

다양한 NSAID가 인간 치주인대세포의 prostaglandin 합성 및 세포 형태에 미치는 효과에 대한 연구

김혁수 · 심혜영* · 채창훈** · 장영일 · 박준우***

서울대학교 치과대학 교정학교실, *서울특별시립 보라매병원 치과
나노큐어텍 나노-바이오 퓨전 부설연구소, *한림대학교 의과대학 치과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2007;33:455-463)

EFFECTS OF VARIOUS NSAIDS ON PROSTAGLANDIN SYNTHESIS AND CELLULAR CONFIGURATION OF HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT CELLS

Hyeok-Soo Kim, Hae-Young Shim*, Chang-Hoon Chae**, Young-Il Chang, Jun-Woo Park***
*Dept. of Orthodontics, College of Dentistry, Seoul National University, *Dept. of Dentistry, Boramae Hospital,*
***Institute of Nano-Bio Fusion Technology, NanoCureTech Inc,*
****Dept. of Dentistry, College of Medicine, Hallym University*

The present study was designed to evaluate effects of the commonly used NSAIDs(acetaminophen, aspirin, and ibuprofen) on human periodontal ligament cells.

Human periodontal ligament cells were grown from a cell line provided by Kyungpook National University. Effects of NSAIDs on the proliferation of human periodontal ligament cells were assessed using MTT assays. And then PGE₂ concentrations were determined by ELISA and the changes of cellular configuration were found by electron micrograph.

The results were as follows;

1. The MTT assay demonstrated that the commonly used NSAIDs(acetaminophen, aspirin, and ibuprofen) had not significant cytotoxic effect on human periodontal ligament cells.
2. NSAIDs inhibited the PGE₂ synthesis of human periodontal ligament cells compared with the control group. These inhibitory effects had no significant differences with NSAID type and concentration.
3. Electron micrographs of human periodontal ligament cells treated with NSAIDs showed more narrow and irregular shape.

Key words: NSAID, Human periodontal ligament cell, Prostaglandin, Electron micrograph

I. 서 론

치주인대는 치아와 치조골 사이에 위치하여 치아에 가해지는 저작압에 견디는 기능을 수행하며, 미분화 간엽세포, 상피세포, 대식세포, 골모세포 및 백악모세포와 같은 다양한 종류의 세포 집단으로 이루어져 있다. 또한, 치주인대는 autocrine이나 paracrine의 형태로 골개조나 치근의 재흡수와 관계된 분자들을 합성 분비하며, 교정적 치아이동 혹은 과도한 저작 등에

의해 치아에 가해지는 힘에 의한 치근의 재흡수를 방지하는 역할을 한다. 이와 같이 치아의 형성과 맹출 그리고 탈락의 과정 동안 치주인대의 변화는 필수적인 것이다^{1,2)}.

교정적 치아이동은 다음과 같은 생물학적 원리에 근거를 두고 있다. 즉, 치아에 지속적인 압력을 가함으로써 치조골과 치주인대를 포함한 치주조직의 개조를 가져온다는 것이다. 치주조직의 개조는 세포외 기질의 흡수와 침착에 의존한다.

지속적인 교정력 하에서 치주인대세포는 압박되며, 치아이동 중에 혈관의 압박과 혈류의 변화를 가져온다. 이러한 변화는 세포를 활성화시켜 cytokine과 prostaglandin 등을 유리시킨다³⁻¹²⁾.

치주조직의 개조에 있어서 cytokine과 prostaglandin의 역할은 알려졌다. Saito 등은 체외 연구에서 치주인대세포들의 골흡수력은 PGE₂에 의해 유도됨을 보였다¹³⁾.

세포 수준에서 cytokine은 cyclooxygenase에 의해 매개되는

심혜영

156-707 서울특별시 동작구 신대방2동 395번지
서울특별시립 보라매병원 치과

Hae-Young Shim

Dept. of Dentistry, Boramae Hospital
395 Shindaebang 2-Dong, Dongjak-Gu, Seoul, 156-707, Korea
Tel: 82-2-840-2434 Fax: 82-2-831-0714
E-mail: orthodo@hanmail.net

prostaglandin의 생산을 유도하며, IL-1 β 로 처리한 fibroblast는 PGE₂를 유리시킨다¹⁴⁾.

포유류의 cyclooxygenase(COX)는 COX-1과 COX-2의 두 가지 형태가 있다. COX-1은 조직의 항상성에 중요한 역할을 하며, COX-2는 IL-1 β 등의 cytokine에 의해 유도되며 염증에 중요한 역할을 한다.

Acetylsalicylate(aspirin), ibuprofen과 같은 NSAID는 이러한 COX에 목표를 두고 있다. COX는 prostaglandin의 생산에 중요한 효소이기 때문에, 따라서 NSAID는 prostaglandin의 합성을 억제하여 염증반응을 억제한다고 알려져 있다¹⁵⁾.

Prostaglandin은 교정력과 관계된 치아 이동과정에서 중요하므로, 교정치료 중에 복용하게 되는 NSAID는 치아 이동과 관련된 경로에 영향을 주게 되고 치료 효율을 변화시킬 수 있다고 가정할 수 있을 것이다^{16,19)}.

그러나, prostaglandin이 관계된 세포의 기질 개조에 대한 분자학적 정보와 cyclooxygenase-prostaglandin 경로에 대한 NSAID의 부작용에 대해서는 많은 정보가 알려져 있지 않다²⁰⁾.

또한 세포가 외부 물질에 대응하는 기본적인 signal 과정에서 세포의 형태적인 변화를 전자현미경을 통하여 관찰하는 것은 중요한 실험이라고 할 수 있다.

이와 같은 이유로 본 연구는 인간 치주인대세포에 대해 현재 주로 처방되고 있는 NSAID 계통의 약물들이 어떤 영향을 주는지 살펴보고자 한다. 즉, 다양한 NSAID를 인간 치주인대세포에 적용하였을 때 염증 및 치아이동과 관계되어 있는 prostaglandin의 합성에 어떤 영향을 주는지 알아보고, 위상차 현미경과 전자현미경을 이용하여 그 형태적인 변화를 관찰하고자 한다.

II. 연구 대상 및 방법

1. 인간 치주인대세포 배양

인간 치주인대세포주(Human PDL cell line)를 경북대학교 치과대학으로부터 제공받았다. 그 다음 인간 치주인대세포를 배양하기 위하여 Fetal Bovine Serum(FBS, Gibco BRL, Rockville, USA) 10%와 항생제(Penicillin 100U/ml, Streptomycin 100U/ml, Gentamycin 50U/ml 및 Fungizone 2.5 μ g/ml)가 포함된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagles Medium, Gibco BRL, Rockville, USA)으로 배양하였다.

NSAID 약물을 처리하기 위하여 세포를 6 \times 10⁶개의 세포가 될 수 있도록 배양하였다. 세포 배양 Dish의 70% 세포가 배양되면, Trypsin-EDTA(Gibco BRL, Rockville, USA)시약을 사용하여 세포를 부유시킨 후 계대배양을 유도하였다.

2. 세포생존률 검사 (MTT Assay)

세포의 생존률을 측정하기 위하여 MTT celltiter 96 Aqueous One solution cell proliferation assay(Promega, Madison, WI, USA)로

알아보았다. 이 방법은 tetrazolium compound가 세포의 대사물질인 NADPH나 NADP에 의해 색깔을 띤 formaza로 변화하는 것을 이용하는 방법으로 세포배양액에 완전히 용해되는 원리를 이용한 세포생존률 측정방법이다.

PDL 세포를 96플레이트에 분주한 후 2시간 안정화하였다. NSAID계통의 약물을 종류와 농도에 따라 나누어 처리한 후 24시간 동안 온도 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 조건하에서 배양하였다. NSAID는 임상에서 많이 처방되는 약물인 Acetaminophen, Aspirin, Ibuprofen(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 사용하였고, 각각의 약물의 농도는 10⁻⁵M, 10⁻⁷M, 10⁻⁹M의 3가지로 실험하였다. 그 후 Cell proliferation kit (Promega, Madison, WI, USA)시약을 전체배양액의 10%가 되게 처리한 후 2시간 동안 온도 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 조건하에서 방치한 후 ELISA reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정은 모두 세 번을 하였으며, 그에 대한 평균값을 계산하였다.

3. NSAID에 의한 치주인대세포의 PGE₂ 합성 변화 관찰

세포에서 발현되는 PGE₂의 정량을 실시하기 위하여 PGE₂ 정량 키트를 사용하였다(Amersham Bioscience). 먼저 치주인대세포를 96-well plate에 2 \times 10⁴ cell/well이 되게끔 분주하였다. 각각의 NSAID(Acetaminophen, Aspirin, Ibuprofen)를 농도별(10⁻⁵M, 10⁻⁷M, 10⁻⁹M)로 처리하였다. 그리고 1시간 전에 IL-1 β (5ng/mL)를 전처리하였다.

24시간 37도 CO₂ 배양실에서 배양한 다음 각각의 세포별로 PGE₂ 농도를 정량하였다. 간략하게 살펴보면, 먼저 세포배양이 끝난 세포에 100 μ l/well의 lysis buffer를 첨가하였다. 실온에서 10분간 방치한 다음, 50 μ l씩 96-well plate에 분주하였다. 그런 다음 50 μ l antibody를 분주한 다음, 다시 50 μ l conjugate를 분주한 다음 1시간 동안 실온에서 흔들어 주었다. 1시간이 지난 후 enzyme substrate 150 μ l를 분주하여 정확하게 30분동안 실온에서 흔들어 주었다. 100 μ l의 1M sulfuric acid를 첨가하여 반응을 중지한 다음 ELISA reader(Molecular Device, CA USA)를 사용하여 450 nm에서 측정하였다. 측정된 OD 값을 이용하여 PGE₂의 스탠다드 커브에 대하여 농도를 계산하였다.

4. 전자현미경에 의한 치주인대세포 형태 관찰

주사전자현미경은 텅스텐 필라멘트의 인위적인 전자를 발생시켜 시료에 주사시킴으로써 시료에서 발생하는 2차 전자를 검출하여 이미지를 형성화 시키는 장비이다. 인간의 눈이나 일반 광학현미경으로 관찰이 어려웠던 미세한 시료 표면을 고배율, 고분해능으로 관찰이 가능하다.

원형 유리 커버글라스(직경 12 mm) 위에서 치주인대세포가 배양된 1일째 되는 날 유리 커버글라스 전체를 4% paraformaldehyde-glutaraldehyde (4 C, 0.1M phosphate buffer, pH 6.8)에 1시간동안 전고정하고, 인산완충용액 (4 C, 0.1 M phosphate buffer, pH 6.8)으로 수회 세척한 후, 얼음 위에서 1% OsO₄(0.1 M

phosphate buffer, pH 6.8)로 1시간동안 후고정하였다. 고정액과 완충용액의 농도, pH, 온도, 고정시간을 항상 정확하게 유지하였다. 또한 치주인대세포가 배양된 유리 커버글라스 전체를 고정하는 것이므로 시료제작중의 물리적인 손상을 피하기 위하여 세포가 배양된 면이 항상 위를 향하도록 주의하였다. 2차 고정은 얼음 위에서 실시하였으며, contrast를 높여주기 위하여 2차 고정액으로 1% osmium/ferrocyanide를 사용하였다. 1% osmium/ferrocyanide 고정액은 6mL의 0.1 M phosphate buffer에 0.08 g의 potassium ferrocyanide와 2mL의 4% osmium tetroxide를 섞어서 만들었다. 전체적으로 치주인대세포 조직들의 높은 contrast를 확보하기 위하여 2차 고정이 끝난 후 1시간동안 En Bloc 염색을 실시하였다.

모든 고정이 끝난 재료는 동일 인산완충용액으로 충분히 세

척한 후, ethanol 농도 상승 순으로 탈수하고, propylene oxide로 치환하였다. Ion coater를 사용하여 2분 동안 7mM에서 금 코팅을 하였다.

III. 연구 결과

1. 세포생존률 검사 (MTT assay)

acetaminophen, aspirin, ibuprofen의 세 가지 NSAID에 대해 *in vitro* 상에서 인간 치주인대세포에 미치는 세포독성검사를 실시하였다(Fig. 1-3). 그 결과 세포생존률은 NSAID에 대해 농도가 증가함에 따라 약간 감소하였다. 그러나 유의할만한 NSAID계통의 약물 cytotoxicity를 관찰할 수 없었다.

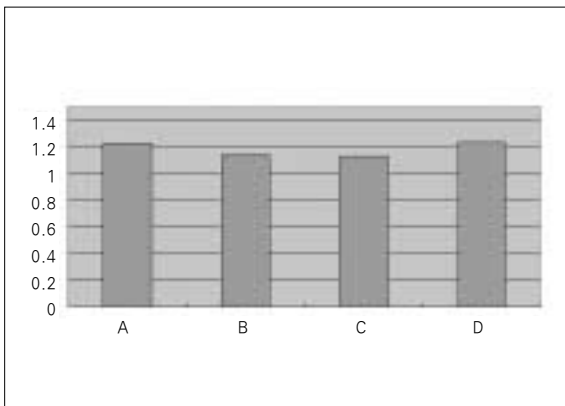


Fig. 1. The MTT assay: Effects of acetaminophen on periodontal ligament cell proliferation.
X bar: A. Control, B. 10⁻⁵M, C. 10⁻⁷M, D. 10⁻⁹M
Y bar: Absorbance range (540nm)

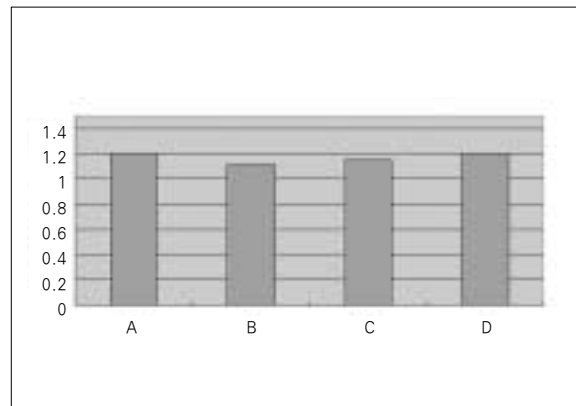


Fig. 2. The MTT assay: Effects of aspirin on periodontal ligament cell proliferation.
X bar: A. Control, B. 10⁻⁵M, C. 10⁻⁷M, D. 10⁻⁹M
Y bar: Absorbance range (540nm)

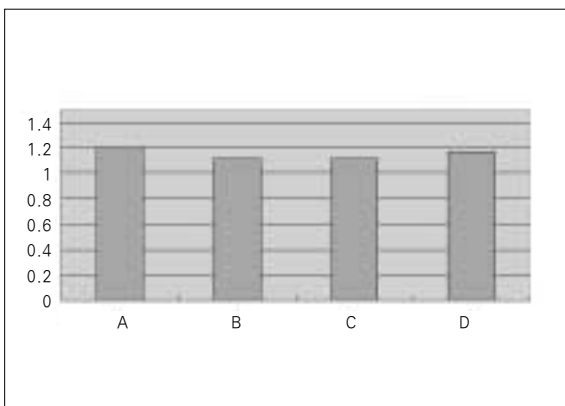


Fig. 3. The MTT assay: Effects of ibuprofen on periodontal ligament cell proliferation.
X bar: A. Control, B. 10⁻⁵M, C. 10⁻⁷M, D. 10⁻⁹M
Y bar: Absorbance range (540nm)

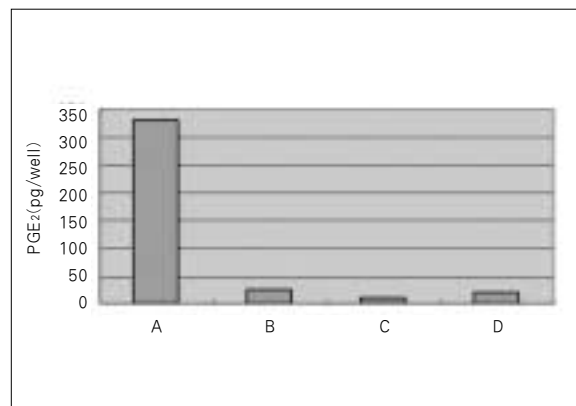


Fig. 4. Effects of acetaminophen on PGE₂ production by periodontal ligament cells.
A. Control, B. 10⁻⁵M, C. 10⁻⁷M, D. 10⁻⁹M.

2. NSAID의 종류와 농도에 따른 치주인대세포의 PGE₂ 합성 변화 관찰

인간 치주인대세포에 NSAID를 처리했을 경우, 약물을 처리하지 않은 정상군에 비해 PGE₂ 합성은 억제되는 것을 볼 수 있었다(Fig. 4-6). 또한 이러한 억제 효과는 NSAID의 종류와 농도와는 상관이 없었다. 즉, acetaminophen, aspirin, ibuprofen 모두 PGE₂ 억제 효과를 나타냈고, 세 가지 약물 농도(10⁵M, 10⁷M, 10⁹M)에서도 모두 억제 효과를 나타냈다.

3. 위상차현미경 및 전자현미경을 통한 치주인대세포 형태 관찰

위상차현미경에서 볼 때 정상 치주인대세포의 형태는 가운데 타원형의 세포질과 핵을 만들고 양쪽으로 길게 뻗은 형태

를 취하고 있다. 전자현미경에서도 가운데가 넓직한 타원형의 모양과 양쪽으로 길게 뻗은 세포의 형태를 갖추고 있다(Fig. 7).

반면에 약물을 처리한 치주인대세포의 경우 전반적으로 세포의 형태가 가늘어지고, 세포의 전체적인 형태가 비정상적으로 변하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 8-10).

NSAID의 농도에 따른 세포 형태 변화는 큰 차이를 볼 수는 없었다. 또한 NSAID의 종류에 따른 치주인대세포의 형태 변화도 큰 차이를 볼 수 없었다.

모든 NSAID 계통의 약물들이 치주인대세포와 반응했을 때 세포들이 위축되기도 하고, 비정상적으로 신장되기도 하고, 어떤 경우에는 비정상적으로 비대해지는 등 불규칙한 세포의 형태변화를 확인할 수 있었다. 예를 들어 ibuprofen의 경우 10⁵M 농도에서는 세포가 비대해지고 정상세포보다 두 배 이상 크기가 신장되었으나, 10⁷M, 10⁹M 농도에서는 세포의 형태가 길게 늘어지면서, 위축되는 것을 확인할 수 있었다.

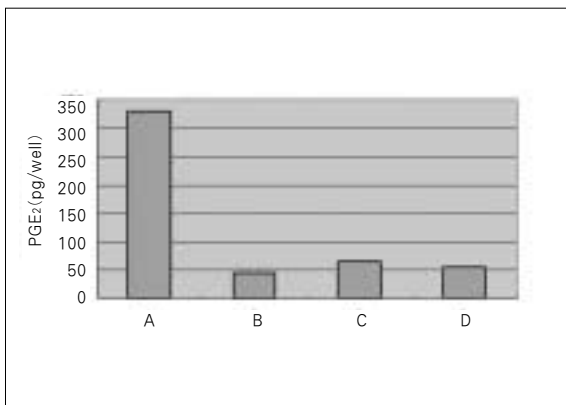


Fig. 5. Effect of aspirin on PGE₂ production by periodontal ligament cells.
A. Control, B. 10⁵M, C. 10⁷M, D. 10⁹M

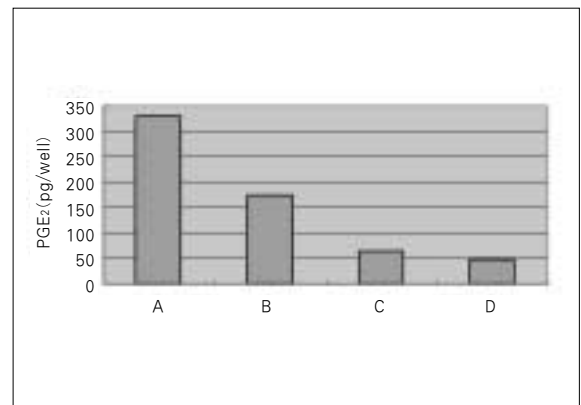


Fig. 6. Effect of ibuprofen on PGE₂ production by periodontal ligament cells.
A. Control, B. 10⁵M, C. 10⁷M, D. 10⁹M

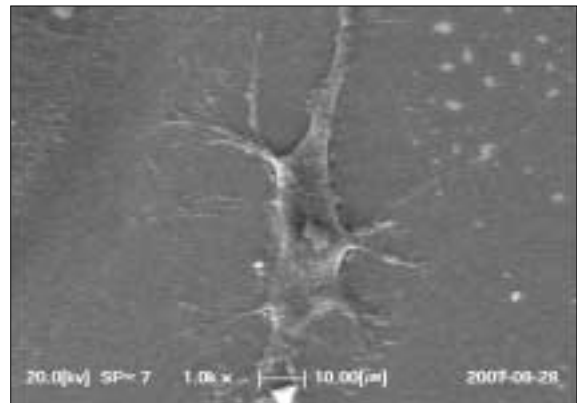
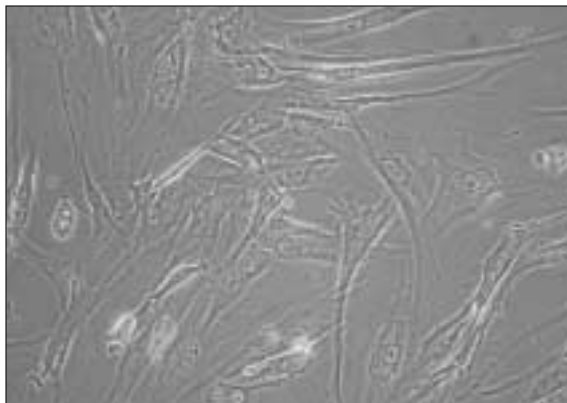


Fig. 7. Phase-contrast micrograph (×200) and electron micrograph of periodontal ligament cells (control group).

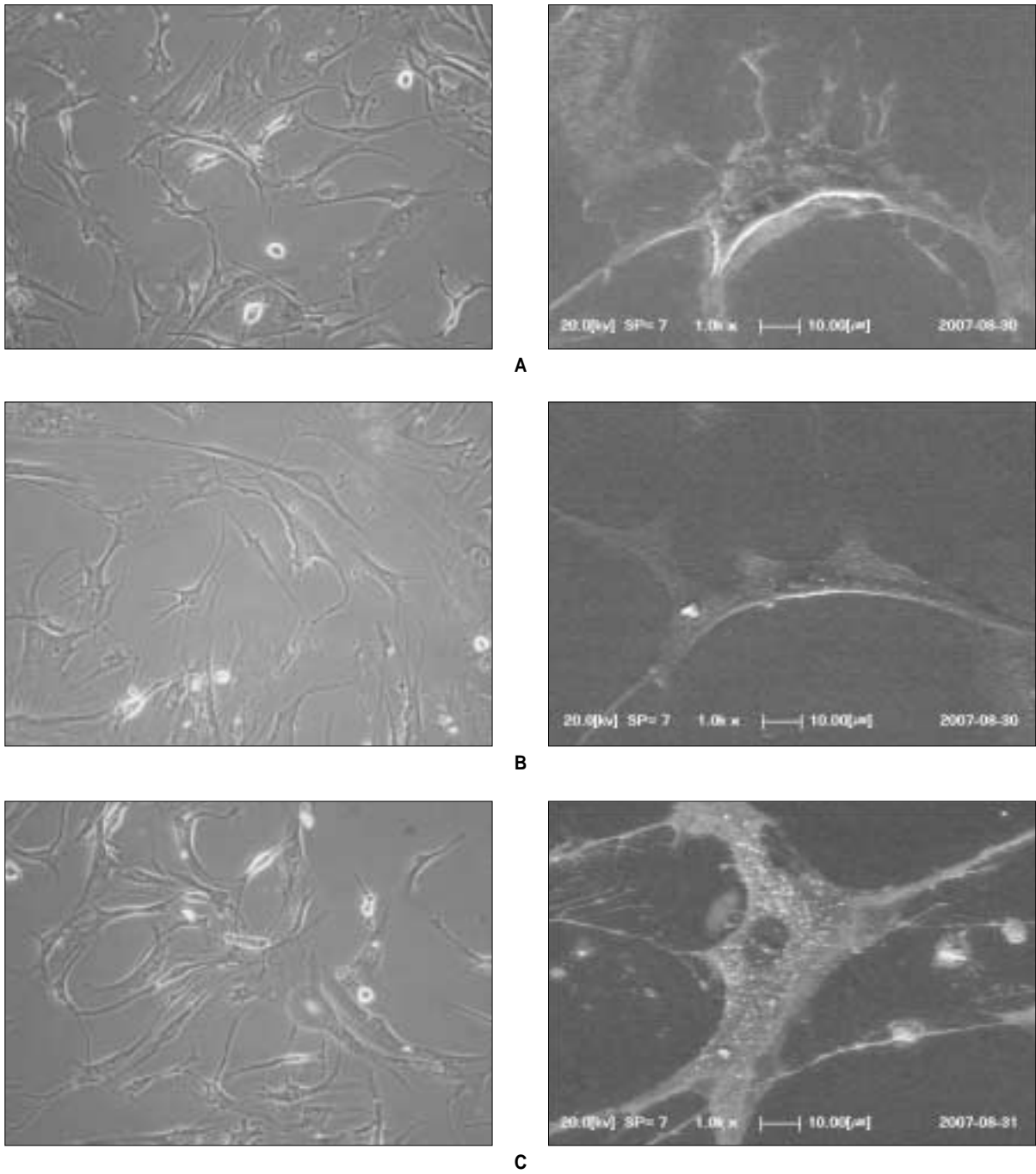


Fig. 8. Phase-contrast micrographs($\times 200$) and electron micrographs of periodontal ligament cells treated with acetaminophen.
A. 10^{-6} M, B. 10^{-7} M, C. 10^{-9} M

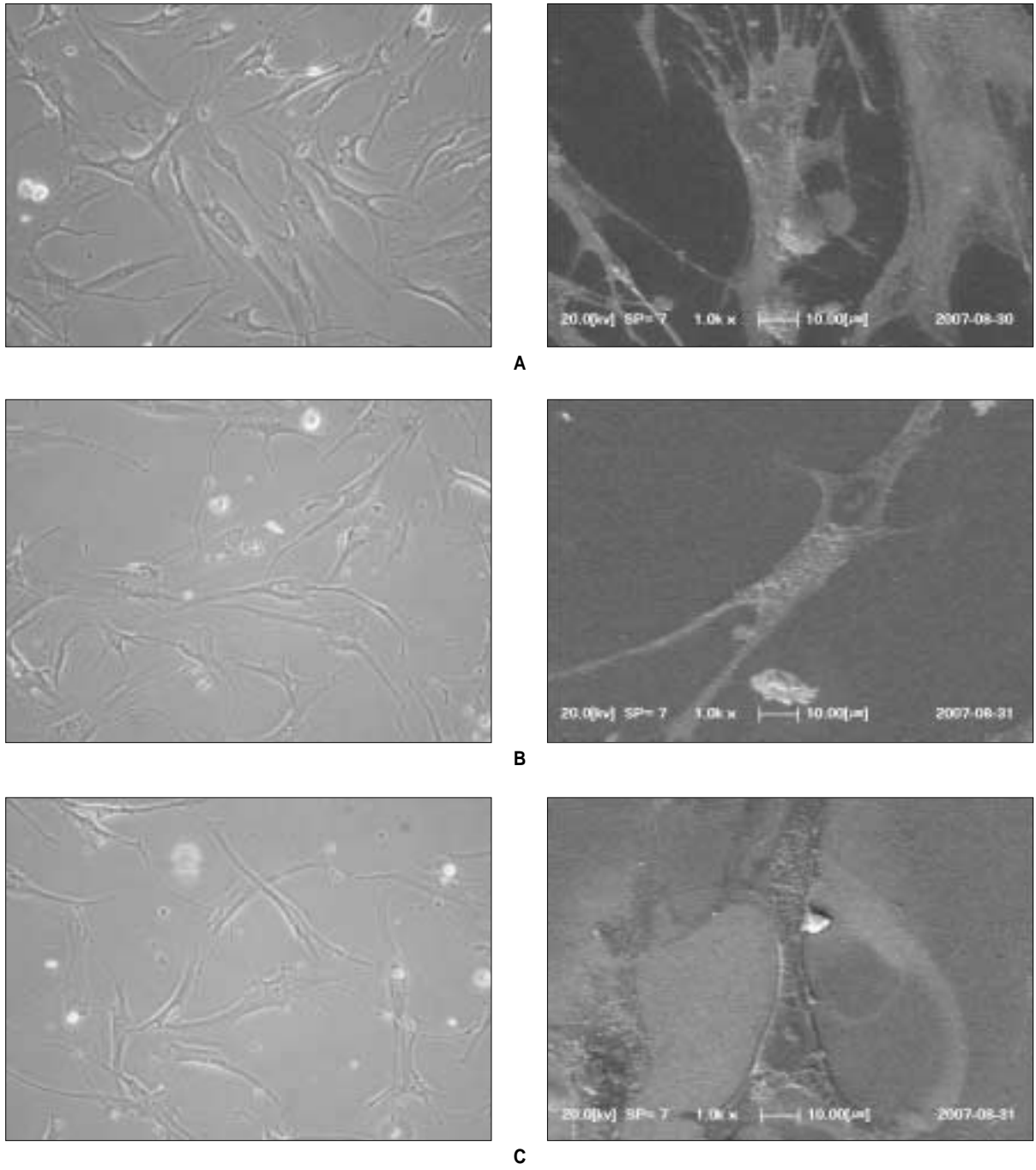


Fig. 9. Phase-contrast micrographs($\times 200$) and electron micrographs of periodontal ligament cells treated with aspirin.
A. $10^{-6}M$, B. $10^{-7}M$, C. $10^{-9}M$

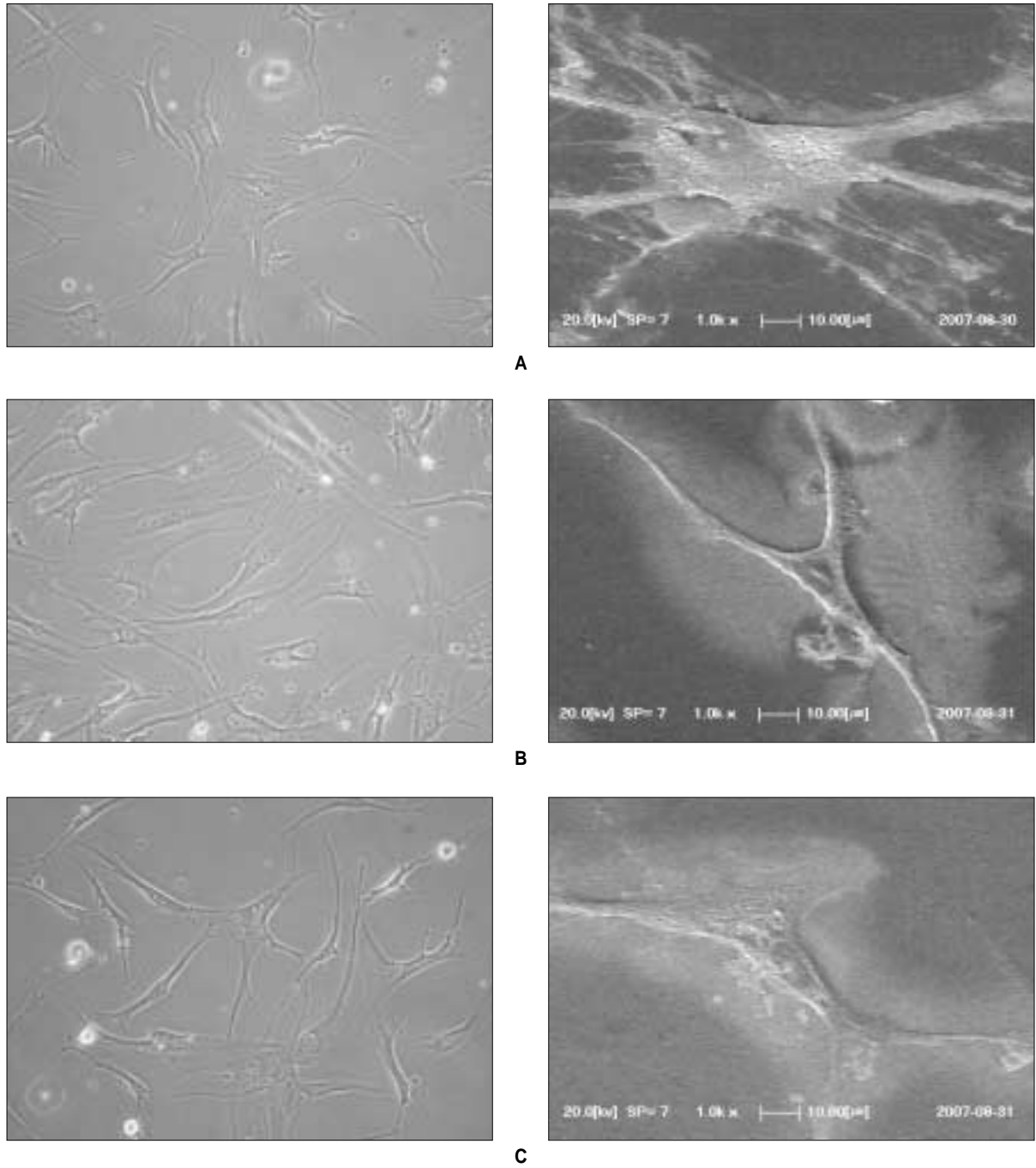


Fig. 10. Phase-contrast micrographs($\times 200$) and electron micrographs of periodontal ligament cells treated with ibuprofen.
A. $10^{-5}M$, B. $10^{-7}M$, C. $10^{-9}M$

IV. 고 찰

교정치료와 관계된 통증을 조절하는 것은 환자와 임상가 모두 관심을 갖고 있는 일이다. 이러한 통증을 조절하기 위한 방법으로 여러 가지 방법들이 고안되었다. 하지만, 일반적으로 고정식 교정장치와 관계된 통증을 조절하기 위해 가장 선호되는 방법은 NSAID를 처방하는 것이다²¹⁾.

NSAID의 약리학적인 기전은 prostaglandin을 합성하는데 중요한 enzyme인 cyclooxygenase를 목표로 하여 이 enzyme을 억제하여 효과를 나타낸다.

NSAID의 치료효과는 analgesia, antipyresis, anti-inflammatory effect의 3가지 효과로 나누어 볼 수 있다. 이 중 analgesia 즉, 진통 효과는 prostaglandin의 algesic activity, 즉 통증을 유도하는 효과를 감소시킴으로써 얻어지고, 주로 peripheral tissue에 작용하는 효과이다. 다음 antipyresis, 즉 해열작용은 진통 효과와 달리 central에서 나타난다. 그리고, anti inflammatory effect, 즉 소염 작용은 prostaglandin과 관련하여 설명할 수 있는데, prostaglandin은 염증의 증상을 유도하고, bradykinin과 histamine의 효과를 강화하기 때문에 NSAID의 prostaglandin 억제효과가 소염작용을 나타낸다. 단, NSAID 중 acetaminophen은 주로 brain에서 작용하기 때문에 해열 효과와 진통 효과는 있지만 소염 효과는 부족한 것으로 알려져 있다^{22,23)}.

본 실험 결과에 따르면 임상적으로 흔히 처방하는 NSAID인 acetaminophen, aspirin, ibuprofen을 인간 치주인대세포에 적용하였을 때 모두 PGE₂의 합성을 억제하는 것으로 나타났다. 이런 결과는 acetaminophen이 이전 연구에서 prostaglandin의 weak inhibitor로 알려졌던 것과는 다른 결과를 보여주고 있다. 이는 아마도 이 실험이 *in vitro*로 시행되었다는 점, 그리고 세포가 다른 점 등이 영향을 미치지 않았을까 생각된다. 아직까지 여러 가지 다양한 NSAID에 대한 *in vitro* 실험 및 분자생물학적인 접근은 많이 부족하기 때문에 더 많은 연구가 필요하리라고 생각된다.

그리고, NSAID의 약물 농도가 PGE₂ 합성에 미치는 연관성을 보기 위한 실험 결과에서는 약물 농도에 상관없이 모두 PGE₂의 합성을 억제하는 것으로 나타났다. 이는 10⁻⁶M과 같이 충분히 낮은 농도에서도 *in vitro* 상에서는 약물 효과를 보임을 나타낸다.

한편 Raisz 등은 10⁻⁶M, 10⁻⁸M의 NSAID들은 prostaglandin의 합성을 억제하지만, 10⁻¹⁰M에서는 오히려 prostaglandin의 생산을 증가시켰다고 보고하였다²⁴⁾. 본 연구에서는 이러한 biphasic effect를 볼 수는 없었는데, 만약 이런 효과가 실제 나타나는지를 확인해 보기 위해서는 좀 더 낮은 농도까지 여러 농도에서 실험을 하는 것이 필요할 것이다.

그리고 PGE₂ 정량 실험에서 NSAID로 처리하기 전에 IL-1 β 로 먼저 처리하는 것은 치주인대세포를 염증상태와 비슷하게 유도하기 위함이며, 이는 아마도 교정력을 가한 상태와 비슷한 상태라고 볼 수 있다. 또한, 이렇게 prostaglandin을 활성화시킨 상태에서야 NSAID의 억제 효과를 좀더 뚜렷하게 관찰할 수

있을 것이다.

NSAID는 위점막의 손상 및 출혈 그리고 과민성 등 많은 부작용을 가지고 있다²⁵⁾. 이와 같은 연구결과로 볼 때 약물인 인체 내에서 가장 먼저 접하게 되는 것은 세포의 외벽이라고 할 수 있다. 이와 같이 세포의 외벽에서 인지된 약물이 세포 내로 들어와서 작용하기까지 세포는 많은 스트레스에 처해 있다. 그래서 가장 먼저 약물과 반응하는 세포에 대한 전자현미경적인 형태학적 연구는 중요하다고 하겠다.

본 연구에서 위상차현미경과 전자 현미경을 통해서 볼 때 NSAID를 처리한 치주인대세포의 경우 전반적으로 세포의 형태가 가늘어지고, 어떤 경우에는 세포의 전체적인 형태가 비정상적으로 비대해지는 등 비정상적으로 변하는 것을 확인할 수 있었다.

또한 NSAID의 농도와 종류에 따른 세포 형태변화는 큰 차이를 볼 수는 없었다. 즉 이번 연구로는 세포의 형태에 영향을 주지 않는 NSAID의 종류를 확인할 수 없었으며, 농도도 마찬가지이다. 다시 말해 이번 연구로 보면, 모든 NSAID는 인간 치주인대세포에 직접적인 형태 변화를 가져온다고 말할 수 있을 것이다.

in vitro 상에서 NSAID를 세포에 직접 처리하였을 때와 생체 내에서의 약물의 동작 메커니즘은 다를 수 있지만, 어느 정도 약물이 세포에 주는 부작용을 유추할 수 있었다. 따라서 가능하면 세포의 형태 변화를 적게 하는 등 부작용을 최소화하면서 동시에 효과가 있는 약물개발이 중요하게 고려되어야 할 것이다.

V. 결 론

본 연구는 인간 치주인대세포에 대해 현재 주로 처방되고 있는 NSAID 계통의 약물들(acetaminophen, aspirin, ibuprofen)이 어떤 영향을 주는지를 살피고자 하였다. 즉, 다양한 NSAID를 인간 치주인대세포에 적용하였을 때 염증 및 치아이동과 관계되어 있는 prostaglandin의 합성에 어떤 영향을 주는지 알아보고, 위상차 현미경과 전자현미경을 이용하여 그 형태적인 변화를 관찰하고자 하였다. 그 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 임상에서 흔히 처방되는 NSAID인 acetaminophen, aspirin, ibuprofen에 대해 인간 치주인대세포의 세포 생존률 검사를 시행한 결과 유의할 만한 cytotoxicity를 보이지 않았다.
2. 인간 치주인대세포에 NSAID를 처리했을 경우, 약물을 처리하지 않은 정상군에 비해 PGE₂ 합성은 억제되는 것을 볼 수 있었다. 또한 이러한 억제 효과는 NSAID의 종류와 농도와는 상관이 없었다.
3. 위상차 현미경과 전자 현미경으로 인간 치주인대세포를 관찰한 결과 정상적인 치주인대세포의 경우와 비교해서 약물을 처리한 치주인대세포의 경우 전반적으로 세포의 형태가 가늘어지고, 비정상적인 모습을 갖는 것을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. Nancy A, Ten Cate AR: Ten Cate's Oral histology 6th ed. St. Louis, Mosby 2003.
2. Melfi RC, Alley KE, Permar D: Permar's oral embryology and microscopic anatomy 10th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 2000.
3. Alhashimi N, Frithiof L, Brudvik P, Bakhiet M: Orthodontic tooth movement and de novo synthesis of proinflammatory cytokines. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2001;119:307-312.
4. Carano A, Siciliani G: Effects of continuous and intermittent forces on human fibroblasts *in vitro*. Eur J Orthod 1996;18:19-26.
5. Grieve WG 3rd, Johnson GK, Moore RN, Reinhardt RA, DuBois LM: Prostaglandin E and IL-1 β levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1994;105:369-374.
6. Hasegawa S, Sato S, Saito S, Suzuki Y, Brunette DM: Mechanical stretching increases the number of cultured bone cells synthesizing DNA and alters their pattern of protein synthesis. Calcif Tissue Int 1985;37:431-436.
7. Howard PS, Kucich U, Taliwal R, Korostoff JM: Mechanical forces alter extracellular matrix synthesis by human periodontal ligament fibroblasts. J Periodont Res 1998;33:500-508.
8. Lee W: Experimental study of the effect of prostaglandin administration on tooth movement with particular emphasis on the relationship to the method of PGE1 administration. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1990;98:231-241.
9. Ngan P, Saito S, Saito M, Lanese R, Shanfeld J, Davidovitch Z: The interactive effects of mechanical stress and interleukin 1 β on prostaglandin E and cyclic AMP production in human periodontal ligament fibroblasts *in vitro*: Comparison with cloned osteoblastic cells of mouse(MC3T3-E1). Arch Oral Biol 1990;35:717-725.
10. Saito M, Saito S, Ngan PW, Shanfeld J, Davidovitch Z: IL-1 β and PGE involved in the response of periodontal cells to mechanical stress. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1991;99:226-240.
11. Saito S, Ngan P, Rosol T, Saito M, Shimizu H, Shinjo N, et al: Involvement of PGE synthesis in the effect of intermittent pressure and interleukin-1 beta on bone resorption. J Dent Res 1991;70:27-33.
12. Yamaguchi M, Shimizu N, Goseki T, Shibata Y, Tachiguchi H, Iwasawa T, et al: Effect of different magnitudes of tension force on prostaglandin E2 production by human periodontal ligament cells. Arch Oral Biol 1994;39:877-884.
13. Saito S, Rosol TJ, Saito M, Ngan PW, Shanfeld J, Davidovitch Z: Bone resorbing activity and PGE produced by human periodontal ligament *in vitro*. J Bone Mineral Res 1990;5:1013-1018.
14. Saito S, Ngan PW, Saito M, Kim K, Lanese R, Shanfeld J, et al: Effects of cytokines on PGE and cAMP in human periodontal ligament fibroblasts *in vivo*. Arch Oral Biol 1990a;35:387-395.
15. Smith WL, Meade EA, Dewitt DL: Interaction of PGH synthase isozymes-1 and -2 with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Adv Exp Med Biol 1997;400A:189-196.
16. Sandy JR, Harris M: Prostaglandins and tooth movement. Eur J Ortho 1984;6:175-182.
17. Chumbley AB, Tuncay OC: The effect of indomethacin (an aspirin-like drug) on the rate of orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1996;89:312-314.
18. Mohammed AH, Tatakis DN, Dziak R: Leukotrienes in orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1989;95:231-237.
19. Kehoe MJ, Cohen SM, Zarrinnia K, Cowan A: The effect of acetaminophen, ibuprofen, and misoprostol on prostaglandin E2 synthesis and the degree and rate of orthodontic tooth movement. Angle Orthod 1996;66:339-349.
20. Kyrkanides S, O' Banion MK, Subtelny JD: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in orthodontic tooth movement: Metalloproteinase activity and collagen synthesis by endothelial cells. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2000;118:203-209.
21. Polat O, Karaman AI: Pain control during fixed orthodontic appliance therapy. Angle Orthod 2005;75:210-215.
22. Goth A, Clark W, Brater DC, Johnson AR. Goth's medical pharmacology 13th ed. St. Louis, Mosby 1992.
23. Gilman AG, Goodman LS, Limbird LE, Hardman JG. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics 10th ed. New York, McGraw-Hill Medical Pub. Division 2001
24. Raisz LG, Simmons HA, Fall PM: Biphasic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on prostaglandin production by cultured rat calvariae. Prostaglandins 1989;37:559-565.