歯周病の病因におけるプロスタグランジンの 産生機構とその役割の解明について

野 口 和 行

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
生体硬組織再生学講座歯周病学分野

Elucidation of Production Mechanisms and Roles of Prostaglandins in the Pathogenesis of Periodontal Diseases

Kazuyuki Noguchi

Periodontology, Department of Hard Tissue Engineering, Tokyo Medical and Dental University

要旨：これまでの研究により，prostaglandin (PG) E_2 が歯周病の病因に関連することが示されてきた。この PGE_2 の産生機構として，免疫組織学的研究，培養細胞あるいは動物実験の研究から，炎症性誘導型 PG 合成酵素である cyclooxygenase-2 (COX-2) が重要な働きをしていることが明らかにされた。 PGE_2 は血管透過性亢進作用や骨吸収作用などの起炎症的作用を有している一方，炎症性サイトカインの産生抑制作用，また骨形成作用を示す場合があるなど抗炎症的作用の側面もある。これらの PGE_2 の作用は4種類のサブタイプからなる PGE_2 レセプター (EP_1 , EP_2 , EP_3 , EP_4) を介して発揮される。今後，PG と歯周病の病態との関連がより明らかとなり，有効な歯周病治療薬の開発へと繋がる可能性が期待される。

はじめに

高度不飽和脂肪酸であるアラキドン酸（炭素数 20，二重結合数 4）がシクロオキシゲナーゼ（cyclooxygenase；COX）経路によって代謝されると，プロスタグランジン（prostaglandin；PG）とトロンボキサン（thromboxane；TX）より成る脂質性生理活性物質プロスタノイド（prostanoid）が産生される。このプロスタノイドの生物活性は極めて多彩であり，生体の機能調節に重要な役割を果たすメディエーターあるいはモデュレーターである。歯周病の研究領域では，1974 年に Goodson ら¹⁾が炎症歯肉組織中の PGE_2 レベルが亢進していることを示して以来，歯周病と PG，特に PGE_2 に関連する数多くの研究がなされてきた。本総説では，歯周病における PG の産生機構と PGE_2 を中心にその役割について述べる。

I. プロスタグランジンの生合成

図 1 に示したように，プロスタノイド産生にはいく

つかのステップが重要である。すなわち，① 膜リン脂質よりホスホリパーゼ A_2 (phospholipase A_2) によるアラキドン酸の遊離，② 遊離したアラキドン酸の COX による PGH_2 への代謝，③ PGH_2 から合成酵素による各種 PG の産生，である。生理的に重要な

図 1 プロスタノイド合成経路

表 1 ヒト COX-1 と COX-2 の比較

	COX-1	COX-2
遺伝子の性格	housekeeping gene 構成型酵素	immediate early gene 誘導型酵素
mRNA サイズ	2.8 kb	4 kb
アミノ酸数	599	604
相同性	61%	
発現細胞	ほとんどすべての細胞 (血小板, 胃, 腎, 精囊)	誘導刺激後の 炎症関連細胞など
生理的役割	血小板凝集, 胃粘膜保護	炎症反応など
細胞内局在	小胞体, 核膜	小胞体, 核膜
グルコシルコリド による阻害	影響なしあるいは弱い	発現抑制
遺伝子座	第 9 染色体 (q 32-33.3)	第 1 染色体 (q 25.2-25.3)

プロスタノイドとして PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGI_2 , TXA_2 が挙げられる。

1971 年に Vane ら²⁾ によって aspirin や indomethacin などの非ステロイド性抗炎症薬 (non-steroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs) の作用機序が PG 合成阻害によるものであることが明らかにされて以来, 抗炎症薬のターゲットとして COX に注目が集められてきた。この COX に 2 種類のアイソザイムが存在することが近年明らかにされた^{3,4)}。すなわち, 多くの組織および細胞において常時発現している構成型酵素である COX-1 と, 一般に正常状態では有意量で認められないが, interleukin (IL)-1, tumor necrosis factor α (TNF α), lipopolysaccharide (LPS) などの炎症性因子, 成長因子, ホルモンなどによって急速に誘導される誘導型酵素である COX-2 である。表 1 に COX 1 と COX 2 の特徴をまとめた。グルコシルコリドの抗炎症作用の機序の一つとして, COX-2 の発現抑制による PG 産生抑制が挙げられている。COX-1 の機能として, 血小板, 腎, 胃などにおいて恒常的に産生される PG 産生に関与し, 血小板凝集, 利尿, 胃酸分泌などを調節しているのに対し, COX-2 は炎症や癌などの病態に関係する PG の産生に関与していると考えられている⁵⁾。COX-1 と COX-2 の両方の活性を抑制する従来の NSAIDs の副作用として消化器潰瘍, 出血傾向, 腎障害が知られているが, これは COX-1 による生理的な作用をもつ PG の産生を抑制してしまうためと考えられている。従って COX-2 特異的阻害剤は消化器潰瘍などの副作用を軽減すると同時に従来の NSAIDs と同様に抗炎症作用を示す可能性が高く, よりすぐれた抗炎症薬になるのではないかと期待されている。NS-398,

nimesulide, meloxicam, celecoxib, rofecoxib など COX-2 特異的阻害剤が知られているが, celecoxib や rofecoxib は変形性関節炎などに既に臨床応用され, 消化器潰瘍の頻度が従来の NSAIDs より少ない⁶⁾。最近, NSAIDs による胃潰瘍は COX-1 の活性の抑制だけでは生じず, COX-1, -2 の両活性の抑制に起因している可能性が示唆されている⁷⁾。歯科領域でも抜歯後疼痛の抑制に celecoxib や rofecoxib が有効であることが報告されており⁸⁾, 将来歯科領域にも臨床応用されるものと思われる。

II. PGE_2 の作用

PGE_2 は生理的, 病理的状态において様々な作用を発揮する。一般的には発熱, 発痛, 血管透過性亢進, 骨吸収作用など起炎的作用が知られている。生理的な作用として, 胃粘膜保護作用, 腎血流量調節作用などがある。

これらの PGE_2 の作用は標的細胞において特異的な受容体を介して発揮される。 PGE_2 レセプターは EP レセプターと称され, EP_1 , EP_2 , EP_3 , EP_4 の 4 種類のサブタイプが存在する (表 2)。各レセプターの基本的構造はいずれも 7 回膜貫通型で G 蛋白質と共役するロドプシン型である⁹⁾。 EP_1 は細胞内 Ca^{2+} の上昇を惹起し, EP_2 および EP_4 は Gs タンパクと関連し, アデニル酸シクラーゼを活性化し, 細胞内 cAMP を上昇させる。 EP_3 は主として Gi タンパクを介したアデニル酸シクラーゼの抑制である。 EP_3 にはいくつかのスプライシングバリエーションが存在し, それぞれ異なった情報伝達を行う場合がある。ほとんどの PG レセプターは細胞膜に存在しているが, EP_1 ,

表 2 PGE₂ レセプターの性質およびそのノックアウトマウスの表現型

	分子量 (kDa)	セカンド メッセンジャー	G 蛋白	ノックアウトマウスの表現型
EP ₁	42	[Ca ²⁺] i ↑	?	結腸ポリープ形成抑制
EP ₂	39	cAMP ↑	G _s	受精障害, 破骨細胞形成抑制, 食塩感受性高血圧
EP ₃	40-45	cAMP ↓	G _i	発熱反応障害
EP ₄	53	cAMP ↑	G _s	動脈管開存, 炎症性骨吸収抑制

EP₃, EP₄ のレセプターは一部核膜に存在している。

最近発表された EP レセプターノックアウトマウスの研究結果では, EP₂ および EP₄ ノックアウトマウスでは, PGE₂ による破骨細胞の形成能が減少している^{10,11)}。EP₃ ノックアウトマウスでは発熱反応の障害をきたしている。

III. 炎症歯肉組織および歯肉溝滲出液における PGE₂

Goodson らの研究を含め, 多くの研究が炎症歯肉組織中では健康歯肉組織中よりも PGE₂ レベルが約 10-20 倍亢進していることを示している^{1,12)}。歯肉溝滲出液 (GCF) 中にも PGE₂ が検出され, そのレベルは歯肉組織中の PGE₂ レベルと相関していることから, GCF PGE₂ レベルは歯肉組織の状態を知るのに有用であると考えられている。Offenbacher ら¹³⁾ は, GCF PGE₂ レベルとアタッチメントレベルの喪失との関係を経時的に調べたところ, GCF PGE₂ レベルがアタッチメントロスが生じる予知因子となる可能性を示した。さらに, 近年歯周病と低体重児との関連が報告されてきているが¹⁴⁾, GCF 中の PGE₂ 量と羊水中の PGE₂ 量に正の相関関係が認められることが示され, GCF 中の PGE₂ 量の測定による, 低体重児出産の診断への応用の可能性も指摘されている¹⁵⁾。

IV. 歯周組織におけるプロスタグランジン産生機構

炎症性歯肉組織における COX-1, COX-2 タンパクの発現を免疫組織学的に調べると, 両酵素とも単核性炎症性細胞, 血管内皮細胞, 線維芽細胞, 歯肉上皮細胞に発現していることが示されている^{16,17)}。Morton ら¹⁸⁾ は COX-2 タンパク発現のレベルを評価し, 炎症の強い組織ほど COX-2 タンパクをより強く発現していることを報告した。

培養細胞を用いた研究では, PGE₂ の主要な産生源である単球/マクロファージを *Actinobacillus*

actinomycetemcomitans (*A. actinomycetemcomitans*) および *Porphyromonas gingivalis* の LPS で刺激した場合, PGE₂ 産生は COX-2 特異的阻害剤 NS-398 によって完全に抑制される。さらに LPS 刺激後の COX-1 のタンパク発現, mRNA 発現はほとんど変化がないのに対し, COX-2 のタンパクおよび mRNA 発現は亢進することから, 歯周病原性細菌由来 LPS 刺激によって産生される PGE₂ は COX-2 に依存している¹⁹⁾。ヒト歯肉線維芽細胞においても LPS あるいは IL-1 β の刺激により COX-2 が誘導され, PGE₂ が産生される^{20,21)}。ヒト歯根膜細胞では IL-1 刺激だけでなく機械的ストレスによっても COX-2 が誘導され, PGE₂ が産生される^{22,23)}。歯肉上皮細胞においても血清刺激によって COX-2 が誘導されて PGE₂ が産生される²⁴⁾。以上より, 炎症病変部における PGE₂ 産生には COX-2 が重要な働きをしていると想定される。

生体内で PG 産生を抑制する因子として, グルココルチコイドの他に抗炎症性サイトカイン IL-4, IL-10, IL-13 が知られている。ヒト単球, 歯肉線維芽細胞や歯根膜細胞において, 抗炎症性サイトカインは COX-2 の誘導抑制により PGE₂ 産生を抑制する^{25,26)}。炎症歯肉組織中にはこれらのサイトカインが検出されていることから, 炎症病変部では PGE₂ 産生の負の制御も受けていると予想される。

図 2 に歯周組織における細胞相互作用による PGE₂ の産生機構を示した。

V. COX-2 と歯周組織破壊

1. NSAIDs の歯周病進行への影響

リガチャーによって惹起された, あるいは自然発症の歯周病実験動物において indomethacin, flurbiprofen, naproxen, meclofenamic acid など従来型の COX-1/-2 活性を阻害する NSAIDs がその進行を抑制することが明らかにされてきただけでなく, ヒトにおいても flurbiprofen や meclofenamic acid などの NSAIDs が歯周病治療に有効であることが示され

図2 細胞間相互作用による PGE_2 産生

ている²⁷⁾。その投与方法も全身的投与だけでなく、局所投与でも有効であったと報告されている。

2. COX-2 阻害剤の歯周病進行への影響

COX-2 阻害剤を用いたヒトでの研究はまだ報告されていないが、Bezerra ら²⁸⁾は2000年にラットを用いて実験的歯周炎を惹起したときのCOX-2選択的阻害剤である meloxicam の歯槽骨吸収への影響を調べている。indomethacin と比較して、meloxicam は indomethacin と同程度に約50%の歯槽骨吸収を抑制している。Lohinai ら¹⁷⁾もラットにおける実験的歯周炎において、NS-398 をCOX-2特異的阻害剤として用いて同様な歯槽骨吸収の抑制と血管透過性亢進の抑制を報告している。さらに最近 celecoxib を用いた場合にも歯周炎の進行が抑制されることがラット実験的歯周炎モデルで示されている²⁹⁾。Williams ら³⁰⁾のヒトでの flurbiprofen を用いての臨床研究ではやはり50%程度の抑制が認められている。このようなことから、歯周炎治療にNSAIDsあるいはCOX-2特異的阻害剤を応用した場合、約50%程度の進行抑制が認められる可能性がある。ただ、この効果は薬剤の投与を中止すると得られなくなり、持続性が期待できないと思われる。

VI. PGE_2 による炎症関連分子の産生調節

PGE_2 は種々の炎症関連分子の産生調節を行い、炎症反応を制御していることが示されている。LPSによって誘導された単球の $\text{TNF}\alpha$ 産生は PGE_2 によってほぼ完全に抑制される³¹⁾。筆者らも *A. actinomycetemcomitans* LPS 刺激によるヒト末梢血由来単球による $\text{TNF}\alpha$ 産生への PGE_2 の影響を調べたところ、 PGE_2 は濃度依存性に EP_2 および EP_4 receptor を介して $\text{TNF}\alpha$ 産生を抑制することを確認している。

ヒト歯肉線維芽細胞では、IL-1 β 刺激によって誘導される細胞相互作用に重要な働きをする細胞接着分子 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) 発現が、 PGE_2 によって EP_2/EP_4 receptor を介して cAMP 依存性に抑制される²¹⁾。またB細胞の活性化や破骨細胞形成能を有するIL-6産生への PGE_2 の影響を調べると、IL-1 β 誘導IL-6産生が EP_2/EP_4 receptor が活性化された場合には抑制され、 EP_1 receptor が活性化されると逆に亢進することが明らかとなった³²⁾。Takigawa ら³³⁾は健康歯肉由来歯肉線維芽細胞ではIL-1 β 誘導IL-6産生を PGE_2 は抑制すると報告したのに対し、Czusak ら³⁴⁾は重度歯周炎組織由来歯肉線維芽細胞ではIL-1 β 誘導IL-6産

図3 PGE₂ 産生による EP レセプターを介した炎症関連分子の産生調節 (仮説)

生を PGE₂ は亢進させるという相反する報告をした。この違いは健康歯肉由来歯肉線維芽細胞では PGE₂ が主に EP₂/EP₄ receptor を活性化し、抑制的に作用するのに対し、歯周炎組織由来歯肉線維芽細胞では主として EP₁ receptor が活性化され、亢進的に働くものと考えられる。このようにレセプターの発現あるいは機能の違いにより、生体防御反応の調節に相違が生じ、病態形成に関与してくるのではないと思われる。metalloproteinase-1, -3 産生についても同様な結果が得られている (未発表データ)。

PGE₂ が強力な骨吸収作用を示すことが多くの論文で報告されているが、前述したように、PGE₂ は EP₂ あるいは EP₄ を介して骨芽細胞あるいは骨髄間質細胞の細胞膜上に破骨細胞分化因子 receptor activator of NF-κB ligand (RANKL) 発現させ、破骨細胞を形成する。しかし一方、PGE₂ が骨形成を誘導するという結果も相次いで報告されている。PGE₂ による骨形成には EP₄ receptor が関係している³⁵⁾。このメカニズムとして、PGE₂ は骨芽細胞への分化に重要な働きをしている転写因子 cbfa 1 の発現を誘導する。また COX-2 ノックアウトマウスでは骨折の治癒が野生型に比べて遅れるが、PGE₂ の投与により回復すること

が報告されている³⁶⁾。Cbfa 1 および Osterix の発現が PGE₂ によって調節されている可能性が指摘されている。歯周病研究の領域でも、イヌあるいはハムスターを用いて、E 系列の PG により歯周組織の再生が生じる可能性が示唆されている^{37,38)}。PGE₂ が直接に成熟した破骨細胞に作用するとその骨吸収活性が EP₄ レセプターを介して抑制されることも示されており³⁹⁾、PGE₂ は骨のリモデリングに重要な働きをしていると考えられる。

以上のようなことから、歯周病変部において産生された PGE₂ は組織破壊に関与する一方、抗炎症的作用も有しながら、炎症の増悪、消退を調節しているのではないかと考えられる (図 3)。

おわりに

今回述べたように PGE₂ は歯周病の病態形成に重要な役割を果たしている。しかし、歯周病の発症・進行におけるそのレセプターの役割あるいは歯周病患者におけるレセプターレベルでの PGE₂ への反応性の違いなど、今後さらに解析を進める必要がある。また他の PG (PGF_{2α}, PGI₂, TXA₂ など) の歯周病の病

態形成における役割についても検討する必要がある。このような研究結果により、PG 産生阻害剤、レセプター活性化剤あるいはレセプター拮抗剤が歯周病の治療に役立つ host modulation agents に発展することが期待される。

文 献

- 1) Goodson JM, Dewhirst FE, Brunetti A : Prostaglandin E_2 levels and human periodontal disease. *Prostaglandins*, 6 : 81-85, 1974.
- 2) Vane JR : Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature*, 231 : 232-235, 1971.
- 3) Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL : Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88 : 2692-2696, 1991.
- 4) Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR : TIS 10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3 T 3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem*, 266 : 12866-12872, 1991.
- 5) Vane J : Towards a better aspirin. *Nature*, 367 : 215-216, 1994.
- 6) FitzGerald GA, Patrono C : The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *N Engl J Med*, 345 : 433-442, 2001.
- 7) Wallace JL, McKnight W, Reuter BK, Vergnolle N : NSAID-induced gastric damage in rats : requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology*, 119 : 706-714, 2000.
- 8) Malmstrom K, Daniels S, Kotey P, Seidenberg BC, Desjardins PJ : Comparison of rofecoxib and celecoxib, two cyclooxygenase-2 inhibitors, in postoperative dental pain : a randomized, placebo-and active-comparator-controlled clinical trial. *Clin Ther*, 21 : 1653-1663, 1999.
- 9) Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F : Prostanoid receptors : structures, properties, and functions. *Physiol Rev*, 79 : 1193-1226, 1999.
- 10) Li X, Okada Y, Pilbeam CC, Lorenzo JA, Kennedy CR, Breyer RM, Raisz LG : Knockout of the murine prostaglandin EP_2 receptor impairs osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology*, 141 : 2054-2061, 2000.
- 11) Miyaura C, Inada M, Suzawa T, Sugimoto Y, Ushikubi F, Ichikawa A, Narumiya S, Suda T : Impaired bone resorption to prostaglandin E_2 in prostaglandin E receptor EP_4 -knockout mice. *J Biol Chem*, 275 : 19819-19823, 2000.
- 12) Ohm K, Albers Von H-K, Lisboa BP : Measurement of 8 prostaglandins in human gingival and periodontal disease using high pressure liquid chromatography and radioimmunoassay. *J Periodont Res*, 19 : 501-511, 1984.
- 13) Offenbacher S, Odle BM, Van Dyke TE : The use of crevicular fluid prostaglandin E_2 levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J Periodont Res*, 21 : 101-112, 1986.
- 14) Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, McKaig R, Beck J : Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol*, 67(Suppl) : 1103-1113, 1996.
- 15) Damare SM, Wells S, Offenbacher S : Eicosanoids in periodontal diseases : potential for systemic involvement. *Adv Exp Med Biol*, 433 : 23-35, 1997.
- 16) Cavanaugh Jr PF, McDonald JS, Pavelic L, Limardi RJ, Gluckman JL, Pavelic ZP : Immunohistochemical localization of prostaglandin H synthase isoenzyme proteins in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Inflammopharmacology*, 3 : 109-119, 1995.
- 17) Lohinai Z, Stachlewitz R, Szekely AD, Feher E, Dezsai L, Szabo C : Evidence for the expression of cyclooxygenase-2 enzyme in periodontitis. *Life Sci*, 70 : 279-290, 2001.
- 18) Morton RS, Dongari-Bagtzoglou AI : Cyclooxygenase-2 is upregulated in inflamed gingival tissues. *J Periodontol*, 72 : 461-469, 2001.
- 19) Noguchi K, Yanai M, Shitashige M, Nishihara T, Ishikawa I : Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin production by peripheral blood monocytes stimulated with lipopolysaccharides isolated from periodontopathogenic bacteria. *J Periodontol*, 71 : 1575-1582, 2000.
- 20) Noguchi K, Shitashige M, Yanai M, Morita I, Nishihara T, Murota S, Ishikawa I : Prostaglandin production via induction of cyclooxygenase-2 by human gingival fibroblasts stimulated with lipopolysaccharides. *Inflammation*, 20 : 555-568, 1996.
- 21) Noguchi K, Iwasaki K, Shitashige M, Endo H, Kondo H, Ishikawa I : Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin E_2 down-regulates intercellular adhesion molecule-1 expression via EP_2/EP_4 receptors in interleukin-1 β -stimulated human gingival fibroblasts. *J Dent Res*, 79 : 1955-1961, 2000.
- 22) Noguchi K, Shitashige M, Ishikawa I : Involvement of cyclooxygenase-2 in interleukin-1 α -in-

- duced prostaglandin production by human periodontal ligament cells. *J Periodontol*, 70 : 902-908, 1999.
- 23) Shimizu N, Ozawa Y, Yamaguchi M, Goseki T, Ohzeki K, 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, 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) Endo T, Ogushi F, Sone S : LPS-dependent cyclooxygenase-2 induction in human monocytes is down-regulated by IL-13, but not IFN- γ . *J Immunol*, 156 : 2240-2246, 1996.
- 26) Noguchi K, Shitashige M, Murota S, Ishikawa I : Interleukin-4 and interferon- γ inhibit prostaglandin production by interleukin-1 β -stimulated human periodontal ligament fibroblasts. *Inflammation*, 23 : 1-13, 1999.
- 27) Paquette DW, Williams RC : Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal diseases. *Periodontology* 2000, 24 : 239-252, 2000.
- 28) Bezerra MM, de Lima V, Alencar VB, Vieira IB, Brito GA, Ribeiro RA, Rocha FA : Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*, 71 : 1009-1014, 2000.
- 29) Holzhausen M, Rossa Junior C, Marcantonio Junior E, Nassar PO, Spolidorio DM, Spolidorio LC : Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol*, 73 : 1030-1036, 2002.
- 30) Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH, Rolla A, Stubbs D, Teoh KW, Reddy MS, Goldhaber P : Altering the progression of human alveolar bone loss with the non-steroidal anti-inflammatory drug flurbiprofen. *J Periodontol*, 60 : 485-490, 1989.
- 31) Shinomiya S, Naraba H, Ueno A, Utsunomiya I, Maruyama T, Ohuchida S, Ushikubi F, Yuki K, Narumiya S, Sugimoto Y, Ichikawa A, Oh-ishi S : Regulation of TNF α and interleukin-10 production by prostaglandins I $_2$ and E $_2$: studies with prostaglandin receptor-deficient mice and prostaglandin E-receptor subtype-selective synthetic agonists. *Biochem Pharmacol*, 61 : 1153-1160, 2001.
- 32) Noguchi K, Shitashige M, Endo H, Kondo H, Ishikawa I : Binary regulation of interleukin (IL)-6 production by EP $_1$ and EP $_2$ /EP $_4$ subtypes of PGE $_2$ receptors in IL-1 β -stimulated human gingival fibroblasts. *J Periodont Res*, 37 : 29-36, 2002.
- 33) Takigawa M, Takashiba S, Takahashi K, Arai H, Kurihara H, Murayama Y : Prostaglandin E $_2$ inhibits interleukin-6 release but not its transcription in human gingival fibroblasts stimulated with interleukin-1 β or tumor necrosis factor- α . *J Periodontol*, 65 : 1122-1127, 1994.
- 34) Czuszek CA, Sutherland DE, Billman MA, Stein SH : Prostaglandin E $_2$ potentiates interleukin-1 β -induced interleukin-6 production by human gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol*, 23 : 635-640, 1996.
- 35) Yoshida K, Oida H, Kobayashi T, Maruyama T, Tanaka M, Katayama T, Yamaguchi K, Segi E, Tsuboyama T, Matsushita M, Ito K, Ito Y, Sugimoto Y, Ushikubi F, Ohuchida S, Kondo K, Nakamura T, Narumiya S : Stimulation of bone formation and prevention of bone loss by prostaglandin E EP $_4$ receptor activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99 : 4580-4585, 2002.
- 36) Zhang X, Schwarz EM, Young DA, Puzas JE, Rosier RN, O'Keefe RJ : Cyclooxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. *J Clin Invest*, 109 : 1405-1415, 2002.
- 37) Marks SC Jr, Miller SC : Local delivery of prostaglandin E $_1$ induces periodontal regeneration in adult dogs. *J Periodont Res*, 29 : 103-108, 1994.
- 38) Caillon P, Saffar JL : Improvement of gingival and alveolar bone status in periodontitis-affected hamsters treated with 15-methyl prostaglandin E $_1$. *J Periodont Res*, 29 : 138-145, 1994.
- 39) Mano M, Arakawa T, Mano H, Nakagawa M, Kaneda T, Kaneko H, Yamada T, Miyata K, Kiyomura H, Kumegawa M, Hakeda Y : Prostaglandin E $_2$ directly inhibits bone-resorbing activity of isolated mature osteoclasts mainly through the EP $_4$ receptor. *Calcif Tissue Int*, 67 : 85-92, 2000.