Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) and Tooth Development

骨形成因子(BMP)と歯牙発生

Peterková, R.; Turečková, J.; Lesot, H.*; Vonesch, J.-L.**; Peterka, M.; and Ruch, J.V.*

Department of Teratology, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Vídenská 1083, 142 20 Prague 4, Czech Republic

FAX: 420-2-4752604, E-mail: repete@biomed.cas.cz

*INSERM U-424, Institut de Biologie Médicale, Strasbourg, France

**Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France

Key Words: apoptosis, BMP, development, mouse, tooth

Abstract

Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) exhibit multiple functions during development. They are assumed to play signaling roles in the mediation of epithelio-mesenchymal interactions during tooth development and repair. This review aims to survey the hitherto data on BMPs during tooth development with an attempt to stress a possible functional relationship between epithelial BMPs expression and regressive processes representing integral part of normal odontogenesis. During tooth development, BMPs gene transcription appears to be involved in early condensation and further differentiation of the dental mesenchyme and of its derivatives. The expression of BMPs transcripts in the dental epithelium, however, is specifically restricted both in space and time during prenatal development. In mouse, these sites of BMP-2, BMP-4 and BMP-7 transcripts mostly fit with the areas, where apoptosis has been reported during reduction or even elimination of specific dental epithelial cell populations: i. rudimental tooth primordia in the prospective mouse diastema, ii. the enamel knot, iii. ameloblasts, iv. the residual dental lamina (gubernaculum of the enamel organ). These data strongly suggest involvement of the BMP-4 in upregulation of apoptosis also during odontogenesis. A possible implication of other BMPs and their precise role in regressive processes should be investigated.

要 約

骨形成因子(BMP)は、発生過程においてさまざまな機能を發揮している。BMPは歯の発生と修復における上皮-間充織間相互作用においてシグナルを伝達する役割を果たしていると考えられている。この総説は、歯の上皮におけるBMPの発現及び正常な歯牙発生において不可欠と考えられる後退という現象に関するBMP-4の役割に重点を置いて、これまでの研究を紹介する。歯の発生過程、特に間充織細胞においては、その凝集及びその後の分化にBMP遺伝子の活性が関わっているようである。しかしながら、歯の上皮におけるBMP転写産物の発現は胎仔期の発生の過程に時間的にも空間的にも限られている。マウスではBMP-2、BMP-4、BMP-7の転写産物のほとんどは、歯の特異的な上皮細胞集団が減少したり除去される過程で、アポトーシスが起こっているところと一致して存在する。例えば、i. マウスの予定歯隙領域の中の未発達な歯原基、ii. エナメル結節、iii. エナメル芽細胞、iv. 歯堤 (エナメル器官の導帯) 痕跡組織などである。これらのデータは歯牙発生において、BMP-4はアポトーシスの促進にも関与していることを強く示唆する。BMP-4と他のBMPとの関係や後退の過程におけるBMP-4の正確な役割については今後さらに研究されるべき課題である。

A. Introduction

Transforming growth factors β (TGF β) exhibit diverse biological activities. They play a central role among regulators of cell behaviour (proliferation, differentiation, migration, and apoptosis), being involved in tissue formation and repair (1-6). TGF β s play essential roles during embryogenesis and organogenesis in both vertebrates and invertebrates (7); they are assumed to mediate specific tissue interactions (8-10).

The TGF β superfamily is subdivided into several groups (11). Most of them belong to TGF β s subgroup, including TGF β s 1-5, and BMP/DVR subgroup (Fig. 1) represented be-

A. はじめに

トランスフォーミング成長因子TGF β (TGF β)はさまざまな生理活性を示す。TGF β は組織の形成及び修復(1-6)に関与するさまざまな細胞の状態(増殖、分化、移動、アポトーシス)の調節において中心的な役割を果たしている。TGF β は脊椎動物や無脊椎動物において発生過程や器官形成の過程で不可欠な役割を果たしている(7)。とりわけTGF β はさまざまな組織間相互作用を仲介している分子であると考えられている(8-10)。

TGF β スーパーファミリーはいくつかのグループに分かれているが(11)、その大部分はTGF β 1-5を含むサブグループと、ショウジョウバエ decapentaplegic (dpp) 遺伝子と骨形成因子

Fig. 1. The BMP superfamily. Members that belong to the same subfamily are enclosed by boxes. This figure was modified according to Hogan (6).

side others by the *Drosophila* decapentaplegic (*dpp*) gene and by Bone Morphogenetic Proteins (BMPs)-2-8 (11, 12). The *dpp* is structurally and functionally related to the BMP-2 and BMP-4 in mammals (13-15) and both types of factors may be considered as descendants of a common ancestral gene (13). The BMP name has been introduced (16) on the basis of the ability of demineralized bone extracts to induce bone formation and repair (17, 18). Together with other members of the DVR subgroup, BMPs also regulate various aspects of embryonic development (6, 7, 10, 12, 14, 19, 20), including organization of the embryonic dorsal-ventral pattern in *Drosophila* (13, 22, 23-25), and *Xenopus* (26-29). The BMPs interact with serine/threonine kinase receptor family (12, 30-37). The Mad proteins have been suggested to represent a new class of transcription factors mediating nuclear responses to the signals transduced through serine/threonine kinase receptors (36, 38). The first reports suggesting an involvement of BMPs in regulation of tooth development and possible mediation of tissue interactions have been brought by Lyons *et al.* (20) and Bègue-Kirn (39) for the BMP-2 and by Heikinheimo (40) and Vainio *et al.* (41) for BMP-4 and BMP-6. During recent years further data were accumulated and supported the important roles of BMPs in tooth development.

The developing teeth represent a useful tool for studies of both general mechanisms of organ development and specific regulatory factors involved in tooth class patterning and morpho-histo-cyto-differentiations. Odontogenesis begins during early stages of cranio-facial formation and involves interacting oral epithelium and mesenchyme. The progressive

(BMPs) 2-8 (11, 12) に代表される BMP/DVR サブグループに分かれる (図 1)。dpp は構造的にも機能的にも哺乳類の BMP-2 と BMP-4 と関連しており (13-15)、両方のタンパク質因子に共通の祖先遺伝子の子孫だと考えられている (13)。BMP の名は脱塩した骨抽出物が骨の形成や修復を誘導する活性がある (17, 18) ということから導入された (16)。他の DVR サブグループのメンバーとともに、BMP もショウジョウバエ (13, 22, 23-25) やアフリカツメガエル (26-29) 胚の背-腹パターンの形成を含む様々な胚発生過程を制御している (6, 7, 10, 12, 14, 19, 20)。BMP はセリン/スレオニンキナーゼ型受容体ファミリーと相互作用する (12, 30-37)。Mad タンパク質はセリン/スレオニンキナーゼ型受容体から伝達されるシグナルを核へ仲介する新しいクラスの転写因子であると考えられている (36, 38)。Lyons ら (20) と Bègue-Kirn (39) により BMP-2 が、さらに Heikinheimo (40) と Vainio ら (41) により BMP-4 と BMP-6 が歯の発生を制御し組織間相互作用を仲介していることを最初に示した。最近数年間でさらなるデータが集積しており、BMP が歯の発生において重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。

歯芽の発生は歯のパターン形成と形態学的・組織学的・細胞学的分化に必要な特異的制御因子の役割と器官形成の一般的な機構の両方を研究するための良い材料である。歯芽形成は頭蓋・顔面形成の初期に歯芽上皮と間充織の間の相互作用として始まる。歯芽の発達は上皮成分の形の発達に応じて数段階に分け

Fig. 2. A schematic representation of the expression patterns (dotted area) of the BMP-2 and BMP-4 transcripts in the maxilla of mouse embryos harvested at 20 hours (8 p.m.) of the embryonic day 10, 11, 12 (stage 10/20, 11/20, 12/20) and at 8 hours (8 a.m.) of the embryonic day 12 and 13 (stage 12/8 and 13/8), when the day of the vaginal plug is considered as day 0 of pregnancy. Rectangle corresponds to the incisor anlage and the black point to the primary choana, whose level delimited the anterior margin of the area under investigation. D2 and D3, the second and third diastemal primordium at day 12 and 13 or their assumed position at earlier stages (Due to its short half-life, D1 anlage is not indicated in front to D2). M - molar anlage; LF and CF - lip and cheek furrow, respectively. A short arrow points the palatal shelf margin. Modified according to Turečková *et al.* (42)

development of a tooth has been subdivided in several successive stages, called according to the shape of its epithelial component: thickening, dental lamina, bud, cap and bell. In specific areas on the oral side of the medial nasal, maxillary and mandibular facial outgrowths, the oral epithelium exhibits thickening. The thickened epithelium infolds into the adjacent condensing mesenchyme forming the dental lamina. The epithelium grows further and swellings forming tooth buds develop; the adjacent mesenchyme becomes concentrically arranged around them. The swollen epithelium projects further into the mesenchyme forming the walls of the cap shaped enamel organ, surrounding the mesenchymal papilla in its concavity. The epithelium of the cap progressively differentiates into the inner and outer dental cells and stellate reticulum. The surrounding mesenchyme starts to differentiate in the dental sac. During the

で名付けられている：肥厚期、歯層期、歯芽期、帽状期、鐘状期である。上顎骨の鼻骨中骨の口の側と下顎骨の口の側で歯芽上皮が先ず肥厚する。肥厚した上皮は隣接して凝縮してくる間充織の中に巻き込まれて歯層を形成する。上皮は更に成長し膨らんで歯芽を形成し、隣接する間充織は歯芽を同心円的に取り囲む。歯芽は肥厚して、間充織の中に突入して帽状形のエナメル器官を形作り、間充織由来の歯根小乳頭突起をそのくぼみに納める。帽状組織は徐々に内部および外部歯細胞と周辺の網状組織へと分化する。上皮を取り囲んでいる間充織は歯嚢へと分化し始める。鐘状期にはエナメル器官の周辺部は更に伸長して歯頸部環を形成し、鐘状のくぼみの中で歯根小乳頭突起を取り囲む。上皮の薄い層は内部歯上皮と周辺の網状組織細胞の間に

bell stage, the margins of the enamel organ further elongates forming the cervical loop (junction between the inner and outer dental epithelium) enclosing the dental papilla in the bell cavity. Thin layer of the epithelial cells (stratum intermedium) arises between the inner dental epithelium and stellate reticulum cells. The tooth specific cusp pattern is determined by final shape of the junction between the inner dental epithelium (giving rise to ameloblasts) and adjacent mesenchymal cells of the dental papilla (giving rise to odontoblasts). The surrounding mesenchyme forms to the dental sac including the prospective cementoblasts.

This minireview focuses on BMPs expression and their putative role during odontogenesis.

B. BMPs Expression during Dental Lamina and Bud Formation

BMP-2 transcripts are not present in the dental mesenchyme at early stages of tooth development in mouse (20, 41-43.). Lyons *et al.* (20) have reported the epithelial BMP-2 signal at the top of the early tooth bud in mouse embryos. Taking into consideration the BMP-2 expression at later stages (see part C) and the expression of other members of the TGF β superfamily, the authors suggested a possible coordinated function of various members of TGF β during tooth development (20). Vainio *et al.* (41) found no expression of BMP-2 before the cap stage in mouse. More recent data have documented a distinct and spatially restricted BMP-2 epithelial signal from the early dental lamina stage in mouse upper jaw (42), (Fig. 2). The signal was detected also in the thickened dental lamina in mouse mandible (43).

Recently, BMP-2 and BMP-7 transcripts were found at the top of the bud shaped epithelium in mandible in day 13.5 mouse embryos, and related to the initiation of enamel knot of the first lower molar (44).

Vainio *et al.* (41) described a shift of the BMP-4 signal from the dental epithelium to the surrounding mesenchyme during the bud stage in day 12-13 mouse embryos. This shift represents one of the pivotal arguments to support the hypothesis of BMPs intervening as mediators in the reciprocal epithelio-mesenchymal interactions during early tooth development (41, 45-47). However, further ISH study did not confirm such a shift for the upper jaw in mouse embryos (42): BMP-4 transcripts were detected both in the epithelium and mesenchyme of the maxillary antemolar region from day 10 (Fig. 2). The area of the mesenchymal expression of BMP-4 extended up to the posterior end of the maxillary odontogenic zone from day 11. A strong signal was observed above the lateral part of the dental epithelium (and laterally to it). Later, the signal also spread medially. On the contrary, the area of the BMP-4 epithelial expression remained restricted to the rudimental tooth primordia present transiently in the upper diastema (48), and the anterior pole of the dental epithelium in the cheek region (similarly to BMP-2), (Fig. 2).

形成される。歯に特異的な咬頭パターンは(最終的にはエナメル芽細胞となる)内部歯上皮と隣接する間充織の(最終的には象牙芽細胞となる)歯根小乳頭突起との間の連結点の最終的な形によって決定される。取り囲んでいる間充織はセメント芽細胞を含む歯嚢を形成する。

ここではBMPの発現と、それから推定される歯牙発生における BMP の役割に焦点を当てる。

B. 歯堤と蕾形成における BMP の発現

BMP-2 の転写産物は、マウスの歯の初期発生の段階では、歯間充織内には発現していない (20, 41-43)。Lyons ら (20) はマウス初期胚の歯蕾の先端上皮において、BMP-2 が発現されていることを報告した。さらに発生後期における BMP-2 の発現 (パート C 参照) と TGF β スーパーファミリーの他のメンバーの発現とを考慮に入れ、彼らは歯の発生においてさまざまな TGF β のメンバーが相互に関与していることの可能性を示唆している (20)。Vainio ら (41) はマウスにおいて帽状期以前では BMP-2 は発現していないと報告している。ところが最近のデータから、マウスの上顎の初期歯堤期において、BMP-2 の特異的なシグナルが存在することが示されている (42) (図 2)。また、このようなシグナルはマウスの下顎骨の肥厚した歯堤にも検出された (43)。

最近マウス 13.5 日胚において、BMP-2 と BMP-7 が下顎骨の蕾状上皮の先端に発現していることが明らかとなり、下顎第一臼歯のエナメル結節形成の開始と関連づけられた (44)。

Vainio ら (41) は、マウス 12-13 日胚において BMP-4 シグナルが歯上皮から周囲の間充織に移行することを示した。この移行は歯牙発生初期において、BMP が上皮-間充織間相互作用を仲介しているという仮定を強く示唆する重要な証拠の一つである (41, 45-47)。しかしながら、*in situ* ハイブリダイゼーション法 (ISH) によりさらに調べた結果、マウス上顎においてはそのような移行は確認できなかった (42)。BMP-4 は 10 日胚より、上顎の予定臼歯領域の上皮と間充織の両方に発現している (図 2)。間充織内での BMP-4 の発現領域は、11 日胚から上顎の歯の形成領域の後端にまで達する。歯上皮の側方領域(とその側方)の上に強いシグナルが見られる。その後、シグナルは中心部にも広がる。それとは反対に、BMP-4 の上皮における発現は、上顎の歯隙に一過的に存在する痕跡的な歯原基 (48) と、頬の領域の歯上皮の前端 (BMP-2 と似ている) に限られている (図 2)。

Our morphological data documenting regression associated with apoptosis, which affects the developmentally most advanced dental epithelium in the upper jaw in mouse embryos until day 13.5 (see part E-1), provide an alternative explanation about possible role of the BMPs during early stages of mouse odontogenesis (see part F-1).

BMP-3, BMP-5 and BMP-6 transcripts were not detected in bud staged molars in day 13.5 mouse embryos (44).

C. BMPs Expression during Dental cap and Bell Formation

BMP-2 signal was found to be restricted to the cuspal region of the inner dental epithelium during the cap stage of the first molar in day 14 mouse embryos. On day 16, the signal shifted to the dental papilla (41). During the bell stage, the BMP-2 signal was only observed in dental papilla cells (20, 41). BMP-4 expression was reported only in the cuspal mesenchymal cells during cap and bell stages of the first mouse molar (41). BMP-7 transcripts were expressed in the inner dental epithelium of cap staged first mouse molar. At the bell stage, the signal was stronger in the future cusps region and gradually shifted to the mesenchyme of the dental papilla. This shift might be related to the mediation of epithelio-mesenchymal interactions (49).

The expressions of BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5 and BMP-7 were investigated in relation with the enamel knot formation in the cap of the lower first molar in mouse (44). Positive signals for BMP-2, BMP-4 and BMP-7 were detected in the epithelial cells of the enamel knot, which has been suggested to act as a signaling center regulating growth of tooth cusps (44).

BMP-3 transcripts were expressed in the dental follicle cells surrounding the tooth germ at the bell stage in mouse, suggesting a signaling between the tooth germ and its surrounding alveolar bone (49, 50).

In human, the BMP-2, BMP-4 and BMP-6 expressions were studied at cap and bell stages (40, 51): no BMP-2 signal was detected before the secretory phase. BMP-4 expression, in the dental papilla at the cap stage and later during progression to the bell stage, was correlated with tooth morphogenesis. At the cap stage, a very strong signal for BMP-6 was detected in the dental epithelium whilst the dental mesenchyme remained negative. Then, BMP-6 signal shifted to the papilla at the bell stage: only a faint signal for BMP-6 remained associated with the outer dental epithelium, stratum intermedium and the residual dental lamina (gubernaculum of the enamel organ). BMP-6 was suggested to be related to the regulation of mesenchymal differentiation (40, 51).

D. Terminal Cytodifferentiations and Matrix Secretion

In mouse, BMP-2 and BMP-4 signals were detected and supposed to be involved during odontoblasts differentiation

私たちはこれまでに、13.5日胚までにマウス上顎内で最も発達した歯上皮においておこるアポトーシスによる後退(E-1参照)について形態的に詳しく示してきたが、このことから、マウスの歯牙初期発生においてBMPが果たす他の役割が考えられる (F-1参照)。

BMP-3, BMP-5, BMP-6は、マウス13.5日胚の蕾状期の臼歯には発現していない (44)。

C. 帽状構造および鐘状構造形成期における BMP の発現

BMP-2 シグナルはマウス14日胚第一臼歯の帽状期において、歯の内側上皮の咬頭部分に限局している。16日胚では、シグナルは歯乳頭に移行する (41)。鐘状期では、BMP-2 シグナルは歯乳頭細胞にのみ検出される (20, 41)。BMP-4の発現はマウス第一臼歯の形成において帽状期と鐘状期の咬頭間充細胞でしか報告されていない (41)。BMP-7はマウス第一臼歯で帽状期の歯の内側上皮に発現している。鐘状期では、このシグナルは将来の咬頭の部分で強く、徐々に歯乳頭の間充細胞に移行する。この発現の移行は、BMP-7が上皮-間充細胞間相互作用を仲介していることをうかがわせる (49)。

BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-7の発現は、下顎の第一臼歯の帽状構造内のエナメル結節形成に関して調べられた (44)。BMP-2, BMP-4, BMP-7シグナルは、エナメル結節の上皮細胞に発現している。この上皮細胞は、歯の咬頭の成長を制御するシグナルを発現すると考えられている (44)。

BMP-3の転写産物は、マウスの鐘状期に歯胚の周囲の歯嚢細胞に発現しているが、このことは、歯胚とその周りの歯槽骨との間のシグナルを示唆している (49, 50)。

ヒトでは、BMP-2, BMP-4, BMP-6の発現は、帽状期と鐘状期について調べられている (40, 51)。BMP-2の発現は分泌期以前は検出されていない。帽状期での歯乳頭とその後の鐘状期までのBMP-4の発現は、歯の形態形成と関連している。帽状期では、BMP-6は歯上皮で強く発現しているが、歯の間充細胞では発現していない。BMP-6はその後、鐘状期に乳頭に移行する。ほんのわずかのBMP-6シグナルが外側の歯上皮、中間層、残りの歯堤 (エナメル器の導帯) に付随して残っている。BMP-6は間充細胞の分化を制御していると考えられる (40, 51)。

D. 最終的な細胞分化とマトリックスの分泌

マウスでは、BMP-2及びBMP-4のシグナルは象牙芽細胞にも認められており、これらの分化過程にも関与していると考

Fig. 3. Temporo-spatial correlation between 3-D morphology (A, B) and dotted areas documenting distribution of the apoptosis (C) and BMP-4 and BMP-2 transcripts in the dental epithelium of the embryonic maxilla in mouse embryos. The embryos were harvested at noon of the embryonic day (ED) 12 and 13 (ED 12.5 and 13.5) and midnight of day 12 (ED 13.0) for the morphological investigation (A, B) and by 4 hours earlier for the ISH study. D2, D3 - anterior antemolar tooth rudiments at dental lamina or bud stage. R1, R2 - the posterior antemolar rudiments at the bud stage. M - the whole molar anlage; M1 - the bud of the first molar. Rectangle or I - the incisor anlage. Star indicates position of the primary choana. Slim arrow points to the palatal shelf margin. Large arrow points medially. The pictures documenting morphology (A, B) were adapted and the distribution of apoptosis in the R1 and R2 rudiments (C) has been estimated according to Peterkova *et al.* (61). The distribution of apoptosis related to D2 and D3 rudiments (C), and BMP-4 and BMP-2 transcripts were adapted according to Tureckova *et al.* (59 and 42, respectively).

		Cell death (apoptosis)	BMP	BMP implicated in apoptosis
A		(58, 59, 61, 62)	BMP-2 (42) BMP-4 (42)	BMP-4 (58, 59, 61, 62)
B		(63, 63*, 64, 60, 62, 65)	BMP-2 (44) BMP-4 (44) BMP-7 (44)	BMP-4 (60, 62, 44)
C		(69, 70, 72)	BMP-2 (41, 52) BMP-4 (41) BMP-7 (49)	
D		(73, 62, 65)	BMP-6 (51*)	

Fig. 4. A survey of literature on cell death BMPs expression, and BMPs expression putatively involved in apoptosis regulation during odontogenesis, as related to dental epithelia, which undergo regression (black): A - maxillary antemolar rudiments; B - enamel knot (EK) of the dental cap; C - ameloblasts; D - gubernaculum of the enamel organ. D1, D2, D3, R1, and R2 - the rudimental tooth primordia; M1, M2, M3 - the first, second and third molar; I - incisor. All data have been achieved in rodents with exception of data indicated by *, which concern human.

(20, 41). A transient expression of both genes was present also in the differentiating ameloblasts (41). In the secretory odontoblasts, the BMP-2 signal increased (41).

In vitro, a strong signal for BMP-2 was observed in polarizing and secretory odontoblasts, whilst BMP-4 transcripts were expressed at high levels in preodontoblasts and decreased in functional odontoblasts (52). The mouse inner dental epithelium exhibited a rather constant labelling for BMP-4 transcripts

えられている (20, 41)。エナメル芽細胞が分化しているときにも一過的に発現が見られた (41)。分泌性象牙芽細胞では、BMP-2 のシグナルが増加していた (41)。

In vitro では、BMP-2 が極性化した分泌性象牙芽細胞に強く発現しているのに対し、BMP-4 は前象牙芽細胞では強く発現するが、機能的に分化した象牙芽細胞では減少する (52)。マウスの内側の歯上皮ではかなり一定して BMP-4 が発現している

(52). No signal was found for BMP-6 (52).

In mouse incisor, BMP-7 transcripts were found in the cervical loop area of the dental epithelium. This signal gradually shifted to the dental mesenchyme. Persistence of the strong expression was observed only in the differentiating odontoblasts on the labial side (49). In mouse molars, the BMP-7 signal was restricted to the odontoblasts being strongest in the cuspal region. BMP-7 was suggested to be involved in the epithelial-mesenchymal signaling, terminal differentiation of odontoblasts and/or regulation of mineralization (49, 50).

In human, strong BMP-6 and weaker BMP-2 expression present in the secretory odontoblasts suggested their involvement in dentin production (40, 51).

Members of the TGF β superfamily, including BMP-2 and BMP-4 were demonstrated to promote the functional differentiation of odontoblasts in isolated dental papillae cultured in vitro (39, 53, 54). It is interesting to stress in this context that BMPs might also play a role in reparative dentinogenesis (55-57).

E. Apoptosis during Tooth Development

During the prenatal development, accumulations of dying cells have been detected in the epithelial component of developing teeth (Figs. 3 and 4).

E-1. Reduction of the Initial Tooth Pattern

In the upper diastema of mouse, three transient rudimental tooth primordia (D1, D2, D3) exist (48), whose regression implies apoptosis in their epithelium (58, 59), (Fig. 2). Another area of apoptosis has been detected in the epithelium in front of the forming cap of the upper first mouse molar (60). Recent studies have identified this region as an epithelial remnant of two further transitory dental rudiments - R1, R2 (61, 62). Before regression, these two rudiments look like a single structure on histological sections (61). They are formed by the developmentally most advanced segment of the maxillary dental epithelium (Fig. 3A,B), which has been erroneously considered as the epithelial thickening, dental lamina or bud of the first upper molar before day 13.5 (61). Even on day 13.5, however, when the real first molar primordium has already achieved the bud stage at its anterior end, it can be easily confused with the more anteriorly situated R2 bud, as both structures exhibit very similar appearance on frontal sections (61). Apoptosis starts to be apparent in the small R1 bud synchronously with the more anterior diastemal rudiments D2, D3 - on day 12, and in the large R2 bud one day later (61), (Fig. 3C).

E-2. Reduction of the Enamel Knot

An accumulation of degenerating cells has been observed in the enamel knot (Fig. 4B) in human and mouse embryos (63, 64) and identified as apoptosis in the upper first and second, as well as in the lower first molars in mouse (60, 62, 65). According to Vaahtokari *et al.* (65), this apoptosis termi-

(52). BMP-6 は発現していない。(52)。

マウスの門歯では、BMP-7が歯上皮歯頸側の係蹄部に発現していた。このシグナルは徐々に歯の間充織に移行した。強い発現は唇側の分化している象牙芽細胞にのみ見られた(49)。マウスの臼歯では、BMP-7のシグナルは象牙芽細胞に局限しており、咬頭領域で最も強い。BMP-7は上皮-間充織間シグナルや、象牙芽細胞の最終分化及び石灰化の制御に関与していると考えられる(49, 50)。

ヒトでは、分泌性象牙芽細胞にBMP-6が強く、またBMP-2が弱く発現しており、象牙質産生に関わっていると示唆されている(40, 51)。

BMP-2、BMP-4を含むTGF β スーパーファミリーのメンバーは、*in vitro*で培養された歯堤において、象牙芽細胞の機能分化を促進することが証明された(39, 53, 54)。ここで、BMPが象牙質の修復にも関与しているという可能性は興味深い(55-57)。

E. 歯牙発生におけるアポトーシス

胚発生過程において、発生中の歯の上皮内に死細胞が集積していることが明らかとなっている(図3と図4)。

E-1. 最初の歯のパターンの減少

マウスの上歯隙において、三つの一過的な歯原基が存在し(D1、D2、D3)(48)やがて後退するが、このことはその上皮におけるアポトーシスの可能性を意味する(58, 59)(図2)。マウスの上顎第一臼歯において、帽状構造を形成する部分の前側でもアポトーシスが起きている(60)。最近の研究から、この領域は二つのさらなる一時的な歯原基R1、R2(61, 62)の上皮の痕跡だとみなされている。後退以前では、これら二つの痕跡は組織切片上では一つの構造物のように見える(61)。それらは発生の過程で上顎歯上皮の最も発達した部分により形成されるため(図3A、B)、13.5日胚以前では上皮の肥厚、歯堤、上顎の第一臼歯の歯蕾だと間違えられてきた(61)。R1歯蕾は、13.5日胚において本当の第一臼歯原基がすでにその最も先端で蕾状期に入ったときでさえ、R2歯蕾の切片構造と非常によく似ているために、さらに前方にあるR2歯蕾と間違えられやすい(61)。アポトーシスは、12日目胚にさらに前方の歯隙の原基D2、D3と同調して小さなR1歯蕾で始まり、その1日後に大きなR2歯蕾が始まる(61)(図3C)。

E-2. エナメル結節の減少

ヒト及びマウス胚のエナメル結節(図4B)において退化している細胞の集積が観察され(63, 64)、またマウスの下顎の第一臼歯と上顎の第一、第二臼歯でアポトーシスが認められた(60, 62, 65)。Vaahtokariら(65)は、エナメル結節が咬頭の形

nates function of the enamel knot, considered as a signaling center regulating cusp formation (66, 44). Lesot *et al.* (60, 62) have provided an alternative explanation: the apoptosis in the enamel knot might eliminate unnecessary potential cervical loop cells, where fusion between tooth primordia might take place in the bucco-lingual direction, according to the hypothesis of Bolk (67, 68).

E-3. Reduction of the Ameloblast Number

Contrary to odontoblasts, which remain functional as long as the tooth is alive, functional ameloblasts only exist before tooth eruption and then disappear (compare with Fig. 4C). Degeneration of ameloblasts in rat and degradation of their debris by the adjacent stratum intermedium cells have been investigated (69, 70). The number of ameloblasts is reduced during their late secretory and early maturation stages (71). Recently, Bronckers *et al.* (72) studied various phases of this process and specified the cell death as apoptosis associated with DNA fragmentation. In mouse, the TUNEL positive cells were observed in the incisor cervical loop (including prospective ameloblasts) and in the ameloblasts of the first molar (72). The TUNEL positivity was not only reported in ameloblasts but also in the stratum intermedium in mouse first molar and related to the presence of apoptosis there (65). According to Bronckers *et al.* (72), the positivity in the stratum intermedium cells is in agreement with described degradation of the ameloblasts debris in this region (69, 70).

E-4. Degeneration of the Gubernaculum of the Enamel Organ

Apoptosis was detected in the gubernaculum of the enamel organ (residual dental lamina anchoring tooth germ to the oral epithelium - Fig. 4D) already at the initial bell stage (62, 65). Apoptosis persisted in this area until the late bell stage of the first molar in the postnatal mice (65). Cell degeneration in a similar localisation was also found in rat (73).

F. Putative Involvement of BMPs in Apoptosis during Tooth Development

In specific places, both the accumulation of apoptosis and the epithelial expression of BMPs exhibit a similar localization and thus could be functionally implicated in the regressive processes, which participate in tooth development (Fig. 4):

F-1. Reduction of the Initial Tooth Pattern

Correlation of descriptive morphological data (see part F-1) and ISH (see part E-1) in mouse embryos strongly suggested that BMP-4 could be involved in regression of the antemolar tooth primordia and regulation of apoptosis in the epithelium during the upper diastema development (58, 59, 61, 62). The similar spatially restricted pattern and an antero-posterior direction of propagation are apparent for both, the BMP-4 signal (42) and apoptosis (61) in the maxillary dental epithelium until day 13.5 (Figs. 2 and 3). The duration of BMP-4

成を制御するシグナル源ということを考慮すると、このアポトーシスによってエナメル結節の機能が終結する (66, 44) としている。Lesot ら (60, 62) は他の説明をしている。エナメル結節におけるアポトーシスは、Bolk の仮説 (67, 68) による頬-舌の方向に歯原基の間での融合が起こる場所で不必要な歯頸側の係蹄部の細胞を消失させるというものである。

E-3. エナメル芽細胞の数の減少

歯が生きている限り機能している象牙芽細胞と反対に、機能的なエナメル芽細胞は歯が萌出する直前には存在するがその後消失する (図 4C と比較)。ラットにおけるエナメル芽細胞の衰退と付随する中間層の細胞によるその残骸の消失が調べられた (69, 70)。エナメル芽細胞の数は、後期の分泌期と初期の成熟過程で減少する (71)。最近、Bronckers ら (72) はこの過程の様々な状態を研究し、DNA断片を伴うアポトーシスによる細胞死が起こっている可能性を示唆した (69, 70)。マウスでは、門歯の歯頸側の係蹄部(予定エナメル芽細胞を含む)と第一臼歯のエナメル芽細胞に、TUNEL ポジティブな細胞が観察された (72)。TUNEL ポジティブな細胞は、マウスの第一臼歯のエナメル芽細胞だけでなく中間層にも存在し、アポトーシスがそこで起こっていることと関係づけられた (65)。Bronckers ら (72) によると中間層における TUNEL ポジティブ細胞の存在は、この領域でエナメル芽細胞の残骸が退化するという記述と一致する (69, 70)。

E-4. エナメル器の導帯の退化

初期鐘状期における、歯胚から口腔上皮に導くエナメル器の導帯内ですでにアポトーシスが認められた (歯堤の痕跡 - 図 4D) (62, 65)。出生後のマウスの第一臼歯において鐘状期後期までアポトーシスは続いた (65)。ラットにおいても同様の位置での細胞の退化がみられた (73)。

F. 歯牙形成のアポトーシスにおける推定される BMP の関与

特異的な領域においては、アポトーシスの蓄積と上皮内の BMP の発現パターンが類似した局在を見せることから、歯牙形成における衰退の過程で BMP が機能的に関与していると思われる (図 4)。

F-1. 最初の歯のパターンの減少

マウス胚において、記述的な形態学的なデータ (F-1 参照) と ISH (E-1 参照) によるデータとの間に相関関係がみられることから、BMP-4 が予定臼歯原基の退化と、上顎歯隙の発生における上皮のアポトーシスに関与していることが強く示唆された (58, 59, 61, 62)。上顎の歯上皮において 13.5 日胚までは、BMP-4 シグナル (42) とアポトーシス (61) は両方とも限局した空間

expression before the apoptosis starts was the longest for the D2 and D3 rudiments and the shortest in the R2 rudiment (compare Figs. 2 and 3C). These differences in the duration of BMP-4 expression might be related to differential quantitative regression of the antemolar rudiments: the anterior D1-D3 buds totally disappeared, whilst the R2 rudiment (with incorporated remnant of R1 bud) was partially maintained as the medial and lateral ridge adjacent to the anterior end of the cap of the first molar. BMP-4 and BMP-2 expressions were similarly restricted to the epithelium of the antemolar rudiments (Fig. 2). The possible role of BMP-2 (and other BMPs) in controlling this regressive process should be investigated.

It should be verified, whether the cell death in the bud shaped epithelium attributed to the lower first molar of mouse embryos until day 13.5 (64, 65) and BMPs expression at the top of the tooth bud on day 13.5 attributed to the initiating enamel knot formation in the lower first molar (44) do not reflect, in reality, regression of an antemolar rudiment also in the mandible.

F-2. Reduction of the Enamel Knot

BMP-4 has been suggested to regulate apoptosis in the enamel knot in mouse (60, 62, 44). The respective roles of BMP-2 and/or BMP-7, also expressed in this structure (44), should be investigated to determine their possible involvement in the regression of the enamel knot (compare with Fig. 4B).

F-3. Reduction of the Ameloblast Number and Degeneration of the Gubernaculum of the Enamel Organ

Possible correlations between BMPs expressions and both reduction of the ameloblast number and degeneration of the gubernaculum of the enamel organ awaits further investigations (compare with Figs. 4C, D).

G. Concluding Remarks

Molecules of the TGF β superfamily are known to be involved in control of epithelial cell proliferation (1, 30) and apoptosis (74-77). BMP-4 has been shown to induce apoptosis and upregulate *msx-2* expression in the neural crest of rhombomeres r3 and r5 in the chick embryo (78, 79). *Msx-2* expression has been reported in the enamel knot in mouse (80, 81) and tentatively related to the apoptosis in this region (60, 65). In early embryonic mouse maxilla, the temporo-spacial pattern of BMP-4 and *msx-2* differ (42), and apoptosis in the antemolar rudiments does not seem to be associated with *msx-2* expression (59). *Msx-2* expression has been reported neither in the differentiating or differentiated ameloblasts (80, 81), where both BMP-4 signal and later apoptosis have been found (Fig. 4C).

The possible involvement of other BMPs (BMP-2, BMP-7 and BMP-6), that have also been detected in specific populations of the dental epithelium undergoing apoptosis (Fig. 4), is not known. BMP-2 has been suggested to be involved in

的パターンを示し、前後軸方向へ伝播される (図2、3)。アポトーシスが起こる前の BMP-4 の発現持続時間は、D2、D3 原基で最も長く、R2 原基で最も短い (図2 と図 3C 比較)。これらの BMP-4 の発現持続時間の違いは、前臼歯原基の量的な退化の違いに起因すると考えられる。前方の D1-D3 歯蕾は全体が消失する一方で、R2 原基 (R1 歯蕾の残余物を含む) は、第一臼歯の帽状構造の前端に付随した中側と側方の隆起として部分的に維持される。BMP-4 と BMP-2 の発現は前臼歯原基の上皮に同じように局在している (図2)。BMP-2 (と他の BMP ファミリー) がこの退化を制御する可能性は今後の研究を待たなければいけない。

マウス 13.5 日胚まで、下顎第一臼歯の蕾状上皮でみられる細胞死 (64, 65) や、13.5 日胚の下顎第一臼歯のエナメル結節形成開始における歯蕾先端で発現している BMP (44) が、本当に下顎前臼歯原基の退化に関わっていないかについては、まだ不明な点が残る。

F-2. エナメル結節の減少

BMP-4 はマウスのエナメル結節においてアポトーシスを制御していると示唆されてきた (60, 62, 44)。BMP-2 と BMP-7 もエナメル結節組織に発現しており (44)、エナメル結節の退化に関与している可能性について検討が待たれる (図 4B と比較)。

F-3. エナメル芽細胞の数の減少とエナメル器の導帯の退化

BMP の発現とエナメル芽細胞の数の減少、及びエナメル器の導帯の退化との相関関係についてはさらなる研究が待たれる (図 4C、D と比較)。

G. 結 論

TGF β スーパーファミリーに属する分子は、上皮細胞の増殖制御 (1, 30) や、アポトーシス (74-77) に関与することが知られている。BMP-4 はニワトリ胚のロンボメアの r3 と r5 の神経冠細胞のアポトーシスを誘導し、*msx2* の発現を促進する (78, 79)。Msx2 の発現はマウスのエナメル結節で報告されており (80, 81)、この領域でのアポトーシスに関与しているようである (60, 65)。マウス初期胚の上顎では、BMP-4 と Msx2 の時間的、空間的パターンは異なり (42)、臼歯原基でのアポトーシスは *msx2* の発現とは関係していないように思われる (59)。Msx2 は、分化中及び分化後のエナメル芽細胞のどちらにも発現していないと報告されている (MacKenzie ら 1992, Jowett ら 1993)。しかしながら、そこでは、BMP-4 シグナルとアポトーシスの両方の存在が認められている (図 4C)。

他の BMP ファミリー (BMP-2, BMP-7, BMP-6) は、アポトーシスがおこる歯上皮の特定の領域に発現しているが (図4)、アポトーシスに関与しているかどうかは不明である。BMP-2

downregulation of cell proliferation during limb development (82) and a similar role has been attributed to some BMPs in the enamel knot (44). Recent experiments with dominant-negative BMP2/BMP4/BMP7 Type I receptors support the role of BMPs during regulation of apoptosis in developing limbs (83).

All together the actual data on BMPs and tooth development suggest that the actual hypotheses on BMPs signaling roles during odontogenesis (41, 52, 45-47) should include also regulation of integrated regressive events associated with apoptosis. The developing dentition represents an interesting tool for analyses of cellular and molecular mechanisms involved in regulation of various developmental processes (84, 85). The presence of epithelial apoptosis, which exhibits a defined temporo-spacial pattern (especially in mouse), extends possibilities to use the developing dentition also as a model to study apoptosis regulation and to investigate precisely, how BMPs are involved.

Acknowledgement

Work of the authors was supported by the Grant Agency of the Academy of Sciences of the Czech Republic (grant A-7039503), by the INSERM (Convention Est-Ouest GW010A) and by the Ministry of Education, Youth and Sports CR (COST- B8.10).

は、肢芽形成において細胞増殖の抑制に関与していると示唆されており (82)、それと同様な役割がエナメル結節における BMP ファミリーのいくつかにあてはまる (44))。最近のドミナント-ネガティブ型の BMP-2/BMP-4/BMP-7 の I 型受容体を用いた実験から、BMP は発生している肢芽のアポトーシスにおいて機能していることが示唆されている (83)。

これまで報告された歯牙発生とそれに関する BMP のデータを統合すると、BMP シグナルの役割の一つに、アポトーシスによって制御される統合的退化現象の支配というものがうかびあがってくる (41, 52, 45-47)。歯牙発生は、さまざまな発生過程を制御する細胞的、分子的なメカニズムの解析に興味深いモデルを提示する (84, 85)。上皮におけるアポトーシスが、限定した時間的、空間的パターン (特にマウスにおいて) を示すことから、歯牙発生はアポトーシスの制御の研究、さらに BMP がアポトーシスにどのように関与するのかを研究するモデルとしての可能性も示す。

北里大学・理学部・生物科学科・分子発生学講座
利根川 あかね 訳

References

1. Moses, H.L., Yang, E.Y., and Pietenpol, J.A. (1990) *Cell* **63**, 245-247
2. Pelton, R.W., Dickinson, M.E., Moses, H.L., and Hogan, B.L.M. (1990) *Development* **110**, 609-620
3. Theodorescu, D., Kerbel, R.S., and Sheehan, C. (1993) *In Vitro Cell. Dev. Biol.* **29A**, 105-108
4. McCartney-Francis, N.L., and Wahl, S.M. (1994) *J. Leucocyte Biol.* **55**, 401-409
5. Ganan, Y., Macias, D., Duterque-Coquillaud, M., Ros, M.A., and Hurle, J.M. (1996) *Development* **122**, 2349-2357
6. Hogan, B.L.M. (1996) *Genes Dev.* **10**, 1580-1594
7. Lyons, K.M., Jones, C.M., and Hogan, B.L.M. (1991) *Trends Genet.* **7**, 408-412
8. Mercola, M., and Stiles, C.D. (1988) *Development* **102**, 451-460
9. Whitman, M., and Melton, D.A. (1989) *Annu. Rev. Cell. Biol.* **5**, 93-117
10. Jones, C.M., Lyons, K.M., and Hogan, B.L.M. (1991) *Development* **111**, 531-542
11. Attisano, L., Wrana, J.L., Lopez-Casillas, F., and Massagué, J. (1994) *Biochim. Biophys. Acta* **1222**, 71-80
12. Kingsley, D.M. (1994) *Genes Dev.* **8**, 133-146
13. Gelbart, W.M. (1989) *Development* **Suppl.**, 65-74
14. Kingsley, D.M. (1994) *Trends Genet.* **10**, 16-21
15. Thomsen, G.H. (1996) *Development* **122**, 2359-2366
16. Wozney, J.M., Rosen, V., Celeste, A.J., Mitscock, L.M., Whitters, M.J., Kriz, R.W., Hewick, R.M., and Wang, E.A. (1988) *Science* **242**, 1528-1534
17. Urist, M.R. (1965) *Science* **150**, 893-899
18. Rosen, V., and Thies, R.S. (1992) *Trends Genet.* **8**, 97-102
19. Lyons, K.M., Pelton, R.W., and Hogan, B.L.M. (1989) *Genes Dev.* **3**, 1657-1668
20. Lyons, K.M., Pelton, R.W., and Hogan, B.L.M. (1990) *Development* **109**, 833-844
21. Wang, E.A., Gerhart, T.N., and Toriumi, D.M. (1992) in *Chemistry and Biology of Mineralized Tissues* (Slavkin, H., Price, P., eds.) pp. 351-359, New York, Elsevier Science Publishers B.V.
22. St. Johnson, R.D., and Gelbart, W.M. (1987) *EMBO J.* **6**, 2785-2791
23. Pangniban, G.E.F., Reuter, R., Scott, M.P., and Hoffmann, F.M. (1990) *Development* **110**, 1041-1050
24. Ferguson, E.L., and Anderson, K.V. (1992) *Cell* **71**, 451-461
25. Ferguson, E.L., and Anderson, K.V. (1992) *Development* **114**, 583-597
26. Jones, C.M., Lyons, K.M., Lapan, P.M., Wright, C.V.E., and Hogan, B.L.M. (1992) *Development* **115**, 639-647
27. Ladher, R., Mohun, T.J., Smith, J.C., and Snape, A.M. (1996) *Development* **122**, 2385-2394
28. Schmidt, J.E., von Dassow, G. and Kimelman, D. (1996) *Development* **122**, 1711-1721
29. Thomsen, G.H. (1996) *Development* **122**, 2359-2366

30. Sporn, M.B., and Roberts, A.B. (1992) *J. Cell. Biol.* **119**, 1017–1021
31. Wrana, J.L., Attisano, L., Carcamo, J., Zentella, A., Doody, J., Laiho, M., Wang, X.-F., and Massagué, J. (1992) *Cell* **71**, 1003–1014
32. ten Dijke, P., Yamashita, H., Sampath, T.K., Riddle, A.H., Estevez, M., Riddle, D.L., Ichijo, H., Heldin, C.-H., and Miyazono, K. (1994) *J. Biol. Chem.* **269**, 16985–16988
33. Wrana, J.L., Attisano, L., Wieser, R., Ventura, F., and Massagué, J. (1994) *Nature* **370**, 341–347
34. Dewulf, N., Verschueren, K., Lonnoy, O., Morén, A., Grimsby, S., Vande Spiegle, K., Miyazono, K., Huylebroeck, D., and ten Dijke, P. (1995) *Endocrinology* **136**, 2652–2663
35. Ikeda, T., Takahashi, H., Suzuki, A., Ueno, N., Yokose, S., Yamaguchi, A., and Yoshiki, S. (1996) *Dev. Dynamics* **206**, 318–329
36. Massagué, J. (1996) *Cell* **85**, 947–950
37. Weis-Garcia, F., and Massagué, J. (1996) *EMBO J.* **15**, 276–289
38. Liu, F., Hata, A., Baker, J.C., Doody, J., Carcamo, J., Harland, R.M., and Massagué, J. (1996) *Nature* **381**, 620–623
39. Bègue-Kirn, C., Smith, A.J., Ruch, J.V., Wozney, J.M., Purchio, A., Hartmann, D., and Lesot, H. (1992) *Int. J. Dev. Biol.* **36**, 491–503
40. Heikinheimo, K. (1993) Academic Dissertation, Vammalan Kirjapaino Oy, Thurku
41. Vainio, S., Karavanova, I., Jowett, A., and Thesleff, I. (1993) *Cell* **75**, 45–58
42. Turečková, J., Sahlberg, C., Aberg, T., Ruch, J.V., Thesleff, I., and Peterková, R. (1995) *Int. J. Dev. Biol.* **39**, 459–468
43. Bennett, J.H., Hunt, P., and Thorogood, P. (1995) *Archs oral Biol.* **40**, 847–854
44. Vaahtokari, A., Aberg, T., Jernvall, J., Keränen, S., and Thesleff, I. (1996) *Mechanisms Dev.* **54**, 39–43
45. Thesleff, I., Vaahtokari, A., Kettunen, P., and Aberg, T. (1995) *Connect. Tissue Res.* **32**, 9–15
46. Thesleff, I., Vaahtokari, A., and Partanen, A.-M. (1995) *Int. J. Dev. Biol.* **39**, 35–50
47. Thesleff, I., Vaahtokari, A., Vainio, S., and Jowett, A. (1996) *Anat. Rec.* **245**, 151–161
48. Peterková, R., Peterka, M., Vonesch, J.-L., and Ruch, J.V. (1995) *Int. J. Dev. Biol.* **39**, 239–247
49. Helder, M.N., Vukicevic, S., Özkaynak, E., Luyten, F.P., Wöltgens, J.H.M., Burger, E.H., Oppermann, H., Bronckers, A.L.J.J. (1994) in *Ph.D. Thesis (Helder, M.N. ed.)* pp. 93–123, Amsterdam, Free University Press
50. Helder, M.N., Vukicevic, S., Wöltgens, J.H.M., Burger, E.H., and Bronckers, A.L.J.J. (1995) *Connect. Tissue Res.* **32**, 79 (Abstr.)
51. Heikinheimo, K. (1994) *J. Dent. Res.* **73**, 590–597
52. Bègue-Kirn, C., Smith, A.J., Lorient, M., Kupferle, C., Ruch, J.V., and Lesot, H. (1994) *Int. J. Dev. Biol.* **38**, 405–420
53. Nakashima, M., Nagasawa, H., Yamada, Y., and Reddi, H. (1994) *Dev. Biol.* **162**, 18–28
54. Ruch, J.V., Lesot, H., and Bègue-Kirn, C. (1995) *Int. J. Dev. Biol.* **39**, 51–68
55. Rutherford, R.B., Wahle, J., Tucker, M., Rueger, D., and Charette, M. (1993) *Archs oral Biol.* **38**, 571–576
56. Nakashima, M. (1994) *Archs oral Biol.* **39**, 1085–1089
57. Rutherford, R.B., Spangberg, L., Tucker, M., Rueger, D., Charette, M. (1994) *Archs oral Biol.* **39**, 833–838
58. Turečková, J., Lesot, H., Vonesch, J.-L., Peterka, M., Peterková, R., and Ruch, J.V. (1995) in *Proceedings of the 10th International Symposium on Dental Morphology (Radlanski, R.J., Renz, H., eds.)* pp. 33–37, Berlin, “M” Marketing Services C.& M. Brünne GbR
59. Turečková, J., Lesot, H., Vonesch, J.-L., Peterka, M., Peterková, R., and Ruch, J.V. (1996) *Int. J. Dev. Biol.* **40**, 483–489
60. Lesot, H., Vonesch, J.-L., Peterka, M., Turečková, J., Peterková, R., and Ruch, J.V. (1995) in *Proceedings of the 10th International Symposium on Dental Morphology (Radlanski, R.J., Renz, H., eds.)* pp. 27–32, Berlin, “M” Marketing Services C.& M. Brünne GbR
61. Peterková, R., Lesot, H., Vonesch, J.-L., Peterka, M., and Ruch, J.V. (1996) *Int. J. Dev. Biol.* **40**, 1009–1016
62. Lesot, H., Vonesch, J.-L., Peterka, M., Turečková, J., Peterková, R., Ruch, J.V. (1996) *Int. J. Dev. Biol.* **40**, 1017–1031
63. Nozue, T. (1971) *Okajimas Fol. Anat. Jpn.* **48**, 139–152
64. Kindaichi, K. (1980) *Arch. Histol. Jpn.* **43**, 289–304
65. Vaahtokari, A., Aberg, T., and Thesleff, I. (1996) *Development* **122**, 121–129
66. Jernvall, J., Kettunen, P., Karavanova, I., Martin, L.B., and Thesleff, I. (1994) *Int. J. Dev. Biol.* **38**, 463–469
67. Bolk, L. (1921) *J. Anat. Lond.* **55**, 152–186
68. Bolk, L. (1922) *J. Anat. Lond.* **56**, 107–136
69. Moe, H. and Jessen, H. (1972) *Z. Zell Forsch.* **131**, 63–75
70. Moe, H. (1979) *Cell Tissue Res.* **197**, 443–451
71. Smith, C.E. and Warshawsky, H. (1977) *Anat. Rec.* **187**, 63–98
72. Bronckers, A.L.J.J., Lyaruu, D.M., Goei, W., Litz, M., Luo, G., Karsenty, G., Wöltgens, J.H.M., and D’Souza, R.N. (1996) *Eur. J. Oral Sci.* **104**, 102–111
73. Khaejornbut, J., Wilson, D.J., and Owens, P.D.A. (1991) *J. Anat.* **179**, 85–96
74. Hinchliffe, J.R. (1981) in *Cell Death in Biology and Pathology (Bowen, I.D., Lockshin, R.A., eds.)* pp. 35–73, London, Chapman and Hall
75. Rotello, R.J., Lieberman, R.C., Purchio, A.F., and Gerschenson, L.E. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 3412–3415
76. Oberhammer, F., Wilson, J.W., Dive, C., Morris, I.D., Hickman, J.A., Wakeling, A.E., Walker, P.R., and Sikorska, M. (1993) *EMBO J.* **12**, 3679–3684
77. Hoffman, B. and Liebermann, D.A. (1994) *Oncogene* **9**, 1807–1812
78. Graham, A., Francis-West, P., Brickell, P., and Lumsden, A. (1994) *Nature* **372**, 684–686
79. Lumsden, A. and Graham, A. (1996) *Cell & Dev. Biol.* **7**, 169–174
80. MacKenzie, A., Ferguson, M.W.J., and Sharpe, P.T. (1992) *Development* **115**, 403–420
81. Jowett, A.K., Vainio, S., Ferguson, M.W.J., Sharpe, P.T., and Thesleff, I. (1993) *Development* **117**, 461–470
82. Niswander, L., Martin, G.R. (1993) *Nature* **361**, 68–71
83. Zou, H. and Niswander, L. (1996). *Science* **272**, 738–741
84. Ruch, J.V. (1995) *Connect. Tissue Res.* **32**, 249–256
85. Ruch, J.V., ed. (1995) *Int. J. Dev. Biol.* **39**, 1–298

Received on December 6, 1996, accepted on March 26, 1997

Profile of the author

Renata Peteková

Graduated from Medical Faculty, Charles University, Prague in 1971. She started professional carrier as a teacher assistant at the Institute of Anatomy, Histology and Embryology, Medical Faculty, Prague. Since 1979, she prepared a thesis in General Biology and obtained her Ph.D. at the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague in 1982. The title of thesis was "The Morphogenetic System of Dental Lamina, its Function and Development".

She then was employed in the Department

of Teratology at the Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences, Prague. Her research focused on early odontogenesis in mouse and the origin of developmentally related structures (palatal ridges, oral vestibule). From 1991, the collaboration started with the Institut de Biologie Médicale - INSERM U-424 in Strasbourg and IGBMC, Illkirch, France: By employing 3-D computer assisted reconstructions, the hitherto descriptive data on tooth development in mouse have been systematically revisited. Aim of these studies was to contribute to morphological knowledge on mouse odontogenesis, which is essential for correct interpretation of molecular data achieved in this most frequently used model in odontogenesis research.