and Maxillofacial Rehabilitation,
Advanced Therapeutics Course,
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences,
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

Abstract

It is clear that prostanoids including prostaglandin E₂ (PGE₂) are involved in the pathogenesis of periodontal diseases, because a lot of studies have indicated that in animal models and humans traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs inhibit progression of the diseases. Recent researches have shown that cyclooxygenase-2, which is an inducible prostaglandin-endoperoxide synthase in response to pro-inflammatory molecules, plays a crucial role in prostaglandin production in periodontal lesions. Monocytes/macrophages, gingival fibroblasts and periodontal ligament cells can produce PGE₂ via cyclooxygenase-2 after stimulation with interleukin-1, tumor necrosis factor α and lipopolysaccharides. PGE₂ exerts a variety of pro-inflammatory actions including osteoclast formation. Furthermore, selective cyclooxygenase-2 inhibitors are as efficacious as traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs for inhibition of progression of periodontal diseases in animal models. Therefore, cyclooxygenase-2 inhibitors may be effective for a host modulatory therapy of periodontal diseases, but clinical studies with great care are necessary to prove it, based on the understanding of the advantages and disadvantages of cyclooxygenase-2 inhibitors.

Key words: periodontal disease, prostanoid, prostaglandin E₂, cyclooxygenase

はじめに

歯周病は歯周病原性細菌によって惹起される炎症性疾患であるが、その発症進行には歯周病原性細菌の病原性とともに、宿主細胞の生体応答が関与している。

宿主細胞は基本的には歯周病原性細菌の侵入、感染から生体を防御し、治療反応を促進しようとしている。宿主の防御応答システムとしては、多形核白血球による歯周病原性細菌の貪食作用、殺菌作用、マクロファ-

ジヤリンパ球の免疫担当細胞による自然免疫あるいは獲得免疫が中心であるが、これらの細胞は歯肉上皮細胞、歯肉線維芽細胞、歯根膜細胞、骨芽細胞、血管内皮細胞などの常在の歯周組織構成細胞とともにネットワークを形成して、種々のサイトカイン、エイコサノイド、細胞接着分子を媒介した相互作用のもとに感染防御機能を担い、生体のホメオスタシスを維持している(図1)。一方歯周病原性細菌は様々な病原因子を産生し、生体の防御機構を回避しようとしている。生体の防御機構を回避できると、歯周病原性細菌は歯周ポケットという生体の特殊な環境下に定着、増殖、バイオフィルムの形成によって、歯周組織では持続的な炎症反応、免疫反応を惹起させている。このような生体応答過程で、本来細菌感染への防御作用ために多形核白血球から産生されたプロテアーゼや活性酸素種が組織傷害に作用し、マクロファージや線維芽細胞などの宿主細胞から炎症関連物質である炎症性サイトカイン(interleukin(IL)-1, IL-6, tumor necrosis factor(TNF) α など)およびプロスタノイド(prostaglandin(PG) E_2 など)が過剰に産生され、組織破壊を誘導していると考

えられている。IL-1やTNF α はマクロファージ、線維芽細胞などに作用して matrix metalloproteinase(MMP)産生を亢進、活性化させ、結合組織の破壊に関与し、IL-1, IL-6, TNF α , PGE $_2$ は骨芽細胞/ストロマ細胞に receptor activator of NF-kB ligand(RANKL)を発現させ、破骨細胞を誘導し、骨吸収を生じさせるなど、歯周病の病態形成に関与していることが明らかにされてきている(1)。さらに最近では歯周病は歯周局所の炎症にとどまらず、心脈管系疾患、糖尿病、誤嚥性肺炎、早産・低体重児出産など全身的疾患と関係することが報告され、歯周医学 periodontal medicine が大きな関心を呼んでいる。

宿主細胞は、歯周組織の破壊へと導く炎症関連分子の産生とともに、抗炎症性サイトカイン IL-4, IL-10, IL-13, IL-1 receptor antagonist(IL-1ra), tissue inhibitor of metalloproteinase, osteoprotegerin(OPG)などの抗炎症性関連分子も同時に産生して、生体応答を正負に調節している。すなわち、歯周生体応答は炎症関連分子と抗炎症関連分子の均衡によって調節され、炎症関連分子の産生が過剰になれば、より組織破壊機構が働き、

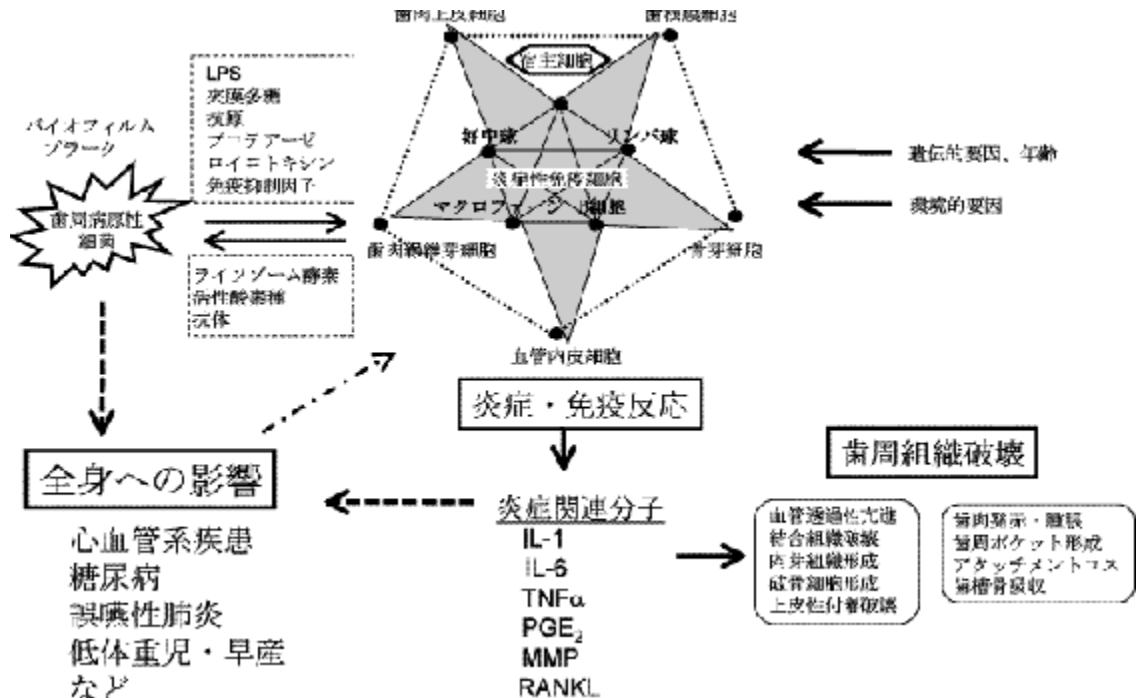


図1. 歯周病原性細菌に対する生体応答と組織破壊のモデル

抗炎症関連分子の産生が優位であれば、歯周病の進行が抑制されていると思われる(図2)。本総説では、歯周病の病因におけるプロスタグランジン、特に PGE₂ の作用を中心に述べてみたい。

・プロスタノイド合成

プロスタグランジンやトロンボキサンなどのプロスタノイドは炎症、免疫反応、妊娠、生殖、心血管病変、発癌などの生理的あるいは病理的状态において様々な作用を担っている脂質性分子である。種々の刺激により、細胞膜のリン脂質からフォスホリパーゼ A₂ によって遊離されたアラキドン酸はプロスタグランジン

合成酵素である cyclooxygenase (COX) によってプロスタノイドへと代謝される。代表的な生物活性のあるプロスタノイドとして PGD₂、PGE₂、PGF_{2α}、PGI₂ (prostacyclin)、thromboxane A₂ がある(図3)。これらのプロスタノイドはプロスタノイドレセプターを介して作用を発揮するが、このレセプターは、PGE₂レセプターの場合は EP レセプターと呼ばれ、PGF_{2α}、PGD₂、PGI₂、thromboxane A₂ のレセプターはそれぞれ FP、DP、IP、TP と名付けられている(2)。

プロスタグランジン合成酵素である COX には COX-1 と COX-2 という2つのアイソフォームの存在が1990年代になって同定された(3, 4)。一般的に COX-1 は多くの組織に構成的に発現し、器官や組織の恒常性を維持するために必要なプロスタノイド産生に関わっているのに対し、COX-2 は IL-1、TNFα、lipopolysaccharide (LPS) などの起炎症因子の刺激によって誘導され、炎症時には発現が亢進している(5)。最近では COX-3 の存在も報告されている(6)。血小板、胃、腎臓では COX-1 の発現レベルが高く、血小板凝集、胃腸系器官のホメオスタシス、腎血流の調節に関与している。一方、COX-2 は炎症や癌のような病的状態におけるプロスタノイド合成に関与している。非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) の抗炎症作用・鎮痛作用の作用

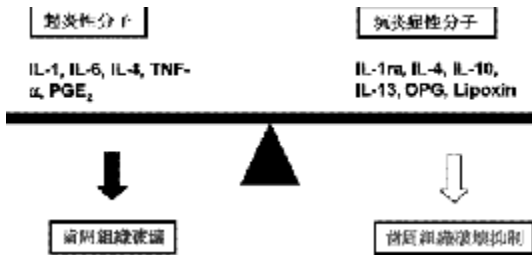
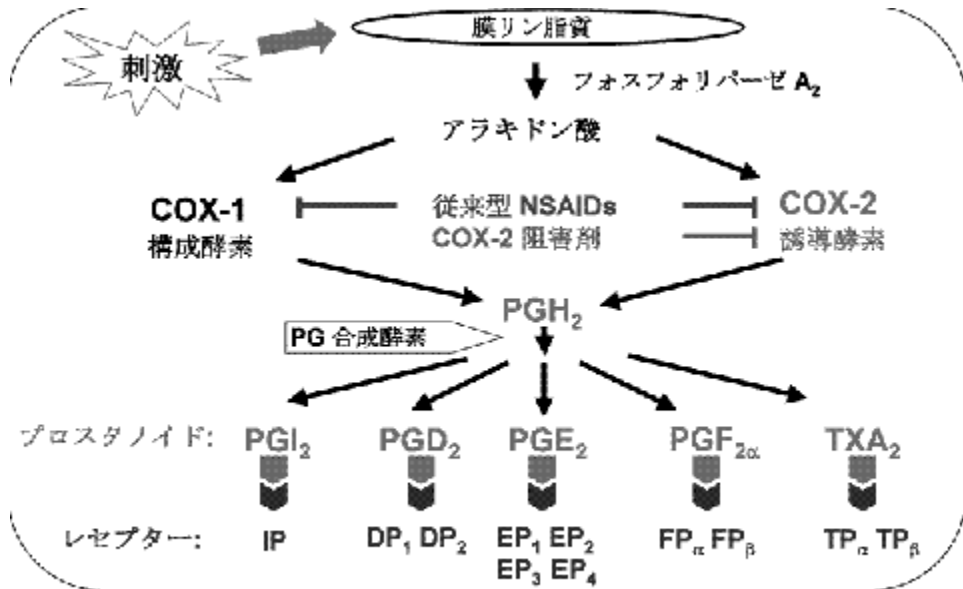


図2. 起炎症性分子と抗炎症性分子の相互作用



PG, prostaglandin; NSAIDs, 非ステロイド性抗炎症薬; COX, cyclooxygenase

図3. プロスタノイド合成経路

機序はこの COX-1 と COX-2 の両方の酵素の活性阻害にあるが、これまでの NSAIDs には胃粘膜障害や消化器出血などの副作用が発生することがある。この副作用は、従来の NSAIDs は生理的な作用をもつプロスタノイドを産生する COX-1 の活性を抑制することに起因しており、NSAIDs の抗炎症効果や抗腫瘍作用は COX-2 の抑制に依存しているという仮説が提案されている(5,7)。このようなことから、より副作用の少ない効果的な抗炎症薬として、COX-2 に選択性の高い阻害剤が開発されてきている。実際、選択的 COX-2 阻害剤は疼痛や炎症の治療に従来の NSAIDs と同等の効果を示し、しかも胃潰瘍を生じにくいことが示されている。COX-2 阻害剤は術後の歯痛の緩和にも有効であることが報告されている。選択的 COX-2 阻害剤として NS-398, nimesulide, etodolac, meloxicam, celecoxib, rofecoxib, etoricoxib, paracoxib, valdecoxib, lumiracoxib などが既に開発されている。ごく最近、従来型の非ステロイド性抗炎症薬である naproxen に比べて rofecoxib を長期服用すると心発作、突然心停止の危険性が高まることが報告された(8)。COX-2 は正常状態でも血管内皮細胞、腎臓、脳に発現が認められており、生理的機能の調節にも関与していると考えられる(9)。

・ PGE₂ レセプター

PGE₂ には発熱、疼痛、血管拡張、骨吸収、骨形成などの多彩な、しかし時には相反する作用がある。このような PGE₂ の多様な作用は、細胞膜上に複数の PGE₂ レセプター (EPレセプター) の存在によると考えられている。これまで4種の PGE₂ レセプターのサブタイプが明らかにされ、これらのレセプターは EP₁, EP₂, EP₃, EP₄ と名付けられている。PGE₂ の EPレセプターへの結合親和性は K_d 値が 0.33 から 25nM という100倍の範囲で EP₃>EP₄>>EP₂>EP₁ の順である(10)。

ヒト EP₁ レセプター cDNA は402個のアミノ酸をコードしている。EP₁ レセプターが活性化されると細胞内情報伝達系としてイノシトール3リン酸が産生され、細胞内カルシウムレベルが上昇する。ヒト EP₂ レセプターの cDNA は358アミノ酸をコードし、EP₂ レセプターが活性化されると細胞内 cyclic AMP が上昇する。EP₂ レセプターは butaprost によって選択的に活性化される。EP₃ レセプターにはヒトでは少なくとも8つの EP₃ レセプターアイソフォームが同定されている。EP₃ レセプターは細胞内 cyclic AMP を抑制する Gi 型の G タンパクとして同定されたが、スプライスパリアント

には cyclic AMP の亢進やイノシトール3リン酸の産生へとつながるものも存在することが示されている。EP₄ レセプターは G_s 型の G タンパクに共役しており、アデニル酸シクラーゼを活性化し、細胞内 cyclic AMP を上昇させる。EP₂ レセプターに比べて、EP₄ レセプターには短期脱感作を受けるのに必要な長い C 末端鎖があり、刺激後インターナリゼーションを受ける。最近、機能的な EP レセプター (EP₁, EP₃, EP₄) の発現が細胞の核膜上にも存在することが明らかにされている。

・ 歯周病とプロスタグランジン

これまでの多くの研究により、プロスタノイドの中で、特に PGE₂ が歯周病の病因に関与していることが指摘されてきた。歯周病患者の歯肉組織や歯肉溝滲出液中では PGE₂ レベルが健常者のそれに比べて亢進している(11)。従来型の非ステロイド性抗炎症薬である indomethacin, flurbiprofen, ibuprofen, naproxen, meclofenamic acid, piroxicam, ketoprofen を実験動物の歯周炎モデルに投与すると歯周病の進行が抑制されることが報告されている。ヒトにおいても関節炎や強直性脊椎炎の治療のため非ステロイド性抗炎症薬を服用している場合には、歯周病の進行が抑制されることが示されている。Williams ら(12)は flurbiprofen の服用により慢性歯周炎患者の歯槽骨喪失率が有意に低くなることを明らかにした。Naproxen や meclofenamate sodium は急速進行性歯周炎(侵襲性歯周炎)の治療に有効であることが報告されている。

・ 歯周病における PGE₂ 産生への COX-2 の関与

Cavanaugh ら(13)は免疫組織学的に炎症歯肉組織中には COX-1 と COX-2 タンパクが線維芽細胞、歯肉上皮細胞、血管内皮細胞、炎症性単核球に発現していることを示している。また Zhang ら(14)や Morton ら(15)は歯肉の炎症が強いほど COX-2 タンパクレベルが高いことを明らかにしている。最近、セメント芽細胞にも COX-2 タンパクの発現が誘導されることが示されている(16)。

培養単球 / マクロファージを *Actinobacillus actinomycetemcomitans* や *Porphyromonas gingivalis* などの歯周病原性細菌由来の LPS で刺激すると COX-2 の誘導を介して PGE₂ が産生される(17)。限局型侵襲性歯周炎患者の末梢単球の LPS 刺激による PGE₂ 産生能は健常者のそれに比べると亢進していることが報告されているが(18)、この PGE₂ 産生亢進が COX-2 発現の相違によるものかどうかはまだ明らかにされて

いない。

ヒト歯肉線維芽細胞も歯周病組織における主要な PGE₂ 産生源と考えられている。ヒト歯肉線維芽細胞を IL-1β で刺激するとチロシキナーゼ経路を介して誘導された COX-2 により PGE₂ を産生する(19)。TNFα と IL-1 が共存すると相乗的に PGE₂ 産生が亢進する。またヒト歯肉線維芽細胞は歯周病原性細菌の LPS 刺激によってもチロシキナーゼによって制御されている COX-2 を介して PGE₂ を産生する(20)。最近、レーザーによっても COX-2 発現が制御されることが示された(21)。

ヒト歯根膜細胞では、IL-1 が強力に COX-2 を誘導して PGE₂ を産生する(22)。メカニカルストレスも COX-2 を誘導できる(23)。TNFα は歯肉線維芽細胞と同じように歯根膜細胞においても弱い PGE₂ 産生因子であるが、IL-1 との作用により相乗的に PGE₂ を産生する。

歯肉上皮細胞では、血清刺激により COX-2 を介して PGE₂ 産生が生じる(24)。口腔扁平上皮癌細胞を用いた研究では、TNFα や IL-1β によって COX-2 mRNA およびタンパクが発現することが示されている(14)。喫煙者の口腔粘膜には非喫煙者に比べて4倍の COX-2 が発現し、喫煙により口腔上皮細胞に COX-2 の誘導および PGE₂ 産生が生じる(25)。歯肉上皮細胞は IL-1 を含め起炎性サイトカインの産生源であることも示さ

れている(26)。従って、歯肉上皮細胞は炎症反応を調節する重要な細胞であると思われる。

生体内にはプロスタグランジン産生を抑制する内在性の抑制因子がいくつか存在する。グルココルチコイドは COX-2 の発現の抑制によりプロスタグランジン産生を抑制する(27)。グルココルチコイドの他に、IL-4、IL-10、IL-13 は抗炎症性サイトカインとしてよく知られている。さらにヒト単球や好中球によるプロスタグランジン産生を COX-2 の発現抑制を介して抑制できる(28、29)。ヒト歯肉線維芽細胞や歯根膜細胞では、IL-4 は COX-1 発現に影響を与えず、COX-2 発現の抑制を介して IL-1 によって誘導される PGE₂ 産生を抑制し、IL-13 は IL-4 より作用は弱いやはり PGE₂ 産生を抑制する。さらに Th1 サイトカインである interferon γ もヒト歯肉線維芽細胞や歯根膜細胞において IL-1 によって誘導される PGE₂ 産生を抑制する。

以上のことから、歯周病変部における PGE₂ 産生には COX-2 が重要な役割を果たしている可能性が極めて高い。図4に示したように、歯周病変部では細胞-細胞間の相互作用により PGE₂ 産生を調節する促進的あるいは抑制的システムが存在しているかもしれない。

・特異的 COX-2 阻害剤の歯周病の進行に与える影響
前述したように、従来型の非ステロイド性抗炎症薬は歯周病の進行抑制に有効である。では選択的 COX-2

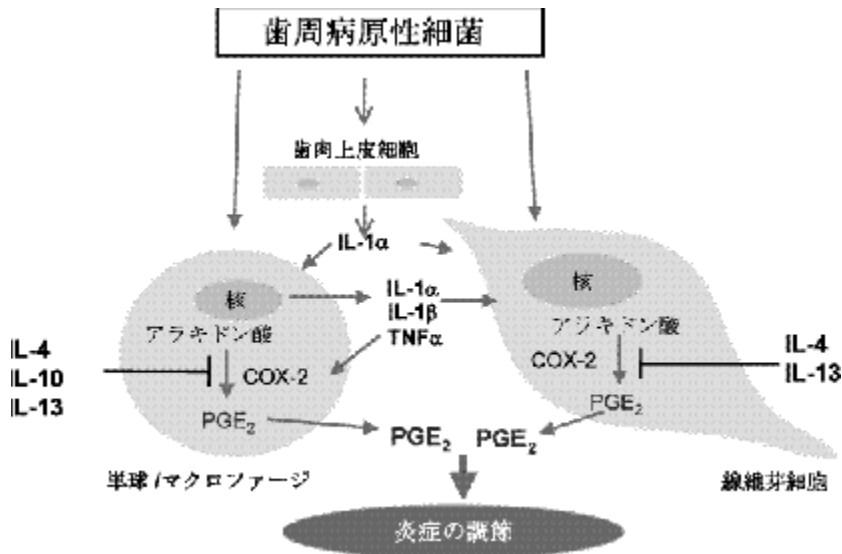


図4．歯周組織における PGE₂ 産生機構

阻害剤が歯周病の治療に有効であるかどうかは興味あるところである。ラットにおいてリガチャーによって惹起された実験的歯周炎の進行抑制に選択的 COX-2 阻害剤である meloxicam や NS-398 が有効であることが報告されている(30, 31)。これらの研究結果は、生体内において COX-2 が歯周炎の炎症や骨吸収に関与していることが示している。しかし、Holzhousen ら(32)はラットでのリガチャーによる歯周炎において選択的 COX-2 阻害剤である celecoxib が投与後18日目には骨吸収の抑制を示したが、30日目にはコントロールと有意な差がなかったことを示している。Buduneli らは(33)は慢性歯周炎患者において meloxicam が初期治療後すぐの歯肉溝滲出液中の collagenase-2 レベルを減少させる傾向を示したと報告している。重要なことであるが、COX-2 阻害剤であれ、従来型の非ステロイド性抗炎症薬であれ、薬剤の投与を中止すると、その効果は期待できなくなる。

Vardar ら(34)は10日間という短い期間であるが比較的 COX-2 に選択性の高い nimesulide を投与して慢性歯周炎の歯肉組織中の PGE₂ と PGF_{2α} レベルへの影響を調べたところ、初期治療後 1 週目に PGF_{2α} レベルに付加

的な抑制効果が認められたのに対し、PGE₂ レベルには有意な影響を与えなかったと報告している。さらに長期的な研究が選択的 COX-2 阻害剤が歯周治療の補助剤として有効かどうかを検討するために必要であろう。

・ PGE₂ の硬組織への影響

PGE₂ の作用の一つとして強力な骨吸収活性が知られている。多くの in vitro の研究により、PGE₂ は骨芽細胞やストローマ細胞に RANKL を誘導させ、破骨細胞を形成させることが明らかにされている。動物実験においても PGE₂ の局所投与により破骨細胞の数が著しく増加することが示されている。Sakuma ら(35)と Miyaura ら(36)は EP₄ 欠損マウスから得た細胞の培養系では PGE₂ による破骨細胞の形成が損なわれることを報告している。IL-1 α , TNF α , LPS, basic fibroblast growth factor などの起炎症刺激による破骨細胞形成では、COX-2 により産生される PGE₂ が EP₄ レセプターを介してその作用に関わっている。Suzawa ら(37)は PGE₂ による骨吸収が器官培養系で EP₄ レセプターと部分的には EP₂ レセプターを介していることを示している。さらに動物実験で LPS の全身的投与後の骨吸収に EP₄ が重要であ

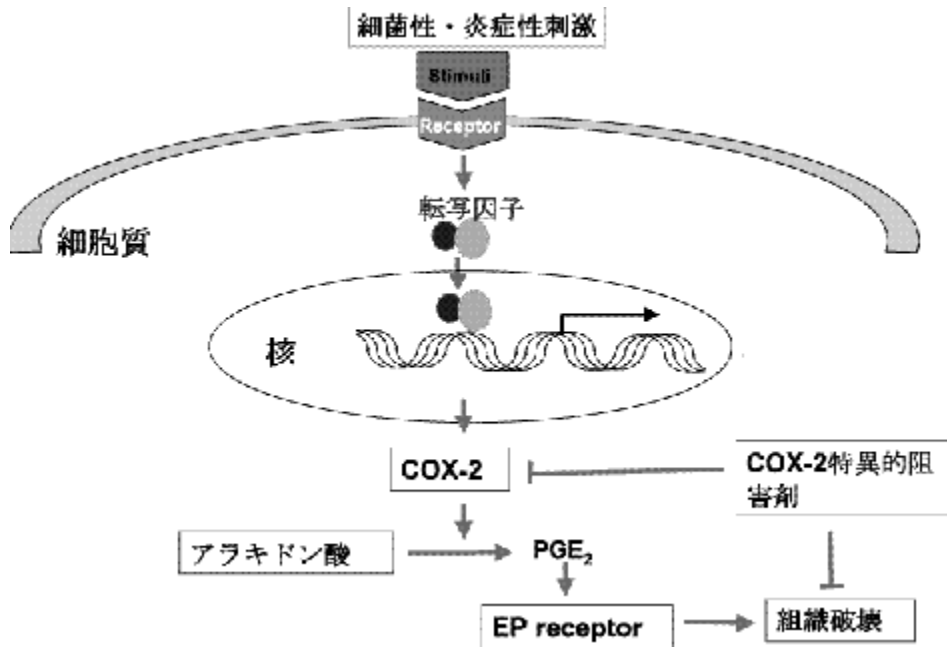


図5 . COX-2 阻害剤による歯周組織破壊の抑制

ることを明らかにされている。最近 Suda ら(38)は LPS と IL-1 による破骨細胞形成には COX-2 を介して産生される PGE₂ によって制御されている RANKL 発現の亢進と OPG 産生の抑制が重要であることを示している。

Oka ら(39)は PGE₂ がマウスセメント芽細胞に作用すると EP₄ レセプターを介して RANKL 発現の誘導および OPG 発現を抑制し、さらに破骨細胞の形成に関与することを報告している。ヒト歯根膜細胞においても、歯根膜細胞にメカニカルストレスを与えると PGE₂ 合成を介して RANKL 発現が亢進し、破骨細胞が生じることが証明されている(40)。また IL-1 β や LPS でヒト歯根膜細胞を刺激すると PGE₂ を介して RANKL が発現する(41, 42)。一方歯根膜細胞は IL-1 β で刺激されると OPG を産生し、その産生は内因性の PGE₂ によって抑制されている(43)。これらの結果は、起炎性刺激を受けた歯根膜細胞が RANKL と OPG 発現を制御することによって歯周組織における骨代謝に関与していることを示している。最近、ヒト歯肉線維芽細胞では PGE₂ が OPG 産生を亢進させることが明らかにされている(44)。

Yoshida ら(45)は PGE₂ は EP₄ レセプターを介して骨形成を生じさせることを証明している。さらに Zhang ら(46)は骨修復の間に内膜性骨化や軟骨性骨化に COX-2 が必要であり、core binding factor α 1 や osterix の発現誘導が COX-2 によって産生されるプロスタグランジン、おそらくは PGE₂ によって調節されていることを示している。このようなことから、プロスタグランジンが骨吸収だけでなく骨形成にも促進的に作用することが明らかにされてきている。PGE₂ は破骨細胞に直接作用すると EP₄ レセプターを介して骨吸収活性の抑制が生じる(47)。従って、PGE₂ は骨吸収と骨形成の両方に重要な役割を果たし、EP₄ レセプターは骨代謝の調節に関与しているかもしれない。

．おわりに

最近の研究によれば、COX-2 が歯周病変部におけるプロスタグランジン産生に主要な役割を果たしており、動物実験においては COX-2 阻害剤が従来型の非ステロイド性抗炎症薬と同程度に歯周病の進行の抑制に有効である。従って COX-2 特異的阻害剤が歯周治療の host modulatory agent として有効である可能性がある(図 5)。今後、COX-2 阻害剤の長所、短所を理解した上で COX-2 阻害剤の有用性を示すための臨床研究が注意深く行われる必要がある。

文 献

- 1) Page, R. C., Offenbacher, S., Schroeder, H. E., Seymour, G. J., and Kornman, K.S.: Advances in the pathogenesis of periodontitis; summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology* 2000, 14, 216-248, 1997
- 2) Narumiya, S., Sugimoto, Y., and Ichikawa, A.: Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol. Rev.*, 79, 1193-1226, 1999
- 3) Kujubu, D. A., Fletcher, B. S., Varnum, B. C., Lim, R. L., and Hershan, H. R.: TIS 10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J. Biol. Chem.*, 266, 12866-12872, 1991
- 4) Xie, W., Chipman, J. G., Robertson, D. L., Erikson, R. L., and Simmons, D. L.: Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 2692-2696, 1991
- 5) Vane, J. R.: Towards a better aspirin. *Nature*, 367, 215-216, 1994
- 6) Chandrasekharan, N. V., Dai, H., Roos, K. L., Evanson, N. K., Tomsik, J., Elton, T. S., and Simmons, D. L.: COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 13926-13931, 2002
- 7) Wallace, J. L., McKnight, W., Reuter, B.K., and Vergnolle, N.: NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology*, 119, 706-714, 2000
- 8) Juni, P., Nartey, L., Reichenbach, S., Sterchi, R., Dieppe, P. A., and Egger, M.: Risk of cardiovascular events and rofecoxib: cumulative meta-analysis. *Lancet*, 364, 2021-2029, 2004
- 9) FitzGerald, G. A.: COX-2 and beyond: Approaches to prostaglandin inhibition in human disease. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2, 879-890, 2003
- 10) Abramovitz, M., Adam, M., Boie, Y., Carriere, M., Denis, D., Godbout, C., Lamontagne, S., Rochette, C., Sawyer, N., Tremblay, N. M., Belley, M., Gallant, M., Dufresne, C., Gareau, Y., Ruel, R., Juteau, H., Labelle, M., Ouimet, N., and Metters, K. M.: The utilization of recombinant prostanoid receptors to determine the affinities and selectivities of prostaglandins

- and related analogs. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1483, 285-293, 2000
- 11) Offenbacher, S., Heasman, P. A., and Collins, J. G.: Modulation of host PGE₂ secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J. Periodontol.*, 64, 432-444, 1993
 - 12) Williams, R. C., Jeffcoat, M. K., Howell, T. H., Rolla, A., Stubbs, D., Teoh, K. W., Reddy, M. S., and Goldhaber, P.: Altering the progression of human alveolar bone loss with the non-steroidal anti-inflammatory drug flurbiprofen. *J. Periodontol.*, 60, 485-490, 1989
 - 13) Cavanaugh, Jr. P. F., McDonald, J. S., Pavelic, L., Limardi, R. J., Gluckman, J. L., and Pavelic, Z. P.: Immunohistochemical localization of prostaglandin H synthase isoenzyme proteins in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Inflammopharmacology*, 3, 109-119, 1995
 - 14) Zhang, F., Engebretson, S. P., Morton, R. S., Cavanaugh, P. F. Jr., Subbaramaiah, K., and Dannenberg, A. J.: The overexpression of cyclo-oxygenase-2 in chronic periodontitis. *J. Am. Dent. Assoc.*, 134, 861-867, 2003
 - 15) Morton, R. S. and Dongari-Bagtzoglou, A. I.: Cyclooxygenase-2 is up-regulated in inflamed gingival tissues. *J. Periodontol.*, 72, 461-469, 2001
 - 16) Miyauchi, M., Hiraoka, M., Oka, H., Sato, S., Kudo, Y., Ogawa, I., Noguchi, K., Ishikawa, I., and Takata, T.: Immuno-localization of COX-1 and COX-2 in the rat molar periodontal tissue after topical application of lipopolysaccharide. *Arch. Oral Biol.*, 49, 739-746, 2004
 - 17) Noguchi, K., Yanai, M., Shitashige, M., Nishihara, T., and Ishikawa, I.: Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin production by peripheral blood monocytes stimulated with lipopolysaccharides isolated from periodontopathogenic bacteria. *J. Periodontol.*, 71, 1568-1575, 2000
 - 18) Shapira, L., Soskolne, W. A., and Van Dyke, T. E.: Prostaglandin E₂ secretion, cell maturation, and CD14 expression by monocyte-derived macrophages from localized juvenile periodontitis patients. *J. Periodontol.*, 67, 224-228, 1996
 - 19) Yucel-Lindberg, T., Ahola, H., Carlstedt-Duke, J., and Modeer, T.: Involvement of tyrosine kinases on cyclooxygenase expression and prostaglandin E₂ production in human gingival fibroblasts stimulated with interleukin-1 β and epidermal growth factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 257, 528-532, 1999
 - 21) Pourzarandian, A., Watanabe, H., Ruwanpura, S. M., Aoki, A., Noguchi, K., and Ishikawa, I.: Er:YAG laser irradiation increases prostaglandin E production via the induction of cyclooxygenase-2 mRNA in human gingival fibroblasts. *J. Periodont. Res.*, 40, 182-186, 2005
 - 23) Shimizu, N., Ozawa, Y., Yamaguchi, M., Goseki, T., Ohzeki, K., and Abiko, Y.: Induction of COX-2 expression by mechanical tension force in human periodontal ligament cells. *J. Periodontol.*, 69, 670-677, 1998
 - 24) Noguchi, K., Shitashige, M., Endo, H., Kondo, H., Yotsumoto, Y., Izumi, Y., Nitta, H., and Ishikawa, I.: Involvement of cyclooxygenase-2 in serum-induced prostaglandin production by human oral gingival epithelial cells. *J. Periodont. Res.*, 36, 124-130, 2001
 - 25) Moraitis, D., Du, B., De Lorenzo, M. S., Boyle, J. O., Weksler, B. B., Cohen, E. G., Carew, J. F., Altorki, N. K., Kopelovich, L., Subbaramaiah, K., and Dannenberg, A. J.: Levels of cyclooxygenase-2 are increased in the oral mucosa of smokers: evidence for the role of epidermal growth factor receptor and its ligands. *Cancer Res.*, 65, 664-670, 2005
 - 26) Sfakianakis, A., Barr, C. E., and Kreutzer, D. L.: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-induced expression of IL-1 α and IL-1 β in human gingival epithelial cells: role in IL-8 expression. *Eur. J. Oral Sci.*, 109, 393-401, 2001
 - 27) Masferrer, J. L., Reddy, S. T., Zweifel, B. S., Seibert, K., Needleman, P., Gilbert, R. S., and Herschman, H. R.: In vivo glucocorticoids regulate cyclooxygenase-2 but not cyclooxygenase-1 in peritoneal macrophages. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 270, 1340-1344, 1994
 - 28) Niiro, H., Otsuka, T., Izuhara, K., Yamaoka, K., Ohshima, K., Tanabe, T., Hara, S., Nemoto, Y., Tanaka, Y., Nakashima, H., and Niho, Y.: Regulation by interleukin-10 and interleukin-4 of cyclooxygenase-2 expression in human neutrophils. *Blood*, 89, 1621-1628, 1997
 - 29) Niiro, H., Otsuka, T., Tanabe, T., Hara, S., Kuga, S., Nemoto, Y., Tanaka, Y., Nakashima, H., Kitajima, S.,

- Abe, M., and Niho, Y.: Inhibition by interleukin-10 of inducible cyclooxygenase expression in lipopolysaccharide-stimulated monocytes: its underlying mechanism in comparison with interleukin-4. *Blood*, 85, 3736-3745, 1995
- 30) Bezerra, M.M., de Lima, V., Alencar, V. B., Vieira, I. B., Brito, G. A., Ribeiro, R. A., and Rocha, F. A.: Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J. Periodontol.*, 71, 1009-1014, 2000
- 31) Lohinai, Z., Stachlewitz, R., Szekely, A. D., Feher, E., Dezs, L., and Szabo, C.: Evidence for the expression of cyclooxygenase-2 enzyme in periodontitis. *Life Sci.*, 70, 279-290, 2001
- 32) Holzhausen, M., Rossa, Jr. C., Marcantonio, Jr. E., Nassar, P. O., Spolidorio, D. M., and Spolidorio, L. C.: Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J. Periodontol.*, 73, 1030-1036, 2002
- 33) Buduneli, N., Vardar, S., Atilla, G., Sorsa, T., Luoto, H., and Baylas, H.: Gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels following adjunctive use of meloxicam and initial phase of periodontal therapy. *J. Periodontol.*, 73, 103-109, 2002
- 34) Vardar, S., Baylas, H., and Huseyinov, A.: Effects of selective cyclooxygenase-2 inhibition on gingival tissue levels of prostaglandin E₂ and prostaglandin F_{2α} and clinical parameters of chronic periodontitis. *J. Periodontol.*, 74, 57-63, 2003
- 35) Sakuma, Y., Tanaka, K., Suda, M., Yasoda, A., Natsui, K., Tanaka, I., Ushikubi, F., Narumiya, S., Segi, E., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., and Nakao, K.: Crucial involvement of the EP4 subtype of prostaglandin E receptor in osteoclast formation by proinflammatory cytokines and lipopolysaccharide. *J. Bone Miner. Res.*, 15, 218-227, 2000
- 36) Miyaura, C., Inada, M., Suzawa, T., Sugimoto, Y., Ushikubi, F., Ichikawa, A., Narumiya, S., and Suda, T.: Impaired bone resorption to prostaglandin E₂ in prostaglandin E receptor EP4-knockout mice. *J. Biol. Chem.*, 275, 19819-19823, 2000
- 37) Suzawa, T., Miyaura, C., Inada, M., Maruyama, T., Sugimoto, Y., Ushikubi, F., Ichikawa, A., Narumiya, S., and Suda, T.: The role of prostaglandin E receptor subtypes (EP1, EP2, EP3, and EP4) in bone resorption: an analysis using specific agonists for the respective EPs. *Endocrinology*, 141, 1554-1559, 2000
- 38) Suda, K., Udagawa, N., Sato, N., Takami, M., Itoh, K., Woo, J. T., Takahashi, N., and Nagai, K.: Suppression of osteoprotegerin expression by prostaglandin E₂ is crucially involved in lipopolysaccharide-induced osteoclast formation. *J. Immunol.*, 172, 2504-2510, 2004
- 39) Oka, H., Miyauchi, M., Sakamoto, K., Moriwaki, S., Niida, S., Noguchi, K., Somerman, M. J., and Takata, T.: PGE₂ activates cementoclastogenesis by cementoblasts by EP4. *J. Dent. Res.*, 86, 974-979, 2007
- 40) Kanzaki, H., Chiba, M., Shimizu, Y., and Mitani, H.: Periodontal ligament cells under mechanical stress induce osteoclastogenesis by receptor activator of nuclear factor κB ligand up-regulation via prostaglandin E₂ synthesis. *J. Bone Miner. Res.*, 17, 210-220, 2002
- 41) Nukaga, J., Kobayashi, M., Shinki, T., Song, H., Takada, T., Takiguchi, T., Kamiyo, R., and Hasegawa, K.: Regulatory effects of interleukin-1β and prostaglandin E₂ on expression of receptor activator of nuclear factor-κB ligand in human periodontal ligament cells. *J. Periodontol.*, 75, 249-259, 2004
- 42) Tiranathanagul, S., Yongchaitrakul, T., Pattamapun, K., and Pavasant, P.: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide activates matrix metalloproteinase-2 and increases receptor activator of nuclear factor-κB ligand expression in human periodontal ligament cells. *J. Periodontol.*, 75, 1647-1654, 2004
- 43) Sakata, M., Shiba, H., Komatsuzawa, H., Fujita, T., Uchida, Y., Yoshino, H., Ogawa, T., Kawaguchi, H., and Kurihara, H.: Osteoprotegerin levels increased by interleukin-1β in human periodontal ligament cells are suppressed through prostaglandin E₂ synthesized de novo. *Cytokine*, 18, 133-139, 2002
- 44) Hormdee, D., Nagasawa, T., Kiji, M., Yashiro, R., Kobayashi, H., Koshy, G., Noguchi, K., Nitta, H., and Ishikawa, I.: Protein kinase A-dependent osteoprotegerin production on interleukin-1 stimulation in human gingival fibroblasts is distinct from periodontal ligament fibroblasts. *Clin. Exp. Immunol.*, 142, 490-497, 2005
- 45) Yan, M., Noguchi, K., Ruwanpura, S. M., and Ishikawa, I.: Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin (PG) E₂ down regulates matrix metalloproteinase-3 production via EP2/EP4 subtypes of PGE₂ receptors

- in human periodontal ligament cells stimulated with interleukin-1 α . *J. Periodontol.*, 76, 929-935, 2005
- 46) Zhang, X., Schwarz, E. M., Young, D. A., Puzas, J. E., Rosier, R. N., and O'Keefe, R. J.: Cyclooxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. *J. Clin. Invest.*, 109, 1405-1415, 2002
- 47) Mano, M., Arakawa, T., Mano, H., Nakagawa, M., Kaneda, T., Kaneko, H., Yamada, T., Miyata, K., Kiyomura, H., Kumegawa, M., and Hakeda, Y.: Prostaglandin E₂ directly inhibits bone-resorbing activity of isolated mature osteoclasts mainly through the EP₄ receptor. *Calcif. Tissue Int.*, 67, 85-92, 2000