総

説

一 次 口 蓋 の 発 生

江 藤 一 洋

東京医科歯科大学歯学部顎口腔総合研究施設顎成長過程研究部門

(1980年3月31日 受付)

Developmental Aspects of Primary Palate Formation

Kazuhiro Eto

Section of Craniofacial Development and Anomalies, Institute of
Stomatognathic Science, Faculty of Dentistry,
Tokyo Medical and Dental University

はじめに

唇裂ならびに唇裂口蓋裂は、顔面の形成異常の中でも特に頻度の高いもので、日本人ではおよそ500人に1人の割合でみられる¹⁾。親にも、また後には子供自身にも非常に大きな精神的衝撃を与えるこの形成異常は、審美性ばかりではなく、発音障害、咬合異常などの機能異常を伴うために、治療可能な先天異常の中でも、特に多面的な治療、すなわち外科的修復手術、言語治療、歯科矯正治療ならびに顎補綴といった専門治療を必要とする。このような治療方法は、臨床医の多大な努力と経験の積み重ねによってしか、進歩は期待できないけれども、形成異常に関する発生学的研究を含む基礎的研究は、より合理的な治療方法の開発に役に立つばかりではなく、形成異常の原因の解明、さらには原因の除去といったことに寄与するであろう。

口蓋は発生学的には、切歯孔より前方で、鼻窩と上口唇を形成する一次口蓋と、切歯孔より後方でいわゆる口蓋とよばれる二次口蓋に分けられる。一次口蓋は、内側鼻突起、外側鼻突起および

上顎突起からなる顔面突起によって、ヒトでは胎齢4.5週から6週にかけて形成される。一方、二次口蓋は両側の上顎突起の深部からできてくる2個の口蓋突起より形成される。口蓋突起は、ヒトでは胎齢6週にでき始めて、おのおのの口蓋突起は舌の両側を斜下方へ向かう。7週目になると口蓋突起は方向を変えて、舌の上方へ水平転位し、両側の口蓋突起は癒合して、形成を完了する。

ここでは、一次口蓋の発生について述べるとともに、唇裂ならびに唇裂口蓋裂 (Cleft lip with or without cleft palate)²⁻⁵⁾ を一次口蓋の発生におけるひずみと考えて、併せてその発生学的成因について考察を加えてみる。

1. 顔面間葉組織の起源

顔の発生は形態形成の中でも、とくに複雑なもの1つである。顔のおのおのの部分は特有な起源をもち、最初は単純な形を示しながら(図1)、しだいに複雑さを増して(図2)、最終的にはうまく全体が統合されていく。それゆえ、顔面領域にみられる形成異常もこの顔面形成の複雑さと密接に結びついているはずである。この複雑な形態形

図1 胎齢9日のマウス胎仔の下顔面。鼻板 (NP) がわずかに陥入を始めている。

NP (nasal placode): 鼻板, OC (oral cavity): 口窩。黒線: 50 μ 。

図2 胎齢11日のマウス胎仔の下顔面。顔面突起の癒合が進行中 (矢印)。

MNP (medial nasal process): 内側鼻突起, LNP (lateral nasal process): 外側鼻突起, MP (maxillary process): 上顎突起, OC (oral cavity): 口窩。黒線: 50 μ 。

成の骨格とも考えられる顔面間葉組織は何に由来するのであろうか。両生類^{6,7)}やニワトリ⁷⁻¹⁰⁾による研究から、顔面間葉細胞の起源は神経堤細胞といわれている。これは中胚葉由来の体幹間葉細胞と著しく異なる点である。また、組織化学的方法によって、間接的な証拠しか得られていないけれども、哺乳類の顔面間葉細胞も神経堤細胞由来と考えられている¹¹⁾。

神経堤細胞が移動して顔面領域に到達すると、そこで周囲の環境との相互作用によって、軟骨、骨、結合組織、象牙質、セメント質などに分化する。顔面領域で神経堤細胞由来でないものをあげると、エナメル質、網膜、レンズ、上皮細胞、血管内皮細胞、骨格筋がある¹²⁾。鰓弓領域は顔面領域と若干異なっている。鰓弓領域では最初の中胚葉を上皮が被覆する形をとっている。そこへ神経堤細胞が移動してくると、中胚葉は神経堤細胞によって取り囲まれてしまう。芯になった中胚葉からは、咀嚼筋、表情筋などの鰓弓筋ができ、神経

堤細胞は結合組織と骨に分化する²⁾。

顔面間葉組織を形成する神経堤細胞は神経板周辺の中胚葉より誘導されて^{6,7)}、発生の初期には前脳から後脳にかけての神経ヒダとそのまわりの外胚葉の境目に位置する(図3 a)。神経ヒダは癒合して神経管を形成し、まわりの外胚葉から分かれるが、その前後に神経堤細胞は顔面領域へ移動を始める(図3 b)。神経ヒダの癒合時期は場所によっても、また動物の種によっても異なることから、癒合時期と神経堤細胞の移動開始時期とは無関係とされている¹²⁾。

神経堤細胞は顔面間葉組織以外に、脊髄神経節、自律神経節などの末梢神経節細胞や、シュワン細胞、メラノサイトなどに分化する。どうして、神経堤細胞の移動先がわかったかといえば、両生類では外胚葉由来の細胞が含む卵黄顆粒が小さく、中胚葉由来の細胞とはっきり区別できるた

図3 脊椎動物の横断面図。a. 神経ヒダの癒合直前, b. 神経ヒダの癒合時。神経ヒダ上にあった神経堤細胞(NC) (a)が神経管の側面と体表外胚葉の下を通して移動を開始する(b)。

NC (neural crest): 神経堤細胞, NF (neural fold): 神経ヒダ, NT (neural tube): 神経管, SE (surface ectoderm): 体表外胚葉, M (mesoderm): 中胚葉, NC (notochord): 脊索。

めに、移動して他の細胞と混ざってしまっても神経堤由来の細胞は、容易に判別できるからである⁶⁾。同じ問題について、ニワトリでは、一方の胚芽を $[^3\text{H}]$ チミジンで標識し、この胚芽からとり出した神経堤細胞の一部を、標識のない胚芽の同じ部位に移植する方法を用いて、神経堤細胞の移動先が調べられ、両生類とほぼ同じ結果が得られている^{7,8)}。さらに、神経堤細胞の移動先を知るための、画期的な方法がLe Douarin (1973)¹³⁾によって報告されている。彼女はウズラの神経堤細胞のクロマチンがFeulgen-Rossenbeck染色で濃染されて、明らかにニワトリのクロマチンとは区別できることを利用して、神経堤細胞の移植実験をウズラとニワトリの間で行った。この方法のすぐれている点は、 $[^3\text{H}]$ チミジンを用いた場合にみられる、細胞分裂によるmarkerの拡散がないために、移動先の神経堤由来細胞が明らかに判別できることである。この方法を用いて、彼女は神経堤細胞が移動開始時に、将来分化する細胞のタイプに、すでにプログラムされているのか、それともその時点ではまだ多能性(pluripotential)であるのかという問題に、ほぼ解答を与えている。彼女の得た結果によれば、神経堤細胞はその移動先で周囲の環境との相互作用によって、どういう細胞に分化するか、決められるという^{14,15)}。それ

では、次にどのようにして神経堤細胞は移動するのであろうか。神経堤細胞が移動を始める直前になると、移動経路に相当する場所にヒアルロン酸が出現し、移動が完了するとヒアルロニダーゼが分泌されてヒアルロン酸は消失する。ヒアルロン酸の役割としては、未分化な神経堤細胞が移動途中で周囲の環境と相互作用を起こして、留まることがないようにするためであろうという解釈や、ヒアルロン酸と同時に分泌されるコラーゲンが協同して、神経堤細胞を移動させるという解釈がある¹⁶⁻¹⁸⁾。

2. 顔面突起の形成

最初はほとんど凹凸のないところから(図1)、マウス、ラットでは1日ないし2日たらずの間に、ヒトでは2週間余りを経て、複雑な顔の形ができ上がっていく(図2)。とくに鼻窩や上口唇部の形成の基本要素となる顔面突起(内側鼻突起、外側鼻突起および上顎突起)の形成は、複雑な顔面形成の1つの要であるといえよう。顔面突起はどのようにしてできるのであろうか、その原動力は何か。すでに述べてきたように、顔面間葉組織は神経堤細胞由来であるといわれており、哺乳類においても本質的な違いはないであろう。ニワトリより得られた結果によれば、前頭鼻突起(内側

鼻突起と外側鼻突起)は前脳部分の神経ヒダから移動してくる神経堤細胞によってつくられる。この移動経路は眼の上方を通るが、胚芽の頭部屈曲がこの時期に起こるために、移動距離は比較的短い^{8,9)}。もし何かの原因で移動前に、神経堤細胞の数が減少するようなことがあれば、前頭鼻突起はそれによって影響を受けやすく、唇裂などの形成異常を生じやすいといわれている。これは神経ヒダの上の比較的狭い部分の神経堤細胞が前頭鼻突起の形成にあずかり、しかも移動の途中でいったん停止して分裂増殖するというようなことがなく、短期間に多量の間葉細胞を必要とする一次口蓋の形成を行わねばならないためであろう。実験的にも、ニワトリの胚芽で、将来前頭鼻突起へ移動する部位の神経堤細胞をとり除いてしまうと唇裂が生じる^{19,20)}。また、頭部神経堤細胞が移動を始める直前にX線を照射すると、胎仔の唇裂の頻度が上がる²¹⁾。この場合、神経ヒダの上に細胞死が限局されていることから考えると、これは神経堤細胞の細胞死によって、前頭鼻突起をつくる顔面間葉組織が不足し、それが唇裂の原因になったのであろう。同じ胎齢期に投与された cadmium や vinblastin によっても唇裂ができるが²²⁻²⁵⁾、これらも似たような機序によるのではないと思われる。一方、上顎突起は中脳部分の神経ヒダから移動を起こした神経堤細胞によってできる。この神経堤細胞は眼の下方で、いったん停止してそこで分裂増殖して、一次口蓋の形成期にそこからさらに上顎突起へと移動し、最終的には口蓋突起を形成するにいたる^{8,9)}。マウスやジャコウネズミ(食虫類)では、一次口蓋の形成期を過ぎると、上顎突起が大きく膨らみ、間葉組織が前頭鼻突起までオーバーフローしてくる。この時期までは、マウスとヒトでは、顔の形にさほど大きな差がないことを考えると、この上顎突起の膨らみが、次には口吻の形成へと進むのではないと思われる。すなわち、この時期以後口吻の発達するものと、そうでないものの間では、神経堤細胞の動態がかなり違ったものになるのであろう。そしてこれが口吻のあるマウスと扁平なヒトの顔の差

となって表れるのではないと思われる。

顔の凹凸のきめてになる顔面突起の形成を何が司るのであろうか。顔面間葉組織なのか、もしくは顔面上皮組織なのか、それとも両方なのかという問題である。間葉細胞の分裂増殖が形成の主役であるという説は古くからある²⁶⁻³²⁾。例えば、Warbrick²⁹⁾(1960)は鼻窩の形成について、顔面突起の形成と鼻板の陥入は、その部位での間葉細胞の分裂活性の上昇によるとしている。また Hamilton と Mossman (1972)³²⁾も顔面突起の形成は間葉細胞の分裂によって起こり、これが上皮細胞の分裂を刺激して鼻板の陥入を促進させるとしている^{33,34)}。しかしながら、最近顔面突起が形成されている期間に、とくに間葉細胞の DNA 合成の上昇はみられず、むしろ徐々に下降していくという報告がある^{35,36)}。それゆえ、顔面間葉組織は神経堤細胞として、顔面領域に到達した時点でさかんに分裂をくりかえし、次に上皮細胞との相互作用によって分裂活性は低下するとともに分化が始まり、顔面突起の形成を上皮細胞とともに始めるのではないと思われる。一方、陥入の始まる直前の鼻板上皮には、周辺上皮に比べて非常に数多くの微絨毛(Microvilli)がみられる³⁷⁾。形態形成が始まる直前の上皮にみられる微絨毛は、その部位の上皮の陥入に関わっているという報告や³⁸⁻⁴²⁾、鼻板上皮の微絨毛の出現は鼻板の陥入に直接関与しているという、古くからの報告があるが⁴³⁻⁴⁵⁾、現在のところ鼻板上皮の微絨毛の意味については明確な答はない。

3. 顔面突起からどのようにして一次口蓋が形成されるのか

顔面突起が内側鼻突起、外側鼻突起および上顎突起として隆起すると、次にはこれら突起はいよいよ最終過程の一次口蓋の形成に向かう(図1, 2)。1900年代になってしばらくの間は、隆起してきた顔面突起は互いに癒合して、上口唇と鼻窩を形成すると考えられていた⁴⁶⁻⁴⁹⁾。その後、癒合説を唱える Hochstetter (1891, 1892)^{48,49)}にこっぴどく批判されはしたが、Fischel (1929)⁵⁰⁾は癒

図4 一次口蓋の形成を矢状断面からみたもの。図1の矢状断がa, 図2の矢状断がcに相当する。

a. 鼻板の陥入開始, b. 上向きの矢印が癒合方向, 下向きの矢印が陥入方向を示す。c. 口鼻膜の形成, d. 口鼻膜が破れて一次後鼻孔を形成。

NP (nasal placode): 鼻板, OC (oral cavity): 口窩, NC (nasal cavity): 鼻窩, NF (nasal fin or epithelial wall): 上皮壁, ONM (oronasal membrane): 口鼻膜, PC (primitive choana): 一次後鼻孔。

合説を否定して、鼻窩は鼻板の陥入によってできると考えた。すでに、Pohlman (1910)⁴⁴⁾は癒合だけでは鼻窩の形成は不可能であると考えていたが、その後 Veau (1938, 1942)^{51, 52)}および Streeter (1948)²⁸⁾は Fischel (1929)⁵⁰⁾の陥入説を入れて、鼻窩と上口唇は鼻板の陥入と顔面突起の癒合によって形成されると唱え、現在でもこれは大筋において正しいとされている (図4)。

癒合説の中にも若干の見解の相違がみられる。Hochstetter (1891, 1892)^{48, 49)}は顔面突起の癒合で、最初に形成される上皮の接着部分を上皮壁 (nasal fin もしくは epithelial wall) とよび、これは間葉組織によって破られて (mesenchymal penetration), 両突起間を間葉組織が連結することによって癒合が完了するとした。しかし最近になって、内側鼻突起と外側鼻突起の間は、峡部 (isthmus) で初めからごくわずかではあるが、すでに連結されており、癒合によって、新たに両突起間の間葉組織が連結されるのではないという報告もある^{60, 61)}。

それでは、顔面突起の中でどの突起が互いに癒合するのであろうか。歴史的にはこの論争の方が

古く、現在でもまだ完全に決着のついていない問題である。古典的な説として知られる His (1892, 1901)^{46, 47)}の説によれば、内側鼻突起と外側鼻突起ができ始めると、その下方に上顎突起が接近し、上顎突起は内側鼻突起と外側鼻突起の両方に癒合し、さらに顔の正中中部で両側上顎突起は癒合する。この癒合によって前方 (anterior) では鼻窩ができ、後方 (posterior) 口窩上壁に一次後鼻孔ができる。癒合は上皮組織の接着に始まり、その後接着部の上皮組織が消失して間葉組織が突起間を交通する。この説はその後、Peter (1913) らによって強く支持され^{26, 29, 54, 55, 56)}、最近では Hamilton & Mossman のテキスト³²⁾にも引用されている。一方、Hochstetter (1891, 1892)^{48, 49)}はこの古典説に強く異議を唱え、猫、兎、ヒトについての観察から、上顎突起は鼻窩の形成には加わらず、内側鼻突起と外側鼻突起の癒合によって鼻窩はできる。癒合部分の前方部では間葉組織が両突起間を交通するが、後方部はそのまま残り、陥入してきた鼻窩の最後方部上皮と癒合して、口鼻膜 (oronasal membrane) を形成し、しばらくするとこの口鼻膜は破れて、ここに一次後鼻孔が開く

(図4)。この口鼻膜の存在を初めて明らかにしたのは Hochstetter (1891, 1892)^{48, 49)} である。彼の説はその後、ヒト (Töndury, 1961)⁵⁷⁾、ラット、ヒト、兎 (Lejour-Jeanty, 1965, 1970)^{58, 59)}、マウス (Trasler, 1968)⁶⁰⁾、ハムスター (Waterman & Meller, 1973)³⁷⁾ らでも確かめられている。

3 個の顔面突起の中で、どの顔面突起が互いに癒合するのかわかるという問題は、つきつめていえば、内側鼻突起と他の顔面突起のうちのどれが癒合するのかわかるという問題になる。もし唇裂の原因が、これら 3 個の顔面突起のうちのどれかの異常に由来するようなことがあれば、逆にその突起の癒合への寄与の度合がわかるはずである。

Trasler ら (1968, 1976)^{60, 62)} は胎仔の 10~12% に唇裂をもつ A/J マウスでは、他の系統に比べて内側鼻突起の方向が異常で、外側鼻突起との癒合を困難にしていると報告している。

唇裂口蓋裂をもつヒトについて、明らかに外側鼻突起の発育不全によると思われる例が報告されている⁵⁷⁾。顔面突起ができる時とは逆に、癒合する時は内側鼻突起より外側鼻突起の方が間葉細胞の分裂活性は上がっている^{58, 62)}、その時期に外側鼻突起に、発育障害を起こすような原因があれば、唇裂が起こりうるであろう。妊娠している A/J マウスにダイランチン (phenytoin) を投与すると、胎仔の唇裂の頻度が大幅に高くなる。この場合、唇裂をもつ胎仔の外側鼻突起の発育は著しく悪く、しかも間葉組織の密度も疎であると報告されている⁶³⁾。

神経堤細胞ができる時期にビタミン A を大量投与すると、胎仔に Treacher-Collins 症候群によく似た症状が現れ、上顎突起の形成異常や口蓋裂はみられるけれども、唇裂はできない⁶⁴⁾。それゆえ、これらの実験結果からみると、顔面突起の癒合に直接関わるのは内側鼻突起と外側鼻突起であろうと思われる。

4. 顔面突起の癒合

顔面突起の癒合をここで改めて取り上げるのは、癒合が形態形成にとって重要であり、しかも

近年、いろいろな器官でその機序が詳しく調べられているからである。とくに、二次口蓋では口蓋突起を *in vitro* に移して癒合させることが可能になって以来、数多くのすぐれた研究が発表されている。一次口蓋における癒合の問題は、このところこの二次口蓋の癒合の研究結果を追跡する形をとっているために、ひとまず二次口蓋の癒合について、その概略を述べてみる。

二次口蓋を形成する口蓋突起の癒合は、上皮の接着によって開始される。接着は突起の接着予定部位の上皮細胞表面に、接着直前になって現れる糖皮 (carbohydrate-rich surface coat) によって起こると考えられている。糖皮の存在は植物性凝集素であるコンカナバリン A (Con A)⁶⁵⁾ や、ルテインウム赤⁶⁶⁾によって確かめられている。またグルタミンのアナログである DON (diazo-oxo-norleucine) は *in vitro* で口蓋突起の接着を止めてしまうが、これは上皮細胞表層の糖タンパクの合成が DON によって阻害されたためであろう⁶⁷⁾。口蓋突起の上皮が接着してしばらくすると接着部分の上皮細胞は自己融解を起こして死に始める。器官形成の途中で特定の部位に細胞死 (cell death) が起こることはよく知られている事実であり⁶⁸⁻⁷⁶⁾、これが発生の一定期間に起こることから programmed cell death とよばれている。細胞死は口蓋突起の片側のみを培養しておいても、一定の時期がくれば現れる⁷⁷⁾、また自然発現型の唇裂口蓋裂をもつ A/J マウスの胎仔の口蓋突起の上皮にもみられる⁷⁸⁾。それゆえ、口蓋突起の上皮接着部位にみられる細胞死もこの programmed cell death と考えられている。

口蓋突起の [³H] チミジンの取り込みを調べてみると、突起上皮の接着予定部位のみが接着する 36 時間くらい前から DNA 合成を停止する。この部位での RNA 合成や糖タンパク合成の低下はみられず、しかも隣接組織の上皮や間葉は DNA 合成を継続していることから、これは programmed cell death の最初の徴候であろうと考えられている⁷⁹⁾。一方、突起が接着する 24 時間前あたりから、cyclic-AMP のレベルの上昇が突起中に認め

られ⁷⁹⁾, しかも *adenylate cyclase* の活性が接着予定部位の上皮に限局してみられる⁸⁰⁾。接着能力がまだない胎齢14日のラットの口蓋突起に, *in vitro* で *dibutyl cAMP* を与えると, 接着予定部位は DNA 合成を停止し, 糖タンパク合成を増加させる。それゆえ, 接着予定部位に起こる, このような細胞増殖能の低下と細胞接着能の亢進は *cyclic nucleotide* によって調節されているのであろう。

cyclic-AMP の増加, DNA 合成の停止, 上皮表面の糖皮の出現, 上皮の接着そして接着部位の細胞死といった現象が, 顔面突起の癒合にも, すなわち一次口蓋の形成時にもみられるのであろうか。答えは不完全ではあるけれども, それを裏づける証拠はすでに報告され始めている⁸¹⁻⁸⁷⁾。上皮細胞表面の糖皮の存在については, すでに確認されており⁸¹⁻⁸⁵⁾, しかも糖皮の合成を阻害することにより, *in vitro* で唇裂を誘導することが可能である⁸⁶⁾。顔面突起接着部上皮の細胞死についてはすでに古くから報告がある^{58, 60)}。細胞死について, 顔面突起と口蓋突起を比較してみると, 顔面突起では, 上皮細胞が死に始めるときは, 特定の細胞内小器官の変性はみられず, 核および細胞質全体が濃縮した後に, バラバラに壊れる⁸⁷⁾。また, 接着部の上皮細胞は全部は死んでしまわず, 生き残っている上皮細胞は死んだ上皮細胞を喰食し(*isogenic heterophagy*), 最終的には周辺の上皮組織にくみこまれてしまう⁸⁷⁾。口蓋突起の場合は, ミトコンドリアの膨脹がみられ, 次に細胞内リソソーム酵素によって自己融解が始まる。しかも, 接着部上皮は全部死んで, 間葉細胞由来の *macrophage* によって喰食されてしまう⁸⁸⁻⁹¹⁾。顔面突起と口蓋突起の癒合にみられる, 細胞死のこのような違いが本質的なものなのかどうかは, いまのところは不明である。

おわりに

以上が一次口蓋の発生についての概要である。二次口蓋に比べて形態が複雑なために, 研究が大幅に遅れているのが現状である。 *in vitro* での一

次口蓋の研究がやっと最近になって可能になったところである。唇裂の原因と併せて, 今後一次口蓋の研究は大きく前進するものと思われる。

文 献

- 1) Neel, J. V.: A study of major congenital defects in Japanese infants. *Am. J. human Genet.*, 10: 398-445, 1958.
- 2) Ross, R. B. & Johnston, M. C.: Cleft lip and palate. Baltimore, 1972, The Williams & Wilkins.
- 3) Traster, D. G. & Fraser, F. C.: Role of the tongue in producing cleft palate in mice with spontaneous cleft lip. *Develop. Biol.*, 6: 45-60, 1963.
- 4) Atherton, J. D.: A descriptive anatomy of the face in human fetuses with unilateral cleft lip and palate. *Cleft Palate J.*, 4: 104-114, 1967.
- 5) Harris, J. W. S.: Influence of hare-lip on closure of the secondary palate in strain A mouse embryos (Abstr.). *J. Anat.*, 105: 216, 1969.
- 6) Horstadius, S.: The Neural Crest. Oxford Press, Oxford, England, 1950.
- 7) Weston, J. A.: The migration and differentiation of neural crest cells. *Advances Morph.*, 8: 41-114, 1970.
- 8) Johnston, M. C.: A radioautographic study of the migration and fate of the cranial neural crest cells in the chick embryo. *Anat. Rec.*, 156: 143-155, 1966.
- 9) Noden, D. M.: An analysis of the migratory behavior of avian cephalic neural crest cells. *Develop. Biol.*, 42: 106-130, 1975.
- 10) LeLievre, C. S.: Participation of neural crest-derived cells in the genesis of the skull in birds.
- 11) Malair, J.: Predifferentiation cytochemie des divers ebauches cephaliques chez l'embryon des souris. *Arch. Biol.*, 70: 588-730, 1959.
- 12) Johnston, M. C.: The neural crest in abnormalities of the face and brain. In Bergsma, D. (ed.): *Morphogenesis and malformation of face and brain. Birth defects: original article series*, Vol. XI, No. 7, New York, 1975, Alan R. Liss, Inc. pp. 1-18.
- 13) LeDouarin, N. M.: A biological cell labeling technique and its use in experimental embryology. *Develop. Biol.*, 30: 217-222, 1973.
- 14) LeDouarin, N. M.: Influence of the tissue environment on the differentiation of neural crest cells. In Lash, J. W. and Burger, M. M. (eds.): *Cell and tissue interactions*. New York, 1977,

- Raven Press, pp. 11-27.
- 15) LeDouarin, N. M., Teillet, M. A., Ziller, C. & Smith, J.: Adrenergic differentiation of cells of the cholinergic ciliary and Remak ganglia in avian embryo after in vivo transplantation. *Proc. Natl. Acad. Soc., U.S.A.*, 75: 2030-2034, 1978.
 - 16) Tool, B. P. & Gross, J.: The extra cellular matrix of the regenerating newt limb: Synthesis and removal of the hyaluronate prior to differentiation. *Develop. Biol.*, 25: 57-77, 1971.
 - 17) Tool, B. P. & Trelstad, R. L.: Hyaluronate production and removal during corneal development in the chick. *Develop. Biol.* 26: 28-35, 1971.
 - 18) Pratt, R. M., Larsen, M. A. & Johnston, M. C.: Migration of cranial neural crest cells in a cell-free hyaluronate-rich matrix. *Develop. Biol.*, 44: 298-305, 1975.
 - 19) Johnston, M. C.: Facial malformation in chick embryo resulting from removal of nural crest. (Abstract). *J. dent. Res.* 43: 822, 1964.
 - 20) Been, W. & Liew Kie Song, S. H.: Harelip and cleft palate conditions in chick embryos following local destruction of the cephalic neural crest. A preliminary Note. *Acta. Morphol. Neerl.-Scand.*, 16: 245-255, 1978.
 - 21) Bhakdinaronk, A., Eto, K. & Johnston, M. C.: X-irradiation and the frequency of cleft lip in A/J mice. *Teratology*, in press, 1980.
 - 22) Ferm, V. H. & Carpenter, S. J.: The relationship of cadmium and zinc in experimental mammalian teratogenesis. *Lab. Invest.* 18: 429-432, 1968.
 - 23) Mulvihill, J. E., Gamm, S. H. & Ferm, V. H.: Facial formation in normal and cadmium-treated golden hamsters. *J. Embryol. exp. Morph.*, 24: 393-403, 1970.
 - 24) DeMyer, W.: Vinblastine-induced malformation of face and nervous system in two rat strains. *Neurology*, 14: 806-808, 1964.
 - 25) DeMyer, W.: Cleft lip and jaw induced in fetal rats by vincristine. *Arch. Anat. Histol. Embryol.*, 48: 179-186, 1964.
 - 26) Kallius, E.: Bardeleben's Handbuch der Anatomie der Menschen, Vol. 5, Part 1. Jena, 1905, Fischer.
 - 27) Schaeffer, J. P.: The lateral wall of the cavum nasi in man, with especial reference to the various developmental stages. *J. Morphol.*, 21: 613-708, 1910.
 - 28) Streeter, G. L.: Developmental horizons in human embryos. *Cont. Embryol. Carn. Instn. Washington*, 32: 133-203, 1948.
 - 29) Warbrick, J. G.: The early development of the nasal cavity and upper lip in the human embryo. *J. Anat.*, 94: 351-362, 1960.
 - 30) Patten, B. M.: *Foundation of Embryology*. New York, 1964, McGraw-Hill.
 - 31) Andersen, H. & Matthieseen, M.: Histochemistry of the early development of the human central face and nasal cavity with special reference to the movements and fusion of the palatine processes. *Acta anat.*, 68: 473-508, 1967.
 - 32) Hamilton, W. J. & Mossman, H. W.: *Human Embryology*. Baltimore, 1972, Williams & Wilkins.
 - 33) Rutter, W. J., Pictet, R. L. & Morris, P. W.: Toward molecular mechanism of developmental processes. *Annu. Rev. Biochem.*, 42: 601-646, 1973.
 - 34) Levine, S., Pictet, R. & Rutter, W. J.: Control of cell proliferation and cytodifferentiation by a factor reacting with the cell surface. *Nature*, 246: 49, 1973.
 - 35) Minkoff, R. & Kuntz, A. J.: Cell proliferation during morphogenetic change: Analysis of frontonasal morphogenesis in the chick embryo employing DNA labeling indices. *J. Embryol. exp. Morph.*, 40: 101-113, 1977.
 - 36) Minkoff, R. & Kuntz, A. J.: Cell proliferation and cell density of mesenchyme in the maxillary process and adjacent regions during facial development in the chick embryo. *J. Embryol. exp. Morph.*, 46: 65-74, 1978.
 - 37) Waterman, R. E. & Meller, S. M.: Nasal pit formation in the hamster: A transmission and scanning electron microscopic study. *Develop. Biol.*, 34: 255-266, 1973.
 - 38) Wrenn, J. T. & Wesselis, N. K.: An ultrastructural study of lens invagination in the mouse. *J. Exp. Zool.*, 171: 359-368, 1969.
 - 39) Wrenn, J. T.: An analysis of tubular gland morphogenesis in chick oviduct. *Develop. Biol.*, 26: 400-415, 1971.
 - 40) Adler, R.: Ultrastructural changes associated with an invagination phenomenon in embryonic neural aggregates. *Exp. Cell Res.*, 68, 395-403, 1971.
 - 41) Freeman, B. G.: Surface modifications of neural epithelial cells during formation of the neural tube in the rat embryo. *J. Embryol. exp. Morph.*, 28: 437-448, 1972.
 - 42) Spooner, B. S. & Wesselis, N. K.: An analysis of salivary gland morphogenesis: Role of cyto-

- plasmic microfilaments and microtubules. *Develop. Biol.*, 27: 38-54, 1972.
- 43) Bedford, E. A.: The early history of the olfactory nerve in swine. *J. compt. Neural.*, 14: 390-410, 1904.
 - 44) Pohlman, E. G.: Die embryonale Metamorphose der Physiognomen und der Mundhole des Katzen Kopfes. *Morphol. Jahrb.*, 41: 617-676, 1910.
 - 45) Peter, K.: Atlas der Entwicklung der Nase und des Gaumens beim Menschen. Jena, 1913, Fisher.
 - 46) His, W.: Die Entwicklung der menschlich und thierischer Physiognomen. *Arch. Anat. Physiol.*, 27: 384-424, 1892.
 - 47) His, W.: Beobachtungen zur Geschichte der Nasen und Gaumenbildung beim menschlichen Embryonen. *Abh. Geb. Naturw.*, 27: 349-389, 1901.
 - 48) Hochstetter, F.: Über die inneren Nasengänge oder primitiven Choanen. *Verh. Anat. Ges.*, 6: 145-151, 1891.
 - 49) Hochstetter, F.: Über die Bildung per primitiven Choanen beim Menschen. *Verh. Anat. Ges.*, 7: 181-183, 1892.
 - 50) Fischel, A.: Entwicklung des Menschen. Wien und Berlin, 1929. Verlag von J. Springer.
 - 51) Veau, V.: Hasenscharten menschlicher keimlinge auf der Stufe 21-23mm. *SSL. Z. Anat. Entwicklungsgesch.*, 108: 459-993, 1938.
 - 52) Veau, V.: Hasenscharten bei Hundekeimlingen von 11-14mm. *SSL. Z. Anat. Entwicklungsgesch.*, 111: 433, 1942.
 - 53) Peter, K.: Atlas der Entwicklung der Nasen und des Gaumens beim Menschen. Fischer. Jena. Germany, 1913.
 - 54) Peter, K.: Die Beteiligung der Gesichtsfortsätze an der Bildung des Primitiven Gaumens. *Anat. Anz.*, 97: 11-116, 1950.
 - 55) Warbrick, J. G.: Aspects of facial and nasal development. *Sci. Basis Med. Ann. Rev.*, 99: 112-120, 1963.
 - 56) Inouye, N.: Der Zwischenkiefer. Seine Entstehung und der Verlauf der Hasenscharten-Kieferspalte. *Anat. Hefte*, 45: 471-610, 1912.
 - 57) Töndury, G.: Mechanism of cleft formation. In *Congenital Anomalies of the Face and Associated Structures*, edited by S. Prusansky. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1961.
 - 58) Lehour-Jenty, M.: Etude morphologique et cytochemique du development du palais primaire chez le rat (Complete des observations chez le lapin et l'homme). *Arch. Biol.*, 76: 97-168, 1965.
 - 59) Lejour, M.: Cleft lip induced in the rat. *Cleft Palate J.* 7: 169-186, 1970.
 - 60) Trasler, D. G.: Pathogenesis of cleft lip and its relation to embryonic face shape in A/Jax and C57BL mice. *Teratology*, 1: 33-50, 1968.
 - 61) Andersen, H. & Mathiessen, M.: Histochemistry of the early development of the human central face and nasal cavity with a special reference to the movement and fusion of the palatine processes. *Acta Anat.*, 68: 473-508, 1967.
 - 62) Juriloff, D. M. & Trasler, D. G.: Test of the hypothesis that embryonic face shape is a causal factor in genetic predisposition to cleft lip in mice. *Teratology*, 14: 35-42, 1976.
 - 63) Sulik, K. K., Johnston, M. C., Ambrose, L. J. H. & Dorgan, D.: Phenytoin (Dilantin)-induced cleft lip and palate in A/J mice: A scanning and transmission electron microscopic study. *Anat. Rec.*, 195: 243-256, 1979.
 - 64) Morriss, G.: The ultrastructural effects of excess maternal vitamin A on the primitive streak stage rat embryo. *J. Embryol. exp. Morph.*, 24: 219-242, 1973.
 - 65) Pratt, R. M. & Hassell, J. R.: Appearance and distribution of carbohydrate-rich macromolecules on the epithelial surface of the developing rat palatal shelf. *Devel. Biol.*, 45: 192-198, 1975.
 - 66) Greene, R. M. & Kochhar, D. M.: Surface coat on the epithelium of developing palatine shelves in the mouse as revealed by electron microscopy. *J. Embryol. exp. Morph.*, 31, 683-692, 1974.
 - 67) Greene, R. M. & Pratt, R. M.: Inhibition by diazo-oxo-norleucine (DON) of rat palatal glycoprotein synthesis and epithelial cell adhesion in vitro. *Exp. Cell. Res.*, 105: 27-37, 1977.
 - 68) El-Shershaby, A. M. & Hinchliffe, J. R.: Cell redundancy in the zona-intact preimplantation mouse blastocyst: a light and electron microscope study of dead cells and their fate. *J. Embryol. exp. Morph.*, 31: 643-654, 1974.
 - 69) El-Shershaby, A. M. & Hinchliffe, J. R.: Epithelial autolysis during implantation of the mouse blastocyst: an ultrastructural study. *J. Embryol. exp. Morph.*, 33: 1067-1080, 1975.
 - 70) Smith, A. F. & Wilson, I. B.: Cell interaction at the maternal-embryonic interface during implantation in the mouse. *Cell Tiss. Res.*, 152, 525-542, 1974.
 - 71) Farbman, A. I.: Electron microscope study of

- palate fusion in mouse embryos. *Develop. Biol.*, 18: 93-116, 1968.
- 72) Farbman, A. I.: The epithelium-connective tissue interphase during closure of the secondary palate in rodent embryos. *J. Dent. Res.*, 48: 617-624, 1969.
 - 73) Hinrichsen, C. F. L. & Stevens, G. S.: Epithelial morphology during closure of the secondary palate in the rat. *Arch. Oral. Biol.*, 19: 969-980, 1974.
 - 74) Hayward, A. F.: Ultrastructural changes in the epithelium during fusion of the palatal processes in rats. *Arch. Oral. Biol.*, 14: 661-678, 1969.
 - 75) Ojeda, J. L. & Hurle, J. M.: Cell death during the formation of tubular heart of the chick embryo. *J. Embryol. exp. Morph.*, 33: 523-534, 1975.
 - 76) Schluter, G.: Ultrastructural observations on cell necrosis during formation of the neural tube in mouse embryos. *S. Anat. Entwickl.-Gesch.*, 141: 251-264, 1973.
 - 77) Tyler, M. S. & Koch, W. E.: In vitro development of palatal tissues from embryonic mice. II Tissue isolation and recombination studies. *J. Embryol. exp. Morph.*, 38: 19-36, 1977.
 - 78) Smiley, G. R. & Koch, W. E.: An in vitro and in vivo study of single palatal processes. *Anat. Rec.*, 173: 405-416, 1972.
 - 79) Pratt, R. M. & Martin, G. R.: Epithelial cell death and cyclic AMP increase during palatal development. *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.*, 72: 874-877, 1975.
 - 80) Greene, R. M. & Pratt, R. M.: Correlation between cyclic-AMP levels and cytochemical localization of adenylate cyclase during development of the secondary palate. *J. Histochem. Cytochem.*, 27: 924-931, 1979.
 - 81) Smuts, M. S.: Concanavalin A binding to the epithelial surface of the developing mouse olfactory placode. *Anat. Rec.*, 188: 29-38, 1977.
 - 82) Gaare, J. D. & Langman, J.: Fusion of nasal swellings in the mouse embryo: Surface coat and initial contact. *Am. J. Anat.*, 150: 461-476, 1977.
 - 83) Figueroa, A. A. & Pratt, R. M.: Autoradiography study of macromolecular synthesis in the fusion epithelium of the developing rat primary palate in vitro. *J. Embryol. exp. Morph.*, 50: 145-154, 1979.
 - 84) Burk, D., Sadler, T. W. & Langman, J.: Distribution of surface coat material on nasal folds of mouse embryos as demonstrated by concanavalin A binding. *Anat. Rec.*, 193: 185-196, 1979.
 - 85) Figueroa, A. A. & Green, R. M.: Transient elevation of cyclic AMP during primary palate development. *Teratology*, 17: 30A, 1978.
 - 86) Eto, K., Figueroa, A., Tamura, G. & Pratt, R. M.: Induction of cleft lip in cultured rat embryos by localized administration of tunicamycin. *J. Embryol. exp. Morph.*, in press, 1980.
 - 87) Gaare, J. D. & Langman, J.: Fusion of nasal swellings in the mouse embryo: Regression of the nasal fin. *Am. J. Anat.*, 150: 477-500, 1977.
 - 88) Mato, M., Smiley, G. R. & Dixon, A. D.: Epithelial changes in the presumptive regions of fusion during secondary palate formation. *J. Dent. Res.*, 5: 1451-1456, 1972.
 - 89) Shapiro, B. L. & Sweeney, L.: Electron microscopic and histochemical examination of oral epithelial-mesenchymal interaction (programmed cell death). *J. dent. Res.*, 48: 652-660, 1969.
 - 90) Sweeney, L. R. & Shapiro, B. L.: Histogenesis of Swiss mouse secondary palate from nine and one-half days to fifteen and one-half days in utero. I. Epithelial-mesenchymal relationships-light and electron microscopy. *J. Morph.*, 130: 435-450, 1970.
 - 91) Schweichel, J. U. & Merker, H. J.: The morphology of various types of cell death in prenatal tissues. *Teratology*, 7: 253-266, 1973.