

Aus dem Institut für Tieranatomie der  
Ludwig-Maximilian-Universität München  
Lehrstuhl für Tieranatomie II  
Vorstand: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. Fred Sinowatz

Genexpression während der Zahnentwicklung der Maus (*Mus musculus*)

Literaturstudie

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der  
Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Ilse Schroll  
aus Mühlendorf

München 2004

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

Referent: Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. R. Wanke

Tag der Promotion: 13. Februar 2004

## Inhaltsverzeichnis

Liste der Abkürzungen	7
I. Einleitung	9
II. Evolution der Zähne	10
III. Formale Zahnentwicklung bei der Maus ( <i>Mus musculus</i> )	16
1. Anatomie der Zahnentwicklung	16
1.1 Zahnleiste und Schmelzorgan	16
1.2 Dentinbildung	20
1.3 Schmelzbildung	20
1.4 Wurzelbildung	21
1.5 Zahndurchbruch	22
1.6 Adultes Gebiss und Zahnschema	24
2. Stadien der Zahnentwicklung bei der Maus	27
2.1 Initialstadium	27
2.2 Knospenstadium	27
2.3 Kappenstadium	27
2.4 Glockenstadium	28
2.5 Differenzierungsstadium	28
2.6 Sekretionsstadium der Zahnkrone	29
2.7 Sekretionsstadium der Zahnwurzel	29
3. Räumliche und zeitliche Entwicklung der Zähne	30
4. Chronologie der Odontogenese im Mäuseembryo	38
5. Histologie der Zahngewebe	39
5.1 Schmelz	39
5.2 Dentin	43
5.3 Zement	45

5.4 Zahnpulpa	46
5.5 Wurzelhaut	48
6. Histochemie der Zahngewebe	49
IV. Zahnmuster und Zahngestalt in anderen Säugetieren	56
1. Theorien des heterodonten Zahnmusters	57
1.1 Gradient Modell	57
1.2 Klon Modell	57
2. Beschreibung der Anatomie des Gebisses bei Haussäugetieren	58
V. Bedeutung der Genexpression während der Zahnentwicklung der Maus	62
1. Theorien	62
2. Gene und Moleküle, die für die Zahnentwicklung von Bedeutung sind	63
2.1 Wachstumsfaktoren	63
2.1.1 Insulinlike Growth Factor	64
2.1.2 Epidermal Growth Factor	66
2.1.3 Transforming Growth Factor	67
2.1.4 Fibroblast Growth Factor	68
2.1.5 Hepatocyte Growth Factor	69
2.2 Transkriptionsfaktoren	70
2.3 Homöobox-Gene	70
3. Gene, die eine Rolle bei den epithelial-mesenchymalen Interaktionen spielen	76
3.1 BMP	77

3.2 FGF	79
3.3 Shh	82
3.4 Notch	85
4. Gene des Schmelzknötens	89
VI. Gene der Zahnentwicklung nach Alphabet	94
1. Activin beta A	94
2. AP-2.2 (Activated protein-2.2)	96
3. Barx1 (Bar class homeobox 1)	97
4. Bmp2-7 (Bone morphogenetic protein 2-7)	98
5. Cbfa1 (Core binding factor 1)	102
6. Dlx1, -2 (Distal less homeobox gene 1, -2)	105
7. Fgf (Fibroblast growth factor)	111
8. FGFR2(IIIb) (Fibroblast growth factor receptor 2 III b)	113
9. Fibulin1, -2	114
10. Gelatinase A	114
11. Gli1, -2, -3 (Glioblastoma 1, -2, -3)	115
12. Integrin beta 5	116
13. Laminine	117
14. Lef1 (Lymphoid enhancer factor 1)	118
15. Lhx6, -7, -8 (Lim-homeobox domain gene 6, -7, -8)	121
16. MFrp2 (Frizzled related protein)	122
17. MK (Midkine)	123
18. Msx1, -2 (Murine msh-like homeobox gene 1, -2)	124
19. p63 (Protein 63)	127
20. Pax9 (Paired box gene 9)	128

21. Pitx2 (Pituitary homeobox gene 2)	130
22. Prx2 (Paired-related homeobox gene 2)	132
23. Shh (Sonic hedgehog)	135
24. Sox (Sry-type high-mobility group box protein)	137
25. Syndecan1	138
26. Tabby	140
27. Tenascin-C	143
28. Wnt (Wingless)	144
VII. Zusammenfassung	147
VIII. Summary	149
IX. Liste der Fehlbildungen	151
X. Listen	
1. Genexpression während des Initialstadiums	154
2. Genexpression während des Knospenstadiums	156
3. Genexpression während des Kappenstadiums	159
4. Genexpression während des Glockenstadiums	163
5. Genexpression während des Differenzierungsstadiums	167
6. Genexpression während des Sekretionsstadiums	170
7. Genexpression während der Wurzelbildung	174
XI. Literaturverzeichnis	175

## Liste der Abkürzungen

Alx	Aristless-like
AER	Apikaler Ektodermaler Kamm
AP	Activator protein
Barx	Bar class homeobox gene
bHLH	Basic helix-loop-helix
Bmp	Bone morphogenetic protein
Cbfa	Core binding factor alias Osf2 alias Runx
DHox	Divergent Hoxgene
Dlx	Distal less homeobox gene
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDA	Anhidrotic ectodermal dysplasia
EGF	Epidermal Growth Factor
ET	Embryonaltag
FGF	Fibroblast Growth Factor
Fgfr	Fibroblast growth factor receptor
FRP	Frizzled-related Proteins
Gli	Glioblastoma
HES	Hairy/Enhancer of split
HGF	Hepatocyte Growth Factor
HOMC	Homöotische Gene
Hox	Homöobox
IGF	Insulinlike Growth Factor
KGFR	Keratinozyten Wachstumsfaktor
Lef	Lymphoid enhancer factor
Lhx	Lim homeobox domain gene

MFrp	Frizzled related protein
MK	Midkine
MMP	Matrix metalloproteinase
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
Msh	Muscle segment homeobox
Msx	Murine msh-like homeobox gene
Osf2	Osteoblast specific factor (siehe Cbfa)
Otlx	Mäusehomolog zu Drosophila orthodenticle (Otd)
p.c.	post conceptionem
p63	Protein 63
Pax	Paired box
Pitx	Pituitary homeobox gene
Prx	Paired-related homeobox gene oder Aristaless-related homeobox gene
Rieg	Gen, dessen Deletion das Rieger-Syndrom (human) hervorruft
Runx	Runt-related homeobox gene (siehe Cbfa)
Shh	Sonic hedgehog
Sox	Sry-type high-mobility group box protein
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumornekrosefaktor
v. Chr.	Vor Christus
Wnt	Wingless
ZPA	Zone der Polarisierenden Aktivität

## I. Einleitung

Zähne bestehen aus dem härtesten biologischen Material. Selbst nach Jahrtausenden sind Zahnfunde noch so gut erhalten, dass Paläontologen und Anthropologen in der Lage sind, ihre Herkunft zu bestimmen. Die Evolution von Mensch und Tier konnte anhand von Zahnfunden nachvollzogen werden (Kondo et al., 2001; McCollum und Sharpe; 2001a). Heutzutage dient das Studium der Zähne als Modell für potentiell evolutionäre Entwicklungen in der Zukunft (Butler, 1995). Zähne sind als Modell deswegen so gut geeignet, weil ihre Anordnung in den jeweiligen Spezies identisch ist, ihre Ausprägung in Individuen jedoch so unterschiedlich ist wie deren DNA. Darüber hinaus bestehen Homologien in der Entwicklung der Zähne bei den verschiedenen Spezies (Sharpe, 2001). Außerdem ist es von Vorteil, dass bei der Zahnentstehung nur wenige embryonale Zelltypen beteiligt sind. Die gesamte Entwicklung der Zähne kann zudem in vitro nachvollzogen werden, wodurch verschiedene Manipulationen in den Entwicklungsstadien durchgeführt werden können (Arechaga, 1995; McCollum und Sharpe, 2001b).

## II. EVOLUTION

Durch die Weiterentwicklung der Mikroskopie wurde im 19. Jahrhundert das vergleichende Studium der Zähne der Säugetiere durch die histologischen Untersuchungen des Zahngewebes erweitert (Owen, 1840). Von besonderem Interesse war nach 1870 die Evolution der mehrhöckerigen Zähne der Säugetiere (Gregory, 1934). Um die Evolution der Zähne bei Vertebraten besser verstehen zu können, ist ein Vergleich fossiler Funde von Agnatha (Kieferlose) mit den Zähnen heute lebender Säugetiere notwendig. Zu den heute lebenden Vertretern der Agnatha gehört die Klasse der Cyclostomata (Rundmäuler). Ihr Körper weist keine Extremitäten auf und wird nicht von Knochen gestützt. Ihre Haut ist lederartig verdickt und trägt keine Schuppen. Im Mund befinden sich Hornzähne, die als Raspelorgane funktionieren (Dzwillo et al., 1973). In der Überklasse der Gnathostomata weisen bereits die Elasmobranchii (Plattenkiemer) Placoidschuppen auf, die morphologische Ähnlichkeit mit Zähnen aufweisen. Sie bestehen aus Dentin und sind mit Vitrodentin (durch die parallele Lagerung der Apatitkristalle ist das Vitrodentin durchsichtig wie Glas) überzogen. Diese Ähnlichkeit sowie die Tatsache, dass im Exoskelett vieler Agnatha und Fische zahnähnliche Anhangsgebilde auftreten (Orvig, 1967; Reif, 1982; Smith und Hall, 1990; Smith 1991), lässt die Vermutung zu, dass Zähne ursprünglich aus den Hautprodukten kiemenloser Vertebraten hervorgehen und dass sie mit Bildung des Unterkieferbogens zum Kiefer in den Mund von Gnathostomata wanderten (Butler, 1995). Die Hornzähne der lebenden Agnatha weisen keine Homologien mit echten Zähnen auf (Lison, 1954; Youson, 1981). Diesen sogenannten unechten Zähnen, die aus Kutikula des Ektoderms oder Horn des Epithels entstehen, fehlen die spezifischen Hartsubstanzen, Dentin und Schmelz (Lehner und Plenk, 1936). Echte Zähne werden auch als Dentinzähne bezeichnet

(Waldeyer, 1871). Der Nachweis von Schmelz bei einer bestimmten Art von Agnatha stellt eine Übergangsform dar (Slavkin et al., 1983). In neuester Zeit wurden in einem Agnatha nasopharyngeal unechte Zähne gefunden. Dies beweist, dass dermale Zähne im Pharynx evolutionär früher entstanden, als die Kiefer (Van der Bruggen und Janvier, 1993).

In Vertebraten des Paläozoikums (280 Millionen Jahre bis 225 Millionen Jahre v. Chr.) wurden verschiedene Zahnhartgewebe wie Schmelz, Dentin und Knochen gefunden. Sie unterscheiden sich jedoch histologisch in vielfältiger Art und Weise vom Zahngewebe der Säugetiere (Orvig, 1967; Schaeffer, 1977; Halstead, 1987; Maisey, 1988; Smith und Hall, 1990 und 1993; Lund et al., 1992). Beispielsweise weisen einige Formen des Dentins (Mesodentin, Semidentin) Zellzwischenräume auf, die vermuten lassen, dass Odontoblasten und Osteoklasten einen gemeinsamen Ursprung haben. Dentin entsteht genauso an der äußeren Oberfläche von Schuppen und Zähnen, wie es unter dem Einfluss des darüberliegenden Epithels gebildet wird. In vielen Fällen wird das Dentin an der Zahnkrone von einer Schicht schmelzartigen Gewebes überzogen. An der Basis wird es von Knochen oder einem azellulärem Gewebe, ähnlich Zement, eingehüllt (Smith und Hall, 1990).

Heute geht man davon aus, dass Zähne ähnlich wie Fischechuppen und Hautknochen Derivate von Lepidomorphen sind. Im Perm (letzte Periode des Paläozoikums) tritt erstmals das Lepidomorphium auf. Es ist das ursprünglichste Hartgebilde der Fischhaut und besteht aus einer knöchernen Basalplatte, die eine kegelförmige Dentinkrone trägt. Diese wird von einer schmelzartigen Schicht, dem Durodentin (die Apatitkristalle sind unregelmäßig angeordnet und erscheinen daher trüb), überzogen (Portmann, 1965).

Obwohl es noch nicht experimentell belegt wurde, scheinen die unechten Zähne (Hornzähne) der Fische und das Exoskelett von Zellen der Neuralleiste abzustammen. Hierbei wird das Mesenchym von der postcranialen wie auch der cranialen Region der Neuralleiste gebildet (Schaeffer, 1977; Halstead, 1987; Smith und Hall, 1990; Smith 1991). Echte Zähne hingegen stammen nur von der cranialen Region der Neuralleiste ab. Sie prägen in allen Vertebraten die Knorpel der orobranchialen Region. Der Verlust der unechten Zähne beinhaltet somit den Verlust der ontogenetischen Funktion der postcranialen Neuralleiste (Eisen und Weston, 1993; Smith et al., 1994; Chibon, 1966).

Das Fehlen von Zähnen bei Vögeln (Kollar und Fischer, 1980), sowie im Unterkiefer von Froschlurchen (Wagner, 1955), dürfte durch eine fehlende Interaktion zwischen Epithel und Mesenchym zustande kommen.

Die primitivste Anordnung echter Zähne findet man in Elasmobranchiern (Plattenkiemer, zu denen Haie und Rochen gehören), bei denen, verglichen mit ihren Zähnen auf der Haut, die Dentikel hinter der Mundlinie zu finden sind (Peyer, 1968; Nelson, 1970). In Knochenfischen gehören die Zähne zu den Hautknochen, die sich um die Mundhöhle herum befinden. Dazu gehören auch die Zähne auf dem Gaumen und auf der medialen Fläche des Unterkiefers. Kleinere Zahnplatten finden sich auf dem Hyoid und dem Branchialbogen (Jarvik, 1944; Nybelin, 1968). Bei verschiedenen Reptilien, wie z. B. den Ambystoma, kommen Zähne auch in anderen Bereichen wie z. B. dem Vomeronasalorgan oder dem Pterygoid vor (Adams, 1924; Kerr, 1960). Nach dem späten Perm (jüngste Periode des Paläozoikums) treten solche Zähne in säugetierähnlichen Reptilien nicht mehr auf.

In Fischen, Amphibien und vielen Reptilien entwickeln sich die Zähne unabhängig vom darunterliegenden Knochen. Dabei sitzen die Zähne dem Knochen auf (Akroodontie, vor allem bei Fischen und Amphibien) oder die Zähne sind innen an der Kieferleiste befestigt (Pleuroodontie, bei Amphibien und Reptilien) (Wiedersheim, 1909). In thekodonten Zähnen (die Zahnwurzeln sind in den Zahnfächern der Kiefer verankert) bestimmter Reptilien, z. B. von Krokodilen, sowie in Säugetieren bildet das Mesenchym der Zahnpapille um den Zahn herum einen Zahnfollikel, aus dem die Zellen das Zement an der Zahnwurzel bzw. dem Alveolarknochen abscheiden und das fibröse Periodontium bilden (Berkowitz und Sloan, 1979; Osborn, 1984; Atchley und Hall, 1991).

Zähne bilden normalerweise eigenständige Einheiten. Sie sind mehr oder weniger in gleichmäßigen Abständen in Reihen oder Feldern auf der Oberfläche verteilt (Lawson et al., 1971; Clemen und Greven, 1977 und 1979). Im Gaumen von Urodelen (Schwanzlurche) weicht dieses Muster jedoch ab. Dort gleichen sie eher Hautgebilden, ähnlich Federn oder Schnurrhaaren.

Die lineare Anordnung der Zähne im Kiefer scheint eine Folge der räumlichen Enge im Mundbereich zu sein. Aber in vielen Wirbeltieren, die keine Säugetiere sind, findet man zwei abwechselnde Gruppen von Zähnen (z. B. in Elasmobranchiern: Reif, 1984; Teleosten; Berkowitz, 1977; Reptilien: Edmund, 1969 und Osborn 1973). Im *Captorhinuss*, einem Reptil aus dem Perm, sind die Zahnfelder breiter und weisen verschiedene Reihen von Zähnen auf, die abwechselnd angeordnet sind (Edmund, 1960; Bolt und DeMar, 1975; Osborn, 1977).

Um sich die Entstehung des Zwischenraumes zwischen den einzelnen Zähnen zu erklären, postuliert Reif (1978 und 1984) als Ursache Inhibition, während Westgard und Ferguson (1987) davon ausgehen, dass Zähne eine reaktive Zone bilden, in der Zell-Zell-Kontakte zur Bildung eines Zahnes anregen, wenn ein besonderer Wert in seiner Positionierung besteht.

Zwei Theorien versuchen die Entstehung mehrhöckeriger Zähne, wie sie in Säugetieren vorkommen, zu erklären. Die Konkreszenztheorie (Leche, 1896; Adloff, 1899 und 1916) geht davon aus, dass ein mehrhöckeriger Zahn durch Verschmelzung mehrerer kegelförmiger Zahnanlagen zustande kommt. Grundlage für die Konkreszenztheorie bilden die Studien an Dipnoi (Lungenfischen), bei denen separate Zahnanlagen phylogenetisch (Smith, 1977) und ontogenetisch (Kemp, 1979) eine Einheit bilden. Die Trituberkulartheorie (Cope, 1883) behauptet, dass alle Zähne aus einem einfachen kegelförmigen Zahn hervorgehen. Das Studium fossiler Funde (Osborn, 1897 und 1907; Gregory, 1922, 1926 und 1934; Abel 1935) entschlüsselte die Umwandlung der haplodonten Reptilienzähne über die trikonodonte Zahnform zum heutigen Trituberkularzahn. Dabei haben sich die zunächst in Reihe hintereinander angeordneten Zähne zum Teil nebeneinander verschoben, so dass sie, ausgehend von ihren separaten Wurzeln, eine einheitliche Zahnkrone bilden. Gleichzeitig formte sich das zunächst scherenartige Gebiss um, so dass die neu entstandenen Mahlflächen aufeinander einwirken (Butler, 1972). Die Trituberkulartheorie ist heute von den meisten Paläontologen und Zoologen anerkannt.

Auch in der Frage nach der Ursache für ein heterodontes Gebiss liegen zwei Theorien vor. Butler (1967) geht in seinem Feldmodell davon aus, dass die

Zahngestalt von zwei unterschiedlichen Faktoren bestimmt wird. Zum einen vermutet er eine Reihe zahnbildender Orte im Kiefer (vermutlich im Epithel), die durch eine kontinuierlich abgestufte interne Umwelt (Mesenchym) ein morphogenetisches Umfeld schafft, in der Zähne entstehen. Er unterteilt dabei die zahnbildenden Orte in drei Regionen, die einhergehen mit der Entstehung von Schneidezähnen, Eckzähnen und Backenzähnen. Das Klonmodell, das von Osborn (1973) entwickelt wurde, vertritt dagegen die These, dass jede Zahnform aus programmierten geklonten mesenchymalen Zellen hervorgeht.

### III. Formale Zahnentwicklung bei der Maus

Zur Zahnentwicklung bei Mäusen gehören alle Vorgänge, die sich im Bereich der Mundhöhle von der Anlage eines Zahnes bis zum Durchbruch des Zahnes abspielen.

Dies sind im einzelnen: Entstehung der Zahnleiste, Bildung der Zahnanlagen, Differenzierung zum Schmelzorgan, Ausprägung der Zahnkrone, Reifung und Mineralisierung der Hartgewebe, Durchbruch der Zähne, Ausbildung der Zahnwurzel, Entwicklung des Periodontiums.

#### 1. Anatomie der Zahnentwicklung

##### 1.1 Zahnleiste und Schmelzorgan

Der Begriff „Zahnleiste“ geht auf Hertwig (1874) zurück. Die Zahnentwicklung nimmt ihren Ausgang von der Zahnleiste (Röse, 1892). Noch vor dem Auftreten der Zahnleiste, kurz nach der Gastrulation, wandern Zellen der Neuralleiste aus dem hinteren Mesencephalon und dem vorderen Hinterhirn (Fukiishi und Morriss-Kay, 1992; Osumi-Yamashita et al., 1994; Tan und Morriss-Kay, 1986; Imai et al. 1996) in die Kieferregion ein und bilden dort unter dem Epithel das Mesenchym (Pourtois, 1961, 1962 und 1964; Slavkin, 1974). Gleichzeitig verdichtet sich das Kapillarnetz in der zahnbildenden Region (Gaunt, 1959). Ab dem 10. Embryonaltag stülpt sich das Epithel caudal und medial des embryonalen Sulcus labiogingivalis in das Mesenchym ein und bildet das primäre Epithelband (Cohn, 1957; Schour, 1962; Ferguson, 1990). Aus diesem Band entwickeln sich im folgenden zwei Fortsätze, die Lamina dentalis und die Lamina vestibularis. Während die Lamina vestibularis die

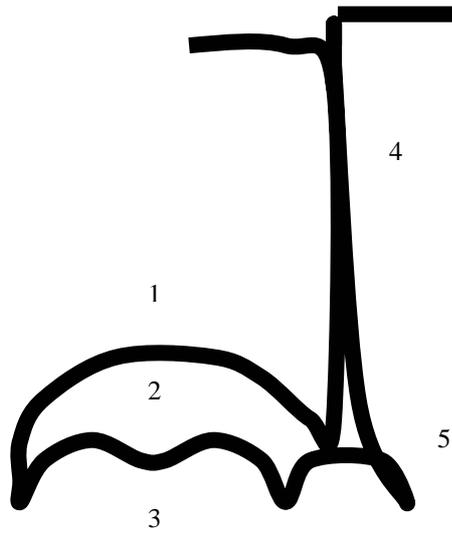
Lippen bzw. Wangen vom Alveolarkamm abtrennt, entwickeln sich aus der Lamina dentalis, die labial davon liegt, die Zähne. Zunächst bildet die nach außen gerichtete Lamina dentalis Epithelwülste, die von verdichtetem Mesenchym umgeben werden. Diese Epithelwülste vergrößern sich rasch und umschließen das darunterliegende Mesenchym, wodurch eine glockenförmige Gestalt entsteht (Sachse, 1894). An der Schmelzglocke kann man das äußere Schmelzepithel vom inneren Schmelzepithel unterscheiden. Zusammen bilden sie die Hertwig Wurzelscheide (Jernvall et al., 1994; Butler, 1956). Die so gebildete Schmelzglocke umschließt nun einen Teil des Mesenchyms, welcher fortan Zahnpapille genannt wird, während der verdichtete Anteil des Mesenchyms um die Schmelzglocke herum als Zahnsäckchen bezeichnet wird. Dieses komplexe Gebilde verlagert sich nun von seiner nach labial gerichteten Position in Richtung der gegenüberliegenden Zahnleiste aus.

Während das äußere Schmelzepithel isoprismatisch bleibt, wird das innere, an der Zahnpapille gelegene Schmelzepithel, hochprismatisch. Diese hochprismatischen Zellen werden Adamantoblasten genannt. Die Zellen des Schmelzorgans differenzieren sich und sekretieren hydrophile Glykosaminoglykane in den Extrazellularraum. Durch die Sekretion der Glykosaminoglykane akkumuliert Flüssigkeit im Interzellularraum und der Druck im Inneren des Schmelzorgans steigt an (Butler, 1956; Ferguson, 1990). Die einzelnen Zellen nehmen eine sternartige Gestalt an. Das Gebilde wird als weiche Schmelzpulpa bezeichnet (Von Ebner, 1891).

Ebenso induziert das epitheliale Schmelzorgan eine weitere Verdichtung des Mesenchyms, das Zahnsäckchen, aus dem später der Zahnhalteapparat hervorgeht und Zement gebildet wird.

Da sich das Mesenchym des Kiefers, in dem die Zahnentwicklung stattfindet, von der ektodermalen Neuralleiste ableitet, spricht man vom Mesektoderm. Voraus geht dieser Entwicklung die Bildung der Neuralleiste, die sich als Zellwucherung zwischen Neuralrohr, das sich aus dem Ektoderm abgesenkt hat, und Epidermisblatt, das als Oberflächenektoderm die äußere Hülle des Embryo bildet. Die Neuralleiste erstreckt sich vom Mittelhirn bis zu den caudalen Somiten. Aus ihr differenzieren sich Zellen, die sich wie Mesenchymzellen verhalten. Aus diesen sogenannten Mesektodermzellen entwickeln sich Bindegewebszellen der weichen Hirnhäute, Knorpelzellen, Knochenzellen und Odontoblasten. Zähne entstehen nur, wenn ektodermale Schmelzanlagen auf Mesektoderm einwirken. Sie entwickeln sich nicht, wenn Schmelzepithel auf Mesenchym anderer Körperregionen wirkt (Sellman, 1946; Wilde, 1955; Henzen, 1957; Johnston und Hazelton, 1972; Lumsden, 1984).

Schematische Darstellung einer Zahnanlage im  
Kappenstadium



- 1 = äußeres Schmelzepithel
- 2 = Schmelzpulpa
- 3 = inneres Schmelzepithel
- 4 = Schmelzleiste
- 5 = Ersatzzahnleiste

Nach Schnorr, 1996

## 1.2 Dentinbildung

Die Mesenchymzellen der Zahnpapille, die an das innere Schmelzepithel grenzen, nehmen, induziert durch das Schmelzepithel, noch vor der Schmelzbildung eine hochprismatische Form an. Diese Zellen werden Odontoblasten genannt (Waldeyer, 1865). Sie beginnen, noch bevor die Schmelzbildung einsetzt, mit der Abscheidung von Prädentin von der Spitze der Papille bis zur Zahnbasis (Schuhmacher, 1990). Durch die Einlagerung von Kalksalzen (Hydroxylapatit) wird das Prädentin zu Dentin (Mosimann und Kohler, 1996). Bei der Abscheidung von Prädentin wird der Platz für die Odontoblasten immer kleiner, sie mauern sich gleichsam in Richtung Schmelz ein. Ihre Zellfortsätze, die sogenannten Tomes-Fasern, werden immer länger je mehr Prädentin abgeschieden wird. Da die Abscheidung ein Leben lang anhält, die Odontoblasten dabei immer weiter Richtung Zahnpulpa gedrängt werden, verkleinert sich die Pulpahöhle zunehmend. Mesenchymzellen, die nicht zu Odontoblasten differenzieren, bilden die Zahnpulpa. Sie dient als Gewebe, in die später Blut- und Nervengewebe einwachsen können (Schnorr, 1996).

## 1.3 Schmelzbildung

Kurz nach der Dentinbildung beginnt das hochprismatische Epithel der Adamantoblasten Schmelz abzusondern. Die Schmelzprismen werden an der Zahnspitze beginnend am Dentin abgelagert (Schuhmacher, 1990). Nach Bildung der Zahnkrone, schieben sich die Ränder des Schmelzorgans wurzelwärts und ermöglichen das Wurzelwachstum (Hertwig, 1874). Die Hertwig Wurzelscheide bestimmt auch die Anzahl, die Größe und die Gestalt der Zahnwurzeln (Slavkin,

1974). Die Schmelzprismen verkalken sekundär und werden dadurch fest miteinander verbunden. Nimmt der Schmelz an Dicke zu, ziehen sich auch die Adamantoblasten über die Schmelzpulpa bis zu den äußeren Schmelzzellen zurück. Letztendlich atrophieren die Adamantoblasten unter letztmaliger Produktion eines Schmelzoberhäutchens, das eine dünne Schicht auf der Schmelzoberfläche bildet. Da sich auch das äußere Schmelzepithel vollständig zurückbildet, wird die Schmelzsubstanz nur mehr vom Zahnsäckchen umgeben (Sinowatz, 1991).

#### 1.4 Wurzelbildung

Kurz vor Fertigstellung des Schmelzes, während das Zahnsäckchen schon Richtung Mundhöhle geschoben wird, beginnt die Entwicklung der Zahnwurzel. Im Wurzelbereich liegen äußeres und inneres Schmelzepithel direkt aufeinander und bilden so die Hertwig Wurzelscheide (Hertwig, 1874). Da eine Schmelzpulpa in der Wurzelscheide fehlt, unterbleibt eine Schmelzbildung in diesem Bereich. Zur Zahnpapille hin befinden sich die prädentinbildenden Odontoblasten, die die Zahnpapille zur Zahnpulpa einengen.

Nach der Degeneration des äußeren und inneren Schmelzepithels (Adamantoblasten) differenzieren sich aus dem Mesenchym des Zahnsäckchens Zementoblasten, welche Zement produzieren (Moore und Persaud, 1996; Sinowatz, 1991). Zement wird folglich nur im Bereich der Zahnwurzel um das Dentin gebildet. Es handelt sich hierbei um ein geflechtartiges Knochengewebe, das über die sogenannten Sharpey-Fasern mit dem Zahnsäckchen, das den bindegewebigen

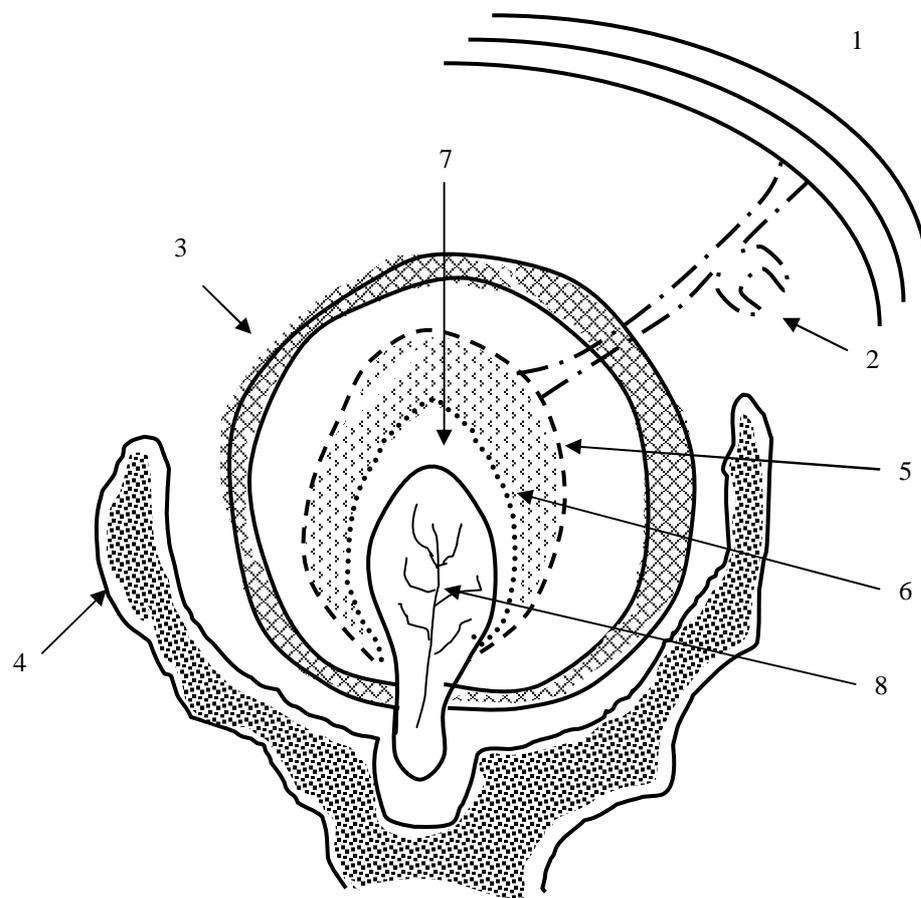
Halteapparat des Zahnes darstellt und mit den knöchernen Zahnfächern verbunden ist (Schroeder und Listgarten, 1971).

Bei den wurzellosen Zähnen der Nagetiere bleibt die Pulpahöhle weit geöffnet. Ständig wird basal neues Dentin, 9-12  $\mu\text{m}$  täglich (Spreter von Kreudenstein, 1939), und neues Zement gebildet und somit der Zahn permanent Richtung Mundhöhle vorgetrieben. Durch Abrieb des Zahnes bei der Nahrungsaufnahme wird der Zahn immer auf gleicher Länge gehalten.

### 1.5 Zahndurchbruch

Durch Längenwachstum der Zahnwurzel wird der Zahn aus der nunmehr gebildeten knöchernen Zahnalveole in Richtung Mundhöhle getrieben. Dabei atrophiert das zunächst über der Zahnkrone gelegene Schleimhautepithel, bis das Zahnweiß an der Oberfläche erscheint. Ein schmaler Saum dichtet den Periodontalspalt zur Mundhöhle ab (Meyer, 1951; Magnusson 1968). Beim Durchtreten der Zähne durch die Mundschleimhaut werden die Zähne nicht nur in linguale Richtung vorgeschoben, es finden auch Kipp- und Torsionsbewegungen statt (Schuhmacher, 1990). Zum Zeitpunkt des Durchbruches ist die Zahnwurzel noch nicht voll ausgebildet. Erst wenn der Zahn seine Position im Kiefer erreicht hat engt sich das Lumen ein (Sinowatz, 1991).

Schematische Darstellung einer Zahnanlage kurz vor dem Durchbruch



- 1 = Epithelgewebe
- 2 = Ersatzzahn
- 3 = Zahnsäckchen
- 4 = Kieferknochen
- 5 = äußeres Schmelzepithel
- 6 = inneres Schmelzepithel
- 7 = Dentin
- 8 = Zahnpulpa

## 1.6 Adultes Gebiss und Zahnschema

Während der Odontogenese erscheinen in der oberen Schneidezahnregion sechs ursprüngliche Zahnwülste, aus denen jedoch nur eine einzige Schneidezahnanlage hervorgeht. Diese Zahnanlage bildet daher eine komplexe Struktur multiplen Ursprungs (Peterková et al., 1995). Fünf eher medial erscheinende Zahnlamellen bilden hypothetisch die Vorläufer für fünf Schneidezähne, wie sie bei Marsupialia (Beuteltieren) (Peyer, 1968) bzw. bei ausgestorbenen Säugetieren (Ziegler, 1971) vorkommen. Die hierbei am weitesten lateral gelegene Zahnlamelle könnte als maxillärer Anteil an der Entwicklung der Schneidezähne angesehen werden (Peterková et al., 1993), wie dies auch beim Menschen beschrieben wurde (Politzer und Weizenberg, 1954; Ooe, 1957; Böhn, 1963; Schwartz, 1982).

Eine Zahnlamelle verbindet vorübergehend während der embryonalen Entwicklung die Schneidezähne mit den Backenzähnen. Diese Zahnleiste, die nur im Oberkiefer auftritt, bringt drei verschiedene Zahnvorläufer (D1, D2, D3) hervor, deren Größe jedoch zu jeder Zeit kleiner ist als die der Zahnanlagen, die auch wirklich ausgebildet werden (Moss-Salentijn, 1978; Peterková et al., 1995). Im Unterkiefer hingegen bleiben die diastemalen Zahnanlagen, verglichen mit dem Bereich im Oberkiefer, immer unscheinbar. Auch eine Differenzierung unterschiedlicher Zahnvorläufer kann hier nicht beobachtet werden (Moss-Salentijn, 1978; Peterková et al., 1995). Alle histologischen Untersuchungen des Schmelzorgans rudimentärer Zahnanlagen konnten keine Anzeichen auf Ausbildung einer weichen Schmelzpulpa sowie sekretierende Ameloblasten feststellen (Fosse und Risnes, 1972; Hirschfeld et al., 1973). An der Zahnbasis ist meist eine zementähnliche Substanz nachweisbar, die von Odontoblasten in der Papille und Zementoblasten aus dem Zahnsäckchen

umgeben ist (Moss-Salentijn, 1978). Das Auftreten von D1 und D2 sowie einer niedrigen Zahnlamelle, die sich mesial vom ersten Molaren im Unterkiefer von Mäuseembryonen abzeichnet, scheint mit zwei oberen und einem unteren Prämolaren zu korrespondieren, wie sie in frühzeitlichen (Viret, 1955; Wood, 1962) und gegenwärtigen (Grassé und Dekeyser, 1955) Nagetieren (Eichhörnchen) gefunden wurden. Diese Beobachtungen führen zu dem Schluss, dass unter den Nagetieren die prämolaren Anlagen phylogenetisch (Luckett, 1985) wie ontogenetisch (Peterková et al., 1995) zurückentwickelt wurden. Dieser Sachverhalt wird auch als Heterochronie bezeichnet (De Beer, 1940; Gould, 1977; Alberch et al., 1979; Alberch, 1980; Gould, 1992). Die Ursache der Heterochronie wird in der zeitlichen Veränderung der Gewebeinteraktionen vermutet (Alberch et al., 1979; Hall, 1984; Smith und Hall, 1990) sowie in einer qualitativen bzw. quantitativen Veränderung der Genexpression (Gould, 1992; Raff, 1992).

Darüber hinaus besteht bei der Maus eine Anlagediphodontie. Darunter versteht man, dass bei der Maus, wie auch anderen Nagetieren, embryonal Milchzähne angelegt sind, diese jedoch nicht ausgebildet, sondern bereits embryonal durch ein permanentes Gebiss abgelöst werden (Moss-Salentijn, 1978; 1993; Peterková et al., 1995; Keränen et al., 1999).

Als Besonderheit treten bei allen Nagetieren, und so auch bei der Maus, im Unter- und Oberkiefer Schmelzbeläge nur auf der labialen Seite der Schneidezähne auf (Sachse, 1894; Peyer, 1968). Da Dentin weniger hart ist als Schmelz, entsteht durch den uneinheitlichen Zahnabrieb eine schneidende Kante (Wood, 1962). In jeder Altersklasse lassen sich jedoch wenige Schichten von Schmelzepithel über dem Dentin auf der oralen Seite nachweisen (Rötter, 1890). Die Epithelschicht ist hier

sehr dünn, abgeplattet, und die einzelnen Zellen weit auseinandergezogen. Das unterschiedliche Wachstum von Schmelz zu Dentin begründet auch die gekrümmte Form der Schneidezähne bei der Maus (Sachse, 1894). Zwischen den paarigen Schneidezähnen und den ersten Molaren liegt im adulten Gebiss ein zahnloser Bereich, das Diastema. Hierbei ist der Kieferknochen gleichmäßig abgerundet. In der Familie der Mäuse, *Mus musculus*, kommen im Ober- und Unterkiefer in jedem Quadranten drei Molare vor. In einer Familie von Mäusen, die in einer australischen Region vorkommt, hat sich die Anzahl der Molaren pro Quadranten von drei auf zwei reduziert (Peyer, 1968). Die Backenzähne der Mäuse, *Mus musculus*, stellen durch das lebenslange Wachstum hohe prismatische Zähne dar, die durch die Intensität der Schmelzfaltung wie aus zahlreichen Lamellen zusammengesetzt erscheinen (Peyer, 1963). Die Mahlbewegungen der Nagetiere ist von vorne nach hinten und von hinten nach vorne. Dieser Bewegungstyp kommt durch die Anordnung der Zähne im Kiefer zustande. Im Oberkiefer ist der Abstand der gegenüberliegenden Molaren im Verhältnis kleiner als im Unterkiefer. Dadurch werden die Kauflächen im Oberkiefer nach lingual abgerieben, während sie nach labial länger sind. Im Unterkiefer hingegen ist der höchste Punkt eines Molaren lingual, sein niedrigster labial (Peyer 1963).

#### Zahnschema Maus

$$\begin{array}{l}
 \underline{1 \text{ Incisor} \quad 0 \text{ Canini} \quad 0 \text{ Prämolare} \quad 3 \text{ Molare}} \\
 1 \text{ Incisor} \quad 0 \text{ Canini} \quad 0 \text{ Prämolare} \quad 3 \text{ Molare} \quad = \quad 16
 \end{array}$$

## 2. Stadien der Zahnentwicklung bei der Maus

### 2.1 Initialstadium

Am zehnten und elften Tag der Embryonalentwicklung bildet sich vom Mundhöhlenepithel ausgehend, caudal und medial des Sulcus labiogingivalis, die Zahnleiste (Ruch et al., 1973; Kronmiller et al., 1992; MacKenzie et al., 1992, Vainio und Thesleff, 1992).

### 2.2 Knospenstadium

Vom elften bis 13. Tag der Embryonalentwicklung beginnt die Differenzierung der Zahnknospen. Als Epithelwucherungen der Mundhöhle wachsen sie in benachbartes Mesenchym ein (Ruch, 1987; Schnorr, 1996).

### 2.3 Kappenstadium

Im Kappenstadium während des 13. bis 15. Embryonaltags werden die Milchzahnanlagen von labial her eingedellt. Das Zahnepithel induziert das Mesenchym zur Bildung eines Zahnsäckchens, welches die Zahnanlage umgibt. Im Inneren des Zahns lässt sich ein inneres isoprismatisches von einem äußeren hochprismatischen Schmelzepithel unterscheiden. Zwischen den beiden Epithelien liegt weiche Schmelzpulpa (Reticulum) (Jernvall et al., 1994; Schnorr, 1996). Der

Schmelzknoten ist am 14. Embryonaltag histologisch nachweisbar (Keränen et al., 1998).

#### 2.4 Glockenstadium

Während des 15. bis 17. Embryonaltags deltet ein mesenchymaler Zapfen die Milchzahnanlagen von labial her ein, wodurch diese eine glockenförmige Gestalt annimmt. Zwischen der weichen Schmelzpulpa und dem inneren Schmelzepithel entsteht das Stratum intermedium. Die nach außen gerichtete Schmelzglocke wird in diesem Stadium nach abwärts gedreht (Ruch, 1987; Schnorr, 1996). Am 16. Embryonaltag können erstmals die Sekundären Schmelzknoten nachgewiesen werden (Jernvall et al., 1994; Jernvall, 1995).

#### 2.5 Differenzierungsstadium

Beginnend mit dem 17. Tag der Embryonalentwicklung bis zur Geburt differenzieren sich die unterschiedlichen Zahnsubstanzen. Das Gewebe der Zahnpapille entwickelt sich im Bereich des Schmelzepithels zu einem hochprismatischen Epithel. Die Zellen dieses Epithels werden Odontoblasten genannt (Hertwig, 1894). Odontoblasten bilden Prädentin, welches sich durch Einlagerung von Kalk zu Dentin formiert und die Zahnpulpa zunehmend einengt. Nach Entstehung des Dentins werden die Adamantoblasten des Schmelzepithels ihrerseits veranlasst, Schmelzprismen abzuscheiden und sich selbst dadurch einzumauern. Odontoblasten halten durch

ihre Zellfortsätze, den Tomes Fasern, Kontakt zum Zahnschmelz (Ruch, 1987; Schnorr, 1996).

## 2.6 Sekretionsstadium der Zahnkrone

Zum Zeitpunkt der Geburt (um den 21. Embryonaltag) und darüber hinaus wird das zwischen innerem und äußerem Schmelzepithel gelegene retikuläre Gewebe unter Abscheidung von Schmelzprismen zurückgebildet. Die Schmelzprismen gehen zur Oberfläche hin in unstrukturierte Kristalle über. Kurz vor der Degeneration der Adamantoblasten bilden diese noch das sogenannte Schmelzoberhäutchen auf der Zahnkrone (Smith und Nanci, 1995).

## 2.7 Sekretionsstadium der Zahnwurzel

Ab etwa dem dritten Tag post partum löst sich die epitheliale Wurzelscheide (Hertwig), welche das innere und äußere Schmelzepithel im Bereich der Zahnwurzel darstellt, auf. Aus den inneren Zellen des Zahnsäckchens entstehen Zementoblasten, die das Dentin im Bereich der Zahnwurzel mit Zement umgeben. Aus den übrigen Zellen des Zahnsäckchens differenziert sich das Periodontium und das Periost der Alveolen (Peterková et al., 1995).

Durch ständiges Wachstum wird der Zahn aus dem Mesenchym in Richtung Mundhöhle geschoben. Bei Nagetieren wird Zeit Lebens Dentin und Zement nachgebildet.

### 3. Räumliche und zeitliche Entwicklung der Zähne

Obwohl sich Zähne im Ober- und Unterkiefer ähneln und zueinander kongruent sind (Peyer, 1968), ist es für die Untersuchung des Zahnmusters von Bedeutung zwischen Zähnen des Oberkiefers und Zähnen des Unterkiefers zu unterscheiden, da sie sich von verschiedenen embryonalen Strukturen ableiten. Der Unterkiefer entsteht aus dem mandibularen Anteil des ersten Kiemenbogens, während sich der Oberkiefer aus zwei Komponenten zusammensetzt. In einem medio-nasalen Prozess entsteht die Prämaxilla, in der die oberen Schneidezähne ihren Ursprung finden, während in einem maxillaren Prozess die Maxilla geformt wird, aus der die oberen Eckzähne, Prämolare und Molare hervorgehen (Gaunt, 1964; Johnston und Bronsky, 1995).

Der Beweis, dass Zellen der Neuralleiste den Ursprung für Odontoblasten, Zellen der Zahnpapille, peridentale Zellen und Knochenzellen bilden, wurde 1984 von Lumsden erbracht. Er verpflanzte Zellen der cranialen Neuralleiste von acht Tage alten Mäuseembryonen, die mit dem Unterkieferepithel von neun bis zehn Tage alten Embryonen rekombiniert wurden, in den Mundwinkel homologer, erwachsener, männlicher Mäuse und setzte so die Voraussetzungen zum Wachstum von molariformen Zähnen. Wurde das selbe Verfahren angewandt und dabei das Ektomesenchym mit Epithel der Gliedmaßen in Verbindung gebracht, wuchsen keine Zähne (Wilde, 1955; Miller, 1969; Kollar und Baird, 1969; Noden, 1983; Lumsden, 1988; Ruch, 1995; Imai et al., 1996; Köntges und Lumsden, 1996).

Zellen der Neuralleiste wandern aus unterschiedlichen rostro-caudalen Regionen, während verschiedener Stadien der Entwicklung und auf unterschiedlichen Wanderrouten in den ersten Kiemenbogen ein. Verschiedene Zellpopulationen erreichen hierbei definierte Bereiche im ersten Kiemenbogen (Nichols, 1981; Serbedzija et al., 1992; Trainor und Tam, 1995; Osumi-Yamashita et al., 1994; Imai et al., 1996).

Die Migration der cranialen Zellen der Neuralleiste, die aus den 4. bis 6. Somiten stammen, erfolgt bereits am 8. Embryonaltag. Zellen, die erst am 9. Embryonaltag in den ersten Kiemenbogen eindringen, stammen aus den 14. bis 16. Somiten (Nichols, 1981; Serbedzija et al., 1992). Zellen der Neuralleiste, die sich aus dem caudalen Mittelhirn ableiten, besiedeln die mesialen Regionen im Kiefer von Hühnern, während Zellen des rostralen Hinterhirns (Rhombomere 1 und 2) sich auf die distalen Bereiche ausbreiten (Köntges und Lumsden, 1996).

Experimente, in denen Gewebe verschiedener Keimblätter rekombiniert wurde, zeigten, dass Epithel und Mesenchym wesentlichen Einfluss auf die Zahngestalt ausüben. So entdeckte Lumsden (1984), dass nur das Epithel des frühen Unterkieferbogens die Möglichkeit besitzt, auf die Einwirkung der Zellen der Neuralleiste zu reagieren. Eine Rekombination von Zellen der Neuralleiste mit dem oralen Ektoderm führte dagegen nicht zur Ausbildung von Zähnen.

Mina und Kollar (1987) fanden heraus, dass die Kombination von Epithel aus dem frühen Unterkieferbogen mit dem Mesenchym des zweiten Kiemenbogens nur zwischen dem 9. und dem 12. Embryonaltag zur Ausbildung von Zähnen führt. Andererseits findet eine Zahnbildung nur zwischen dem 12. und 13. Embryonaltag statt, wenn Ektomesenchym des Unterkieferbogens mit Epithel des zweiten

Kiemenbogens kombiniert wird. Durch diese Ergebnisse wird deutlich, wie sehr sich die Potenz der unterschiedlichen Gewebearten im zeitlichen Verlauf der Entwicklung verändert.

Die Entwicklung von molaren Zähnen sowie Schneidezähnen setzt das Einwandern von Ektomesenchym in den Unterkieferbogen bis zum 9. Embryonaltag voraus (Lumsden, 1984; Lumsden und Buchanan, 1986).

Im Unterkiefer der Maus wird zwischen dem 10,5. und 11,5. Embryonaltag Msx-1 und Msx-2 mesial einschließlich des Bereiches, der später die Schneidezähne ausbildet, exprimiert. Im molaren Bereich findet keine Expression dieser Gene statt. Im entstehenden Oberkieferbereich werden Msx-1 und Msx-2 jedoch im medio-nasalen und maxillaren Prozess exprimiert und sorgen dort für die Entwicklung aller Zahnklassen (MacKenzie et al., 1992).

Noch vor dem elften Embryonaltag beginnt das Mundhöhlenepithel, das über dem Mesenchym liegt, Signale an das Mesenchym abzugeben. Es handelt sich hierbei um Transkripte von bestimmten Homöoboxgenen, auf die später noch eingegangen wird (Ferguson et al., 2000). Als Folge einer biochemischen Signalkette beginnt sich das Mundhöhlenepithel um den zehnten Embryonaltag zu verdicken (Zahnlamelle) und dringt in das darunterliegende Mesenchym vor (Glasstone, 1963; Kollar und Baird 1969; Lumsden, 1988). Ungefähr bis zum Erreichen des Kappenstadiums ist das Mundhöhlenepithel der Startpunkt für die Entwicklung der Zähne. Während des Knospenstadiums, um den 12. Embryonaltag jedoch verändert sich die Situation und die Signalmoleküle kommen aus dem Zahnmesenchym (Kollar und Baird, 1969 und 1970; Mina und Kollar, 1987). Dies konnte anhand von Versuchen gezeigt werden, in

denen molares Mesenchym mit Schneidezahnepithel kultiviert wurde. Es bildeten sich molare Zähne aus. Umgekehrte Gewebekombinationen führten zur Ausprägung von Schneidezähnen. Auf diese epithelial-mesenchymalen Interaktionen wird später noch eingegangen.

Während sich die mesenchymalen Zellen um die epitheliale Knospe kondensieren, bildet die epitheliale Knospe noch im Knospenstadium ab dem 13. Embryonaltag einen primären Schmelzknoten aus. Der Übergang vom Knospen- in das Kappenstadium, welches mit dem Auftreten des primären Schmelzknotens beginnt, ist auch der Zeitpunkt, an dem das Epithel anfängt, sich zu falten und über das Mesenchym zu stülpen (Satokata und Maas, 1994; Van Genderen et al., 1994; Peters et al., 1998). Bei dem Schmelzknoten handelt es sich um eine distale Region der epithelialen Knospe, dessen Zellen sich nicht weiter teilen. Der Schmelzknoten induziert im Glockenstadium (15. - 16. ET) die Ausbildung von sekundären Schmelzknoten. Die Schmelzknoten gelten als Zentren, von denen molekulare Signale ausgesendet werden, welche die Zahngestalt bestimmen (Jernvall, 1995; Thesleff und Jernvall 1998). Der primäre Schmelzknoten beginnt sich ab dem 14. Embryonaltag aufzulösen. Dabei exprimieren einige Zellen des Schmelzknotens Bmp 4, während andere Zellen in Apoptose übergehen (Jernvall et al., 1998). Fortan bildet die epitheliale Zahnknospe ein glockenähnliches Gebilde aus. Am 16. Embryonaltag werden erstmals die Höcker der molaren Zähne morphologisch sichtbar (Keränen et al., 1998).

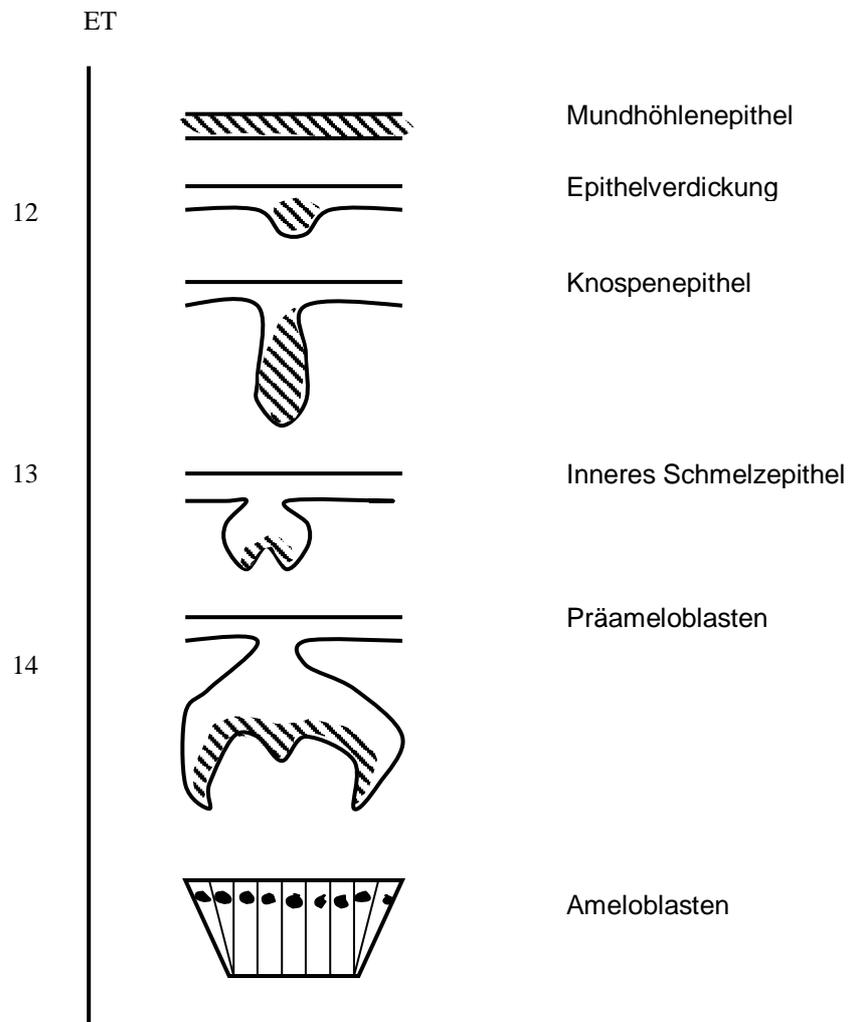
Die in der epithelialen Glocke eingeschlossenen Mesenchymzellen formen die Zahnpapille, aus welcher die Zahnpulpa und die Odontoblasten entstehen (Scott, 1953). Die Odontoblasten bilden später das Dentin. Die peripheren

Mesenchymzellen um die epitheliale Glocke herum formen den Zahnfollikel, dessen Ursprung sich nach Scott (1953) von den Zellen der Zahnpapille ableitet (Yoshikawa und Kollar, 1981; Palmer und Lumsden, 1987; Osborn und Price, 1988). Zu dem Zeitpunkt, an dem sich die Zahnwurzeln bilden, gehen aus dem Zahnfollikel die Zementblasten hervor, die das Zement bilden, sowie die bandhafte Verbindung zwischen Zahn und knöcherner Alveole (Hoffman, 1960; Ten Cate, 1969; Ten Cate und Mills, 1972; Ten Cate et al., 1971; Yoshikawa und Kollar, 1981). Um den Beweis für diesen Sachverhalt zu erbringen, wurden Follikelzellen mit radioaktivem Thymidin markiert und anschließend die Zahnanlagen subkutan in adulte Mäuse transplantiert. Die ektopischen Zahnanlagen entwickelten sich und bildeten Zement, periodontales Ligament und Alveolarknochen aus (Ten Cate, 1995).

Nach der Morphogenese der Zahnkrone wird die Zahnwurzel ausdifferenziert. Das von der Neuralleiste abstammende Mesenchym des Zahnsäckchens sowie der Zahnpulpa proliferiert während der gesamten Wurzelbildung und bildet das Periodontium. In dieser Umgebung grenzt die epitheliale Wurzelscheide, die sich von den Zellen des zervikalen Randes ableitet, die Zahnpulpa vom Periodontium ab (Thomas, 1995). Rekombinationsstudien von Thomas und Kollar (1988) zeigen, dass im 18 Tage alten Mäuseembryo die epitheliale Wurzelscheide in der Lage ist, die Differenzierung von Odontoblasten der Zahnpapille anzuregen. Hierbei unterscheiden sich die Odontoblasten in ihrer Gestalt. Während sie im Bereich der Zahnkrone hochprismatisch (Zylinderform) sind, erscheinen sie an der Zahnbasis isoprismatisch (kubisch) (Avery, 1986). Dies führt auch zu einer unterschiedlichen Qualität und Quantität des synthetisierten Phosphoproteins (Andujar et al., 1991).

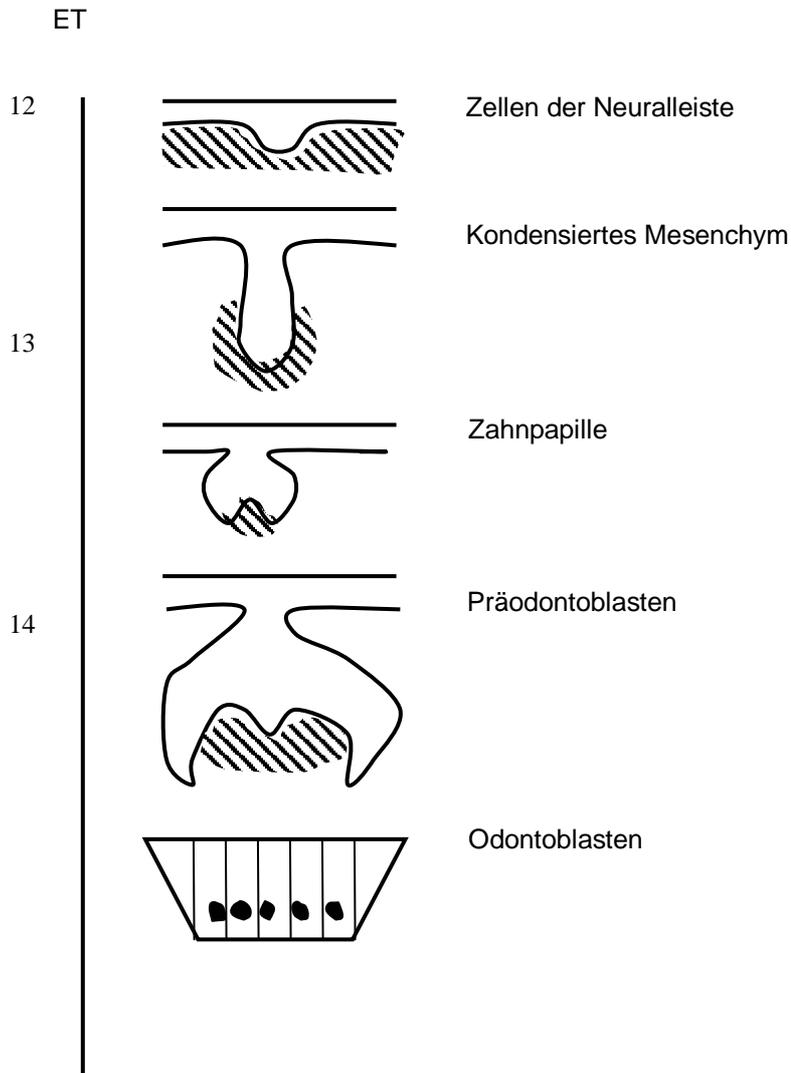
Auch die Bildung des Zements, durch die Zementoblasten, die von den Zellen des Zahnsäckchens abstammen, wird durch die epitheliale Wurzelscheide angeregt. Das Zement lässt sich in zwei Haupttypen unterteilen. Während das azelluläre Zement vor allem im Bereich der Krone und im Mittelstück vorkommt, tritt zelluläres Zement im Spitzen- und im Wurzelbereich auf (Selvig, 1964; Lester, 1969; Lester und Boyde, 1970; Freeman und Ten Cate, 1971; Owens, 1978 und 1979; Cho und Garant, 1988; Thomas und Kollar, 1988; Yamamoto und Wakita, 1991; Bosshardt und Schröder, 1991 und 1992).

## Epitheldifferenzierung



Nach Thesleff et al, 1994

Mesenchymdifferenzierung



Nach Thesleff et al., 1994

#### 4. Chronologie der Odontogenese im Mäuseembryo

Die Ziffern entsprechen dem jeweiligen Embryonaltag

	Schneidezähne		1. Molare		2. Molare		3. Molare	
	inferior	superior	inferior	superior	inferior	superior	inf.	super.
<b>Zahnleiste</b>	12,5. – 13.		11. – 13.					
Knospenstadium	13. – 14.		13. – 14.		16. – 18.	17. – 18.	18. – 23.	
<b>Glockenstadium</b>	14. – 16,5.		14. – 18.	14. – 19.	18. – 20.	18. – 21.		
Odontoblasten	16,5. – 17.	17. – 18.	18. – 19.	19. – 20.	20. – 21.	21. – 22.		
<b>Ameloblasten</b>	17. – 18.	18. – 19.	19. – 20.	20. – 21.	21. – 22.	22. – 23.		
Prädentin	17. – 18.	18. – 19.	19. – 20.	20. – 21.	21. – 22.	22. – 23.		
<b>Schmelz</b>	18. – 23.	19. – 23.	20. – 23.	21. – 23.	22. – 23.	23.		
Dentin	18. – 23.	19. – 23.	20. – 23.	21. – 23.	22. – 23.	23.		

Nach Ruch, 1987, Universidad del Pais Vasco, E-Bilbao

## 5. Histologie der Zahngewebe

Die Zähne der Säugetiere bestehen aus den drei Zahnhartsubstanzen Schmelz, Dentin und Zement, wobei der Schmelz an der Zahnkrone dem Dentin auflagert und das Dentin im Wurzelbereich von Zement umgeben ist. Über die Wurzelhaut ist der Zahn mit dem Kieferknochen verbunden, und seine Versorgung erfährt der Zahn über die Zahnpulpa.

### 5.1 Schmelz (Enamelum dentis, Substantia adamantina, Email)

Schmelz wird von spezialisierten Zellen, den Adamantoblasten, gebildet. Sie differenzieren sich während der Embryonalentwicklung aus dem Mundhöhlenepithel und sezernieren eine Schmelzmatrix, die durch Rückresorption derselben sowie durch Mineralisierung und Ausreifung der kristallinen Struktur den äußerst harten Schmelz entstehen lässt. Der Schmelz besteht zu ca. 95 % aus Hydroxylapatit, zu ca. 1 % aus organischer Matrix und zu ca. 4 % aus Wasser. Der große Anteil an Mineral im Schmelz macht ihn eher spröde und verleiht ihm nur eine geringe Zugfestigkeit. Auf der Mohsschen Härteskala erreicht das Schmelz eine Härte von 6 - 7 und steht damit zwischen Apatit und Quarz (Scherbel und Schoenlank, 1922). Das Kristall des Hydroxylapatits, das im wesentlichen aus Kalzium und Phosphat besteht, weist im Querschnitt ein Sechseck sowie eine pyramidenförmige Abdachung auf. Viele Kristalle bilden ein Schmelzprisma, das eine Größe von 3-9  $\mu\text{m}$ , einen Durchmesser von ca. 5  $\mu\text{m}$  und eine schlüssellochartige Gestalt aufweist (Von Ebner, 1902; Meckel et al., 1965; Fosse, 1968; Radlanski et al., 1986; Hees und Sinowatz, 2000). Die

Schlüsselform kann sich innerhalb eines Zahnes eher oval, rund oder unregelmäßig darstellen (Bures und Svejda, 1974). 20 000 bis 30 000 Schmelzprismen, die girlandenförmig in Wellen oder Spiralen von der Schmelz-Dentin-Grenze zur Oberfläche der Krone ziehen, bilden ca.  $1 \text{ mm}^2$  der Schmelzoberfläche. Durch den gewundenen Verlauf ist es möglich, dass bei konstantem Prismendurchmesser das Volumen des Schmelzmantels von innen nach außen zunimmt. So ergibt sich zwischen innerer und äußerer Schmelzoberfläche eine Beziehung von 1:3 (Radlanski et al., 1986). Die oberste und die unterste Schmelzlage haben keine Prismen. Hier bildet eine 0,1 bis 0,2  $\mu\text{m}$  dicke Schicht organischen Materials die Prismenscheide. Im prismenlosen Schmelz kommen jedoch Retzius-Streifen und viele kleine Höhlen, die einen Durchmesser von ca. 0,2  $\mu\text{m}$  haben, vor. Diese Schicht ist weniger mineralisiert als die innere und äußere Schmelzschicht, an die sie angrenzt (Gwinnett, 1973). Die Bildung des Schmelzes geht während der Entwicklung schubweise von statten, so dass sich in histologischen Präparaten Wachstumslinien, die sogenannten Retzius-Linien, erkennen lassen (Retzius, 1837). Sie sind im Bereich des Zahnhalses fast senkrecht angeordnet und ändern ihre Verlaufsrichtung zur Zahnkrone hin, indem sie sich mehr und mehr aufrichten, bis sie annähernd parallel zur Längsachse des Zahnes verlaufen und schließlich die Dentinhöcker bogenförmig umfassen. An Querschnitten haben die Retzius-Linien das Aussehen von Jahresringen eines Baumes. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, dass die Retzius-Linien durch einen plötzlichen Richtungswechsel der Prismenscheiden hervorgerufen werden (Schuhmacher, 1990). Die Retzius-Linien sind nur im Durch- bzw. Dunkelfeldauflicht zu sehen. Sie verlaufen steiler als die Hunter-Schreger-Streifen, die sich alternierend als helle und dunkle Streifen von der Schmelz-Dentin-Grenze

bis ins äußere Schmelzdrittel darstellen (Hunter, 1771; Schreger, 1800). Pro Millimeter Schmelz-Dentin-Grenze befinden sich 6 bis 7,5 Hunter-Schreger-Streifen. Helle und dunkle Bereiche kommen zustande, weil längs- und querverlaufende Schmelzprismen gleichermaßen im Schnittpräparat zu Tage treten. Längs geschnittene Prismen werden nach Preiswerk (1895) Parazonien, quergeschnittene Diazonien genannt. Andere regelmäßig im Schmelz anzutreffende Strukturen sind Schmelzbüschel, Schmelzlamellen und Schmelzkolben.

Die Schmelzbüschel entspringen an der Schmelz-Dentin-Grenze und ziehen bandförmig und büschelartig in den Schmelzkörper hinein. In ihnen wechseln sich typische Schmelzprismen mit homogenen, organischen Fibrillen ab, die genauso breit sind wie die Schmelzprismen (Schuhmacher, 1990). Die Schmelzlamellen durchdringen relativ geradlinig, ebenfalls als bandförmige Strukturen, den Schmelzkörper in seiner ganzen Ausdehnung und ziehen auch durch die Schmelzprismen. In permanenten Zähnen sind sie ca. 3 µm breit, in Milchzähnen ca. 1 µm. Sie sind mit einer proteinartigen Masse ausgefüllt, in der sich auch Bakterien nachweisen lassen (Schuhmacher, 1990). Die Entstehung der Schmelzlamellen sind auf Spannungen im noch nicht verkalkten Zahn zurückzuführen. Da sich in den Schmelzlamellen ein erhöhter Gehalt an organischen Substanzen nachweisen lässt, gelten sie als Prädilektionsstellen für Karies (Gottlieb, 1921a).

Schmelzkolben sind ein- oder mehrfach erweiterte, in den Schmelz übertretende, Dentinkanälchen (Czermak, 1850; Hassal, 1852; Todd und Bowmann, 1859). Sie enthalten Odontoblastenfortsätze, die bis zu 100 µm lang sein können. Im Bereich der Kronenhöcker und der Schmelz-Zement-Grenze scheinen sie häufiger

vorzukommen als in anderen Schmelzgebieten (Cristoff, 1927). Die Bedeutung dieser Strukturen, die mit nervalen Endorganen verglichen werden können, ist noch unklar.

Am Übergang der Schmelzprismen zur Schmelzoberfläche löst sich die Begrenzung der Prismen abrupt auf und geht in ein unstrukturiertes, kontinuierliches Band aus Apatitkristallen über, die sich senkrecht zur Schmelzoberfläche anordnen. Diese Kristalle bilden das 5 bis 30 µm dicke Schmelzoberhäutchen, das dem Zahn Schutz vor Säuren, Basen und Enzymen bietet. Im polarisierten Licht erkennt man sich kreuzende Fibrillenbündel (Keil, 1942), die in Abhängigkeit vom Zahnalter in primäre, sekundäre und tertiäre Schmelzschichten unterschieden werden können. Das primäre Schmelzoberhäutchen hat eine Dicke von 0,2 bis 1 µm. Es entsteht präeruptiv als kultikuläre Ausscheidung der Adamantoblasten in der letzten Phase der Schmelzbildung und wird nach seinem Erstbeschreiber Nasmyth-Membran benannt (Nasmyth, 1939). Das sekundäre Schmelzoberhäutchen liegt der Nasmyth-Membran in einer Dicke von 2 bis 10 µm auf und entsteht während des Zahndurchbruchs als Epithelkutikula (Gottlieb, 1921a und 1921b). Posteruptiv entsteht das tertiäre Schmelzoberhäutchen durch die Adsorption von Bakterien, Epithelzellen und Speiseresten.

## 5.2 Dentin (Zahnbein, Substantia eburnea, Dentinum, Elfenbein)

Odontoblasten entstehen aus mesenchymalem Gewebe, wenn das darrüberliegende Epithel während der Odontogenese einen gewissen Druck darauf ausübt. Durch Sekretion wird von den Odontoblasten Prädentin abgeschieden, das eine unmineralisierte Dentinmatrix darstellt (Sinowatz, 1991). Erst allmählich und schrittweise verkalkt das Prädentin. Es besteht dann aus ca. 70% anorganischer Substanz, zu 20 % aus organischer Matrix und zu 10 % aus Wasser. Durch den relativ hohen Anteil an organischer Matrix stellt das gelbliche Dentin eine elastische, poröse und durchlässige Masse dar, die weniger hart als Schmelz, jedoch härter als Zement ist (Schuhmacher, 1990). Das Dentin bildet den Hauptanteil der verschiedenen Zahngewebe. Es wird an der Krone von Schmelz und an der Wurzel von Zement überzogen. Im Inneren des Dentins befinden sich Odontoblasten, die Kontakt zur Zahnpulpa haben (Schnorr, 1996). Über Dentinkanälchen, in denen die langen Fortsätze (Tomes Fasern) der säulenförmigen Odontoblasten verlaufen, wird eine Verbindung von der Pulpa bis zum Schmelz hergestellt, die teilweise eine Länge von bis zu 5 mm aufweist. Ihr Verlauf ist dabei geradlinig bis S-förmig. In Längsschnitten gibt die Krümmung Anlass für eine Streifenbildung, die nach dem Beschreiber, Schreger-Linien genannt werden (Schreger, 1936). Die Dentinkanälchen wurden bereits von Leeuwenhoek (1722) beschrieben und später von Purkinje (1835) und Retzius (1837) weiter untersucht. Die Wand der Dentinkanälchen wird von einem stark mineralisiertem Dentin ausgekleidet, während das zwischen den Kanälchen liegende Dentin weniger mineralisiert ist und große Mengen kollagener Fasern enthält. Auch die äußerste Mantelschicht des Dentins, die ca. 10 bis 30 µm dick ist, unterscheidet sich vom intertubulärem Dentin. Es ist reich an kollagenen Fasern und organischer Substanz, wodurch sich die Tomes-Fasern dort verzweigen können. Im Bereich der Zahnkrone befinden sich mehr Dentinkanälchen pro Flächeneinheit als im Bereich der Zahnwurzel. Auch zur

Zahnpulpa hin sind vier mal mehr Dentinkanälchen ausgebildet als zum Schmelz hin (Römer, 1909; Gebhardt, 1923; Hopewell-Smith, 1923; Ketterl, 1961). Nahe der Zahnpulpa sind die Dentinkanäle weiter als zur Peripherie hin. Mit zunehmendem Alter werden die Dentinkanäle enger (Oschinsky, 1921; Ketterl, 1961). In histologischen Präparaten lassen sich Wachstumslinien, Von Ebner-Linien, die auf eine schubweise verlaufende Mineralisierung des Dentins hinweisen, feststellen (Von Ebner, 1890; Schmidt, 1962). Hierbei sind die Hydroxylapatitkristalle des Dentins kleiner als die des Schmelzes (Hees und Sinowatz, 2000). Owen entdeckte 1840 bis 1845 akzentuierte Wachstumslinien des Dentins, die ihre Ursache im gehäuften Auftreten von Interglobularräumen haben (Owen-Konturlinien).

Czermak beschrieb 1850 im verkalkten Dentin sogenannte Interglobularräume, die teilweise spalt-, aber auch bogen- und flächenförmige Gestalt haben (Schmidt, 1961) und wie echte Hohlräume wirken. Sie kommen im äußeren Drittel des Kronen- und Wurzel Dentins vor. Einige der Interglobularräume enthalten wenig verkalktes, organisches Material, und manche haben eine Verbindung zu den Dentinkanälchen (Schuhmacher, 1990). Dicht unter der Oberfläche des Wurzel Dentins, von der Schmelz-Zement-Grenze zur Wurzelspitze hin, befindet sich eine schmale Zone, in der eine Vielzahl kleinerer Interglobularräume auffällt. Sie wird nach ihrem Entdecker, Tomes-Körnerschicht, genannt (Tomes, 1848). Eine Untersuchung an Milchzähnen japanischer Kinder hat ergeben, dass nicht in jedem Zahn Interglobularräume vorkommen. Am häufigsten treten diese jedoch im ersten und zweiten Milchmolaren auf (Isokawa et al., 1963).

Dentin, das bis zum Abschluss des Wurzelwachstums gebildet wird, wird als primäres Dentin bezeichnet. Danach gebildetes Sekundärdentin unterscheidet sich

hinsichtlich seiner Struktur nur dann vom zirkumpulpalen Dentin (Hauptmasse des Dentinkerns), wenn Irritationen zur Dentinbildung geführt haben. Dann weist das Dentin nur noch wenige Kanälchen auf und zeigt einen stärker gewellten Verlauf (Hees und Sinowatz, 2000).

### 5.3 Zement (Cementum)

Aus den Mesenchymzellen des Zahnsäckchens entstehen in Laufe der Embryonalentwicklung Zementoblasten. Die Zementoblasten mauern sich ähnlich wie Knochenzellen selbst ein, indem sie Zement unterhalb des Schmelzes am Dentin abscheiden und so die äußere Oberfläche der Zahnwurzel bilden. Diese Zellen werden fortan Zementozyten genannt. Sie stehen mit benachbarten Zellen über ihre langen sich verzweigenden Fortsätze in Kontakt. Zementozyten sind in der Lage resorbierende und synthetisierende Funktionen auszuüben. Im Grenzbereich zwischen Schmelz und Zement enthält das Zement weder Zellen, noch kollagene Fibrillen und wird als azellulär-afibrilläres Zement bezeichnet (Schroeder und Listgarten, 1971). Seine Entstehung wird auf die Syntheseleistung der Zementoblasten zurückgeführt. Erst im mittleren und unteren Wurzeldrittel treten Zementozyten und zahlreiche Kollagenfibrillen (zellulär-fibrilläres Zement) auf (Listgarten und Kamin, 1969). Die Seitenflächen der Zahnwurzel im oberen Drittel verfügen über eine dritte Form des Zementes. Dort kommen viele kollagene Fibrillen vor, die als Sharpey-Fasern bezeichnet werden, jedoch keine Zementozyten. Diese desmodontalen Fasern (Sharpey Fasern) verbinden das Wurzelzement mit der knöchernen Zahnalveole und geben dem Zahn den nötigen Halt im Kiefer. Jones (1981) unterscheidet nach seiner Funktion interne kollagene Fasern des Zements

(intrinsic fibers) von Kollagenfibrillen, die der Verankerung im Periodontium dienen (extrinsic fibers). Die Entstehung des azellulären Faserzements wird auf die Aktivitäten von Fibroblasten und Zementoblasten zurückgeführt. „Intrinsic fibers“ werden im Kronenzement bestimmter Tierarten (z.B. Rind, Pferd, Meerschweinchen, Kaninchen) gefunden. Das Kronenzement überzieht die gefaltete Oberfläche der Prämolaren und Molaren und zeigt sich bei abradierten Zähnen in den Tälern zwischen den Schmelzleisten (Jones, 1981). Der Mineralgehalt von Zement liegt bei ca. 60 %, wodurch das Zement etwa ebenso hart ist wie Knochen. Im Gegensatz zu knöchernem Gewebe enthält Zement jedoch keine Blutgefäße (Schuhmacher, 1990). Wachstumslinien, die auch hier im histologischen Präparat feststellbar sind, werden als Salter-Linien bezeichnet.

#### 5.4 Zahnpulpa (Pulpa dentis, Zahnmark)

Das Grundgewebe der Zahnpulpa ist ein retikulares Bindegewebe und entstammt dem Mesoderm. Die Aufgaben der Pulpa bestehen in der Dentinbildung, Ernährung und Innervation des Zahns sowie in der Abwehr infektiöser Erreger. Die Interzellularsubstanz wird von zahlreichen Fibrillen durchzogen, welche stets einzeln verlaufen. Die Fibrillen bilden ein Gitternetz, dessen filzartige Anordnung mit Knorpelgewebe verglichen wird. Odontoblasten bilden die äußerste Zellschicht zum Zahnbein. Sie sind zylinderförmig im Kronenbereich und etwas flacher im Bereich der Wurzel (Rebel, 1958; Pritz, 1973). Häufig, aber nicht immer, befindet sich unter der Odontoblastenschicht eine schmale zellulose bzw. zellarme Schicht, die Weil-Schicht (Weil, 1888). Sie wird von einer zellreichen Schicht unterlagert (Pischinger und Stockinger, 1968). Fibrozyten kommen als ortsansässige Pulpozyten oder auch als

freie Bindegewebszellen vor. Die Fortsätze der spindel- oder sternförmigen Zellen stehen größtenteils durch desmosomale Kontakte untereinander sowie auch mit den Odontoblasten in Verbindung (Hattysy, 1964; Taatz und Stiefel, 1966). Pulpozyten sind in der Lage, sich in Zementoblasten oder Osteoblasten umzuformen (Rebel, 1920; Euler, 1921; Rywkind, 1926; Wannemacher, 1927). In den Maschen des Fibrozytennetzes kommen Histiocyten, Lymphocyten, Plasmazellen (Jasswoin und Mechteis, 1933), Monozyten, Mastzellen (Branzi, 1953), vielkernige Riesenzellen und eosinophile Granulozyten vor (Pilz, 1963; Han und Avery, 1965; Sulzmann, 1965). Durch das Foramen apicale treten Nerven in die Pulpa, die sich in immer feiner werdende Ästchen aufspalten. Sie entspringen dem Nervus trigeminus sowie dem autonomen Nervensystem. Ihre parasymphatischen Anteile entstammen dem Nervus facialis und dem Nervus glossopharyngeus, die sympathischen Fasern dem Ganglion cervicale superius. Die Pulpanerven sind zum Teil markhaltig (sensibel), zum Teil marklos (vegetativ). Unmittelbar unter und auch zwischen den Odontoblasten verzweigen sich die Nervenendigungen zu einem Nervenplexus (Raschkow, 1835), der hauptsächlich aus marklosen Nervenfasern besteht (Beasley und Holland, 1978; Holland, 1980). An ihren Endigungen lassen sich knopfförmige oder kolbige Anschwellungen erkennen. Bei den Gefäßen lässt sich kaum zwischen Arterien und Venen unterscheiden, da die Arterienwand nur gering bemuskelt ist (Zuckerandl, 1902; Hayashi, 1932; Von Kölliker, 1867; Sarran 1880; Kramer, 1960). Der Lymphabfluss verläuft über Lymphspalten (Schweitzer, 1907 und 1909; Sulzmann, 1965; Kihara, 1956; Balogh und Boros, 1957; Isokawa, 1960).

## 5.5 Wurzelhaut (Periodontium)

Elastische Bindegewebsfibrillen, welche zu Bündeln angeordnet sind, verbinden die Zahnwurzel mit den Alveolen des Kiefers. Als Sharpey Fasern entspringen sie dem Knochen und ziehen teilweise schräg in Richtung Zahnhals, teilweise horizontal zur Zahnwurzel hin. Der horizontale Faserzug ist stark ausgeprägt und trägt den Namen Ligamentum circulare. Das Ligamentum verhindert das Eindringen von Fremdmaterial und bewirkt eine elastische Befestigung der Zähne im Kiefer. In den Maschen der Fibrillen befinden sich Bindegewebszellen, Leukozyten sowie Blut- und Lymphgefäße. Malassez beschreibt Nester von Epithelzellen, Débris épithéliaux, die als Reste der Epithelscheide gelten und als Muttergewebe von Zysten und epithelialen Geschwülsten gelten (Scherbel und Schoenlank, 1922).

## 6. Histochemie der Zahngewebe

Die vielfältigen Ergebnisse der Histochemie sind im Folgenden in einer Tabelle zusammengefasst

	<b>Kappen- stadium</b>	<b>Knospen- stadium</b>	<b>Glocken- stadium</b>	<b>Differenzie- rungsstadium</b>	<b>Sekretions- stadium</b>	<b>Quelle</b>
Kohlenhydrate  (Nachweis mittels Perjodsäure-Schiff- Reaktion)		Zahnpapille  Zytoplasma der Zellen des Schmelzretikulums  Stratum intermedium			Zytoplasma der Ameloblasten  Distales Zytoplasma der Odontoblasten	Wislocki et al., 1948 ; Rogers, 1949; Wislocki und Sognaes, 1950 ; Plackova, 1958 ; Symons, 1961 und 1962
Glykogen		Mundhöhlenepithel (groß- und kleintropfige Form)  Zahnleiste	Zahnleiste  Stratum intermedium  unterer Rand der Zahnanlage  Zahnsäckchen	Vereinzelt in Zellen der Schmelzpulpa und Zahnpapille		Horowitz, 1942; Bevelander und Johnson, 1946 und 1949; Wislocki und Sognaes, 1950; Detzel, 1965

	Kappenstadium	Knospenstadium	Glockenstadium	Differenzierungsstadium	Sekretionsstadium	Quelle
Glykoproteine				Odontoblastenfortsätze Kollagenfasern der Pulpa Grundsubstanz zwischen den Zellen des Retikulums		Wislocki und Sognaes, 1950
Neutrale und saure Mukopolysaccharide	Gesamte Zahnanlage  Verstärkt in: Basalmembran, Prädentin, Zellen der Pulpa, Oberfläche der Zellen des Retikulums, Dentin  Spärlich in: Amelo- und Odontoblasten	Gesamte Zahnanlage				Bevelander und Johnson, 1955; Schlorf, 1961; Detzel, 1965

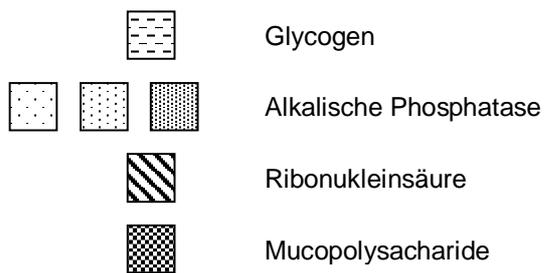
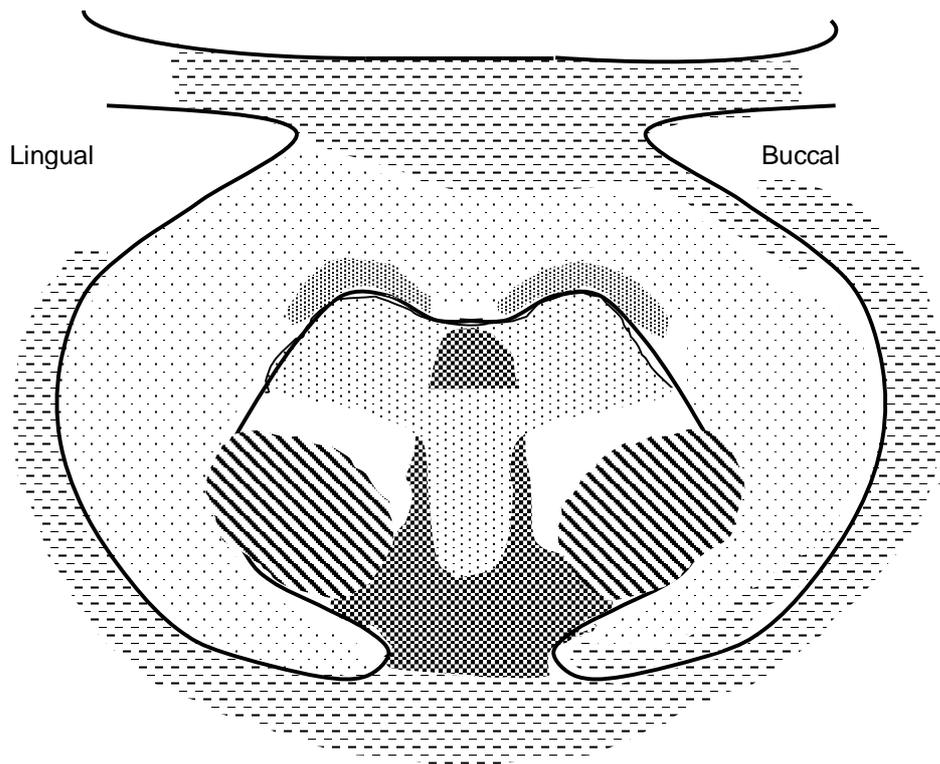
	<b>Kappenstadium</b>	<b>Knospenstadium</b>	<b>Glockenstadium</b>	<b>Differenzierungsstadium</b>	<b>Sekretionsstadium</b>	<b>Quelle</b>
Saure Mukopolysaccharide	Zellfortsätze im Retikulum und in der Pulpa					Detzel, 1965
Lipide	Schwache Anfärbung in allen Zellen der Zahnanlage  Stärkere Färbung an der Grenzlinie zwischen epithelalem und mesenchymalem Gewebe					Schlorf, 1961; Detzel, 1965
Protein  Dinitrofluorbenzen (DNFB)  Alloxan-Schiff-Reaktion  Ninhydrin-Schiff-Reaktion	Alle Zellkerne der Zahnanlage			Distale und basale Zellgrenze der Ameloblasten	Zytoplasma der Zellen des inneren Schmelzepithels, des Übergangs vom inneren zum äußeren Schmelzepithel, des Stratum intermedium, des Schmelzstranges und	Chase, 1929; Rosebury, 1930; Wislocki und Sognnaes, 1950; Pautard, 1963; Fullmer, 1958; Symons, 1962; Schmidt und Rautenberg, 1973;

	Kappenstadium	Knospenstadium	Glockenstadium	Differenzierungsstadium	Sekretionsstadium	Quelle
					<p>des Zungengrundes</p> <p>Schwach reagiert das Zytoplasma der Zellen des äußeren Schmelzepithels und des Schmelzretikulums sowie die Interzellularsubstanz der Zahnpapille</p> <p>Prismenscheiden des verkalkten Schmelzes</p> <p>Schreger-Streifen des reifen Schmelzes</p>	Matthiessen, 1965; Naujoks, 1956; Schlorf, 1961

	<b>Kappenstadium</b>	<b>Knospenstadium</b>	<b>Glockenstadium</b>	<b>Differenzierungsstadium</b>	<b>Sekretionsstadium</b>	<b>Quelle</b>
Nukleinsäure	Verstärkt in Zellen des Schmelzorgans	Ver mehrt im Stratum intermedium sowie im inneren Schmelzepithel	Verstärkt in Zellen des inneren gegenüber den Zellen des äußeren Schmelzepithels  Deutlich auch im Stratum intermedium und Schmelzstrang	Nach der Differenzierung schneller Anstieg des RNA-Gehaltes in den Odontoblasten		Matthiessen, 1965; Johnson und Bevelander, 1954; Hermann, 1956; Symons, 1956
Enzyme  Alkalische Phosphatase	Zahnleiste		Zahnpapille	Retikulum basal in Amelo- und Odontoblasten		Johnson und Bevelander, 1954; Naujoks, 1956; Symons, 1956; Hermann, 1956; Sasso und Castro, 1957; Schlorf, 1961; Nuki und Bonting, 1961; Mori et al., 1962

	<b>Kappen- stadium</b>	<b>Knospen- stadium</b>	<b>Glocken- stadium</b>	<b>Differenzie- rungsstadium</b>	<b>Sekretions- stadium</b>	<b>Quelle</b>
Saure Phosphatase	Äußeres und inneres Schmelze- epi- thel  Schmelz- retikulum  Zahnpapille		Äußeres und inneres Schmelze- epithel  Stratum intermedium  Schmelzleiste  Schmelzretikulum			Matthiessen, 1966
Kalzium	Äußeres und inneres Schmelze- epi- thel  Schmelz- retikulum  Zahnpapille			Odonto- und Ameloblasten  Tomes Fasern		Matthiessen, 1966; Fromme et al., 1971 und 1972

Schematische Darstellung des Verteilungsmusters von Glycogen, Alkalischer Phosphatase, Ribonukleinsäure und Mucopolysaccharide in einem embryonalen Backenzahn einer Maus



Nach Pourtois, 1961

#### IV. Zahnmuster und Zahngestalt in anderen Säugetieren

Wie schon im Kapitel über die Evolution der Zähne hingewiesen, verfügen verschiedene Wirbeltiere wie z.B. Fische, nur über eine bestimmte Anzahl ähnlicher und einfach gebauter konikaler Zähne. Dies wird als Homodontie bezeichnet. Die homodonten Zähne werden zeitlebens ständig erneuert (Polyphyodontie). Homodonte Zähne kommen auch bei marinen Säugetieren, wie z.B. den Delphinen, vor. Allerdings geht man davon aus, dass diese Tiere heterodonte Vorfahren hatten (Peyer, 1968).

Landlebende Säugetiere hingegen weisen einen regional differenzierten Zahnbogen auf, der Schneidezähne, Eckzähne, Prämolare und Molare enthält und im Ober- und Unterkiefer kongruent ist. Die Ausbildung verschiedener Zähne wird als Heterodontie bezeichnet. Im Gegensatz zu homodonten Spezies findet in heterodonten Spezies nur ein Zahnwechsel (Diphyodontie) statt (Peyer, 1968; Osborn, 1973; Kemp, 1982; Brown, 1983; Crompton und Luo, 1993). Innerhalb einer Spezies sowie zwischen den Spezies ist es die homöotische Variation, die die genetische Kontrolle über das Zahnmuster und die Zahngestalt übernimmt (Zhao et al., 2000).

## 1. Theorien des heterodonten Zahnmusters

### 1.1 Gradient Modell

Butler (1939), Patterson (1956) und Van Valen (1970) lieferten ähnlich Versionen einer „Morphogenetischen Gradiententheorie“, um die Entstehung eines heterodonten Zahnmusters zu erklären. Diese Modelle gehen von einem einheitlichen Zahnvorläufer aus, der sich erst am Ende der Zahnentwicklung durch morphogenetische Substanzen, die aus dem Mesenchym des Kiefers stammen, in die entsprechende Zahnklasse (Schneide-, Eck-, Backenzahn) differenziert. Durch einen Konzentrationsgradienten entlang der mesial-distalen Achse des Zahnbogens, der mit den Zahnvorläufern interagiert, soll die Zahngestalt bestimmt werden. Mit anderen Worten, unterschiedliche Zähne entwickeln sich aufgrund ihrer unterschiedlichen Lokalisation im Zahnbogen. Das morphogenetische Feld wird in Subregionen unterteilt, in denen Schneide-, Eck- und Backenzähne entstehen, und jede Subregion wiederum über ihren eigenen Gradienten verfügt (Zhao et al., 2000).

### 1.2 Klon Modell

Das Klon-Modell von Osborn (1973 und 1978) hat viele Gemeinsamkeiten mit der „Progress Zone Theory“ von Summerbell et al. (1973). Danach repräsentieren die drei unterschiedlichen Zahnklassen drei verschiedene Zellklone, die aus unterschiedlich programmierten Stammzellen hervorgehen. Nach einer gewissen Anzahl von

Zellteilungen ist der Zellklon groß genug, um einen Zahnvorläufer auszubilden. Die Wachstumsrate einiger Zellen des Klons bestimmt die Wachstumsrate des Zahnvorläufers, welcher wiederum die Zahngestalt bestimmt. Mit fortschreitendem Wachstum verliert der Klon seine morphogenetische Kraft, was eine Gestaltänderung der sich formenden Zähne bedingt. Nach einer gewissen Anzahl von Zellzyklen verliert der Klon seine Potenz, Zahnvorläufer zu bilden. Die Anzahl der Zähne bleibt dadurch konstant.

Obwohl einige Gene entdeckt wurden, die einen regulierenden Einfluss auf die Zahnentwicklung ausüben, konnte doch bei keinem eine eindeutige morphogenetische Funktion nachgewiesen werden. Für beide Modelle konnten experimentelle Hinweise erbracht werden, die die jeweilige Theorie unterstützen (Lumsden, 1979; Lawrence und Struhl, 1996; Nüsslein-Vollhard, 1996).

## 2. Beschreibung der Anatomie des Gebisses bei Haussäugetieren

Zwischen der Gebissform und der Art der Ernährung besteht bei Säugetieren ein enger Zusammenhang (Rensberger, 2000), so dass man eine Einteilung in Fleisch-, Pflanzen- und Allesfressergebiss vornehmen kann (Kükentahl, 1892). Das Gebiss unterliegt einem speziesspezifischen Zahnwechsel, wobei ein zahnärmeres Gebiss (Milchgebiss) von einem Dauergebiss abgelöst wird. Dem Zahnwechsel unterliegen die Schneide- und Eckzähne sowie die vorderen Mahlzähne, mit Ausnahme des ersten Prämolaren, der nicht gewechselt wird. Die Molaren des Dauergebisses, die rachenwärts der Prämolaren

erscheinen, haben im Milchgebiss keine Vorläufer. Der Zahnwechsel erfolgt schrittweise in einer für die Tierart üblichen Reihenfolge. Die bleibenden Zähne stoßen lingual der Milchzähne durch das Zahnfleisch. Durch den Druck, der von den zweiten Zähnen auf die Zahnwurzel der ersten Zähne ausgeübt wird, wird die Ernährung der ersten Zähne gedrosselt, schließlich unterbunden und der tote Milchzahn durch den bleibenden Zahn verdrängt (Nickel et al., 1995).

Durch die unterschiedliche Position der Zähne im Zahnbogen, weisen sie auch eine unterschiedliche Gestalt auf (Heterodontie). Die typische Gestalt eines Zahnes spiegelt seine Funktion wieder. Zu den haplodonten Zähnen des Ober- und Unterkiefers gehören die Schneide- und Eckzähne. Ihre Funktion besteht beim Fleischfresser darin, die Beute zu fassen und in Stücke zu reißen. Die kompliziert gebauten Backenzähne der Fleisch- und Allesfresser brechen harte Anteile in der Nahrung und dienen der weiteren Zerkleinerung der Nahrung. Die Pflanzenfresser benutzen die Schneidezähne zum Portionieren oder Rupfen der Pflanzen. Eckzähne spielen in diesen Spezies nur eine untergeordnete Rolle. Allen Haussäugetieren gemeinsam ist ein lückenhafter Bereich im Zahnbogen zwischen den Eckzähnen und dem ersten Prämolaren, der Diastema genannt wird (Keil, 1966).

Weiterhin unterscheiden sich die zahnartig unterschiedlich ausgebildeten Kiefer hinsichtlich ihres Kieferschlusses. Hierbei treten bei Allesfressern (Omnivoren) und Fleischfressern (Carnivoren) eine zentrale Okklusion auf, wobei der Zahnbogen des Oberkiefers genauso weit ist, wie der Zahnbogen des Unterkiefers. Die gegenüberliegenden Zähne treffen an ihren Kauflächen aufeinander. Man spricht von Isognathie.

Durch den isognathen Kieferschluss wird eine schneidend-brechende Kraft auf die Nahrung ausgeübt. Bei Pflanzenfresser (Herbivoren) hingegen ist der Zahnbogen des Unterkiefer enger als der des Oberkiefers. Um die Nahrung zerkleinern zu können, ist daher eine mahlende Bewegung nötig, die nicht nur eine vertikale sondern auch eine horizontale Komponente aufweist (Nickel et al., 1995).

Während man den haplodonten Zahntyp bereits früh in der Entwicklungsgeschichte nachweisen kann, treten bei rezenten Säugern unterschiedliche Backenzahnformen auf. Carnivoren verfügen über charakteristische tuberkulosektorale (lat. tuberculum = Höcker; lat. secare = schneiden) Backenzähne, während die Backenzähne der Allesfresser eine bunodonte (lat. bunos = Hügel) Form aufweisen. Durch die mehrhöckerige Krone ist eine gewisse mahlende Funktion gewährleistet. Beiden Backenzahnformen gemeinsam ist die niedrige Krone, die von einer gut entwickelten Zahnwurzel getragen wird (schmelzhöckerige Zähne). Schmelzhöckerige Zähne, die über ein abgeschlossenes Wachstum verfügen werden als brachydont bezeichnet (gr. brachys = kurz). Die Backenzähne der Wiederkäuer und Einhufer weisen eine becherförmige Einstülpung des Schmelzüberzuges auf. Beim Wiederkäuer sehen die Einstülpungen eher mondsichelartig (selenodont) aus, während sich die Schmelzhöcker bei den Einhufern zu leistenartigen (gr. lophos = Leiste), lophodonten, bzw. jochartigen (gr. zygos = Joch), zygodonten, Gebilden ausprägen (Jernvall et al., 2000). An der Außenseite des Backenzahnes, dem Schmelzmantel, kommt es bei Wiederkäuern und Einhufern an der Längsseite zur typischen Faltenbildung des Schmelzes. Man spricht von schmelzfaltigen Zähnen. Von außen lagert sich dem Schmelzmantel Zement an, und auch die Schmelzbecher sind mit Zement gefüllt. Im Innenraum des

Schmelzmantels befindet sich Dentin. Die Zahnkörper dieser Backenzähne sind sehr hoch und werden daher als hypselodont (gr. hypselos = hoch) bezeichnet. Generell gilt, dass eine hohe Anzahl der Leisten mit der Menge des Rohfaseranteils in der täglichen Futterration korreliert (Lucas et al., 1995; Fortelius, 1985; Janis und Fortelius, 1988). 89 % der herbivoren Tierarten, deren Tagesration nur aus Rohfaser besteht, haben zwei oder mehr Leisten in ihren Backenzähnen. Von den weniger spezialisierten Tieren, die außer Rohfaser auch noch Früchte, Nektar und Samen aufnehmen, verfügen nur noch 65 % der Tierarten über diese Leistenanzahl der Backenzähne. Bei den Allesfressern sind dies nur noch 45 % der Tierarten (Hunter und Jernvall, 1995; Jernvall, 1995). Interessanterweise treten Zähne, die über vier oder mehr Leisten verfügen, auf dem nordamerikanischen, dem europäischen und dem asiatischen Kontinent erst 20 bis 10 Millionen Jahre vor unserer Zeitrechnung auf, während Tiere, deren Zähne nur eine Leiste aufweisen, bereits 30 Millionen Jahre vor Christus in Europa und Asien aussterben. In Nordamerika sind Tiere, deren Zähne nur eine Leiste haben, 10 Millionen Jahre vor Christus ausgestorben (Jernvall et al., 2000). Erstmals treten einfache Backenzähne, die über eine Leiste verfügen, ca. 60 Millionen Jahre vor unserer Zeitrechnung in Nordamerika auf. Die starke Ausbreitung der Ungulaten (Huftiere) 50 bis 40 Millionen Jahre v.Chr. spricht für eine hervorragende Anpassung der Tiere an eine rohfaserreiche Ernährung (Jernvall et al., 1996).

Sechs verschiedene Merkmale lassen sich an einem Backenzahn ausmachen, mittels denen eine Klassifizierung vorgenommen werden kann. Das Aussehen einer Zahnkrone kann als rund (R), spitz (S) oder leistenartig (L) beschrieben werden. Auch die Höhe der Krone kann mit brachydont (B) oder hypselodont (H) angegeben werden. Die

Beschreibung der Höckeranzahl buccal und lingual sowie die Angabe von longitudinalen und transversen Leisten rundet die Klassifizierung ab. R2212H bedeutet demnach, dass es sich um einen runden Backenzahn handelt, der sowohl buccal als auch lingual zwei Höcker aufweist, eine longitudinale und eine transversale Leiste hat und eher hoch (hypselodont) ist (Jernvall, 1995). Ein M, anstatt einer Zahl, bedeutet, dass von dem Merkmal mehr als vier vorhanden sind.

Zahnartige Besonderheiten stellen beim Eber die wurzellosen, permanent wachsenden Hauer, beim Wiederkäuer die zahnlose Dentalplatte im Oberkiefer und bei den Einhufern die geschlechtlich unterschiedliche Ausprägung der Hackenzähne (Peyer, 1968; De Terra, 1911) dar.

#### IV. Bedeutung der Genexpression während der Zahnentwicklung der Maus

##### 1. Theorien

Zwei unterschiedliche Theorien haben für die Erklärung der unterschiedlichen Ausprägung von Zähnen bei den verschiedenen Spezies sowie in Individuen besondere Bedeutung erlangt, nämlich die Feld- und die Klontheorie. Während die Feldtheorie davon ausgeht, dass eine Anhäufung von Genen an bestimmten Orten eine unterschiedliche Morphogenese einleitet, die mit identischen Vorläufern ihren Ursprung nimmt (Butler, 1939), postuliert die Klontheorie, dass ausgehend von Stammzellen eine

unterschiedliche Ausprägungen von Zähnen ohne gemeinsamen Vorläufer stattfindet (Osborn, 1978).

Die Klontheorie wird durch die Erkenntnisse von Sharpe (1995) unterstützt. Auch er ist der Ansicht, dass die Zahngestalt und die Position der Zähne von unterschiedlichen Homöobox-Genen bestimmt werden.

## 2. Gene und Moleküle, die für die Zahnentwicklung von Bedeutung sind

### 2.1 Wachstumsfaktoren

„Wachstumsfaktoren sind Peptide oder Proteine, die an Rezeptoren der Zelloberfläche binden. Dadurch werden intrazelluläre Ereignisse ausgelöst, die schließlich zu DNA-Replikation und Zellteilung führen“ (Knippers, 1997). Durch die Wachstumsfaktoren bzw. -hormone erhält eine Zelle wichtige Impulse zur Differenzierung und Zellteilung. Darüber hinaus beeinflussen Wachstumsfaktoren auch ausdifferenzierte Zellen, regulieren Entzündungserscheinungen, steuern die Wundheilung und zeigen antivirale Wirkung (Burgess, 1995; Mustoe et al., 1987; Hotta und Baird, 1986; Keller et al., 1988; Thompson et al., 1989; Heine et al., 1987). Wachstumsfaktoren werden häufig früher als andere Gene während der Entwicklung exprimiert. Sie induzieren meist die Expression von Transkriptionsfaktoren (Thesleff et al., 1995; Weiss et al., 1994).

### 2.1.1 Insulinlike Growth Factor (IGF)

Das Wachstumshormon Somatotropin, das im Hypophysenvorderlappen synthetisiert wird, induziert die Expression des Insulinlike Growth Factors (IGF-1). IGF-1 besteht aus 70 Aminosäuren und ist zu 50 % identisch mit Proinsulin (Rinderknecht und Humbel, 1978; LeRoith et al., 1990). Das Peptid wird zum Großteil in der Leber aber auch in Niere, Lunge, Herz, Hoden (D'Ercole et al., 1984; Hansson et al., 1989) und in den Epiphysenfugen (Nilsson et al., 1986; Isaksson et al., 1988) produziert. Der molekulare Aufbau von IGF-1 ist bei Mensch, Rind und Schwein identisch. Das IGF-1 bei Maus und Ratte weicht in der Struktur 4 bzw. 3 Aminosäuren vom menschlichen IGF-1 ab (Daughaday und Rotwein, 1989). Während IGF-1 die Wirkung von Wachstumshormonen vermittelt, wird IGF-2 mit dem Wachstum von Tumorzellen in Verbindung gebracht (Burgess, 1995). Die IGF-2-Gene werden nur embryonal und vor allem in mesenchymalen Zellen (Stylianopoulou et al., 1988) exprimiert. Kurz nach der Geburt lassen sich IGF-2-Transkripte kaum noch feststellen (Daughaday und Rotwein, 1989). IGF-2 wird ebenfalls in verschiedenen Geweben gebildet. Es besteht aus 67 Aminosäuren und ist zu 50 % identisch mit IGF-1 und Proinsulin (Clemmons, 1989). Im Gegensatz zu IGF-1 ist die Expression von IGF-2 weniger von der Freisetzung von Somatotropin abhängig (Underwood et al., 1986). IGF-1, das in der Leber synthetisiert wird, wirkt auch endokrin. IGF-1 aus anderen Geweben weist eine parakrine und/oder autokrine Wirkung auf (LeRoith et al., 1990; Underwood et al., 1986; Trippel, 1988). IGF-1 wie IGF-2 sind im Serum an Trägerproteine gebunden (Blum et al., 1989). IGFs sind potente Stimulatoren der Zellproliferation (Blundell et al., 1983; Doi et al., 1989; McCarthy et al., 1989; Naaman et al., 1989; Rinderknecht und Humbel, 1978; Van Wyk,

1984). Obwohl zwei Arten von IGF-Rezeptoren identifiziert wurden, binden IGF-1 und IGF-2 mit unterschiedlicher Affinität daran. Mit einer 100- bis 200-fach niedrigeren Affinität als Insulin binden IGF-1 und -2 auch an die Insulinrezeptoren (Clemmons, 1989). Verglichen mit Somatotropin und Kälberserum, zeigte sich, dass IGF-1, das auf embryonale Mäusezähne im Glockenstadium appliziert wurde, einen deutlich stärkeren Wachstumseffekt auf die Zahnanlagen ausübt (Young et al., 1995). Joseph et al. (1996) untersuchten die Incisivi von Ratten nach Genprodukten von IGF-1. Während die Präodontoblasten und Präameloblasten noch keine Synthese von IGF-1 aufwiesen, wurde während der sekretorischen Phase dieser Zellen ein starkes Hybridisierungssignal für IGF-1 gefunden. In Ameloblasten färbten sich Zytoplasma und Zellkerne. Auch die Osteoblasten und Osteoklasten der knöchernen Zahnfächer waren stark positiv. Zahnpulpa und Zahnfollikel reagierten nicht auf die Hybridisierung. Die Lokalisierung von IGF-1-Rezeptoren an menschlichen Zahnanlagen ergab eine positive Reaktion im Knospenstadium entlang der Zahnlamelle. Im Kappenstadium war eine Färbung am äußeren und inneren Schmelzepithel, sowie in den Zellen des Stellate reticulums, zu beobachten. Auch das Zahnmesenchym sowie einige Zellen der Zahnpapille, die mit dem Schmelzorgan in Kontakt stehen, färbten sich intensiv. Im späten Kappenstadium und im frühen Glockenstadium waren keine IGF-1-Rezeptoren am inneren Schmelzepithel mehr nachweisbar (Bellone et al., 1990).

### 2.1.2 Epidermal Growth Factor (EGF)

Vor über 35 Jahren entdeckte Stanley Cohen (1965) den Epidermalen Wachstumsfaktor (EGF), der unter anderem für den Zahndurchbruch bei Mäusen verantwortlich ist (Burgess, 1995). Noch vor dem Auftreten der Zahnlamelle ist EGF im 9 bis 11 Tage alten Embryo im mandibularen Epithel nachweisbar (Kronmiller et al., 1991a; Shum et al., 1993). Eine Hemmung von EGF in diesem Stadium resultiert in absoluter Zahnlosigkeit (Kronmiller et al., 1991b). Beim EGF handelt es sich um ein kleines Protein, das aus 53 Aminosäuren besteht (Carpenter und Wahl, 1991). Es stimuliert neben dem Zahndurchbruch auch die Reifung der Lungen, die Bildung der Darmschleimhaut und hemmt die Bildung der Magensäure. Verschiedene Wachstumsfaktoren ähneln im molekularen Aufbau dem EGF. Darunter auch der Transforming Growth Factor  $\alpha$  (Heikinheimo et al., 1993b). TGF $\alpha$  ist ein autokrin wirkender Wachstumsfaktor, der durch einige Tumoviren induziert werden kann. EGF und TGF $\alpha$  binden an den gleichen Rezeptor, EGFr (Ojeda et al., 1990; Coffey et al., 1988; Davideau et al., 1995). Während der Zahnentwicklung steigert EGF die Zellproliferation in Epithel und Mesenchym (Brownell und Rovero, 1980). Die genaue Wirkungsweise von EGF hierbei ist jedoch noch nicht bekannt (Partanen und Thesleff, 1985; Shum et al., 1993; Aubin et al., 1992; Hata et al., 1990; Topham et al., 1987; Kronmiller et al., 1991b). Deshalb war es von besonderem Interesse, das Expressionsmuster des EGF-Rezeptors genauer zu studieren (Heikinheimo et al., 1993b). Eine schwache Expression von EGFr wird in Fibroblasten des Follikularsackes und in Zementoblasten nachgewiesen, während eine deutliche Expression in der Hertwig Wurzelscheide und in Knochenzellen zu verzeichnen ist (Davideau et al., 1995; Hata et al., 1990; Centrella et

al., 1987). Eine starke Expression von EGFr tritt im Zahnepithel während der Bildung der Zahnkrone auf (Partanen und Thesleff, 1987; Hu et al., 1992; Nicolas et al., 1990; Cam et al., 1990). Die mRNA von EGFr ist sowohl in differenzierten Osteoblasten als auch in Osteozyten nachweisbar (Davideau et al., 1995). Vermutlich ist EGF auch an der Ausbildung der Zahnwurzel beteiligt. In einer Reihe mitotischer epithelialer Zellen, die an der Entstehung der Zahnwurzel in Schneide- und Backenzähnen mitwirken, sind EGF-Rezeptoren nachweisbar (Ten Cate et al., 1971; Nso et al., 1992). EGF und TGF $\alpha$  scheinen weiter die Fähigkeit zu besitzen, epitheliale Zellen zu mesenchymalen Zellen zu transformieren (Potts und Runyon, 1989; Dixon et al., 1991).

### 2.1.3 Transforming Growth Factor $\beta$ (TGF $\beta$ )

TGF $\beta$ 1, sowie die Isoformen TGF $\beta$ 2 und TGF $\beta$ 3, zeigen ein überlappendes Expressionsmuster während der Odontogenese (Heine et al., 1987; D'Souza et al., 1990; Cam et al., 1990; Lehnert und Akhurst, 1988; Pelton et al. 1990; Millan et al., 1991; Heikinheimo et al., 1993a; Chai et al., 1994; D'Souza und Litz, 1995). Die Gene dieser Wachstumsfaktoren gehören zu den hoch konservierten Genen (Derynck et al., 1986; Sharples et al., 1987; Sporn und Roberts, 1990b). Ihre drei Isoformen zeigen eine große Homologie in ihrer Sequenzabfolge. Die biologische Rolle der Isoformen TGF $\beta$ 2 und TGF $\beta$ 3 ist jedoch noch nicht bekannt (D'Souza und Litz; 1995). TGF $\beta$ 1 beeinflusst verschiedene zelluläre Prozesse wie das Zellwachstum, die Zelldifferenzierung und die Bildung der extrazellulären Matrix (Ignotz und Massague, 1986; Madri et al., 1988; Sporn und Roberts, 1990a und 1990b; Massagué, 1990). Auch inhibitorische Effekte

des Transforming Growth Factor in verschiedenen Zelltypen sind beschrieben (Russell et al., 1988; Silberstein und Daniel, 1987; Bascom et al., 1989). Das TGF- $\beta$ -Gen kodiert für interzelluläre Signalmoleküle, die an Membranrezeptoren mit Serin/Threoninkinase-Domänen binden (Kingsley, 1994; Massagué, 1996). Über cDNA-Bibliotheken wurden verwandte Moleküle des TGF $\beta$  erkannt. Unter ihnen befindet sich auch das Bone Morphogenetic Protein (BMP) (Hogan, 1996a und 1996b; Wozney, 1998), sowie Activin. TGF $\beta$ 1-Knockout-Mäuse erscheinen zum Zeitpunkt der Geburt gesund. In der zweiten Lebenswoche jedoch entwickeln die Mäuse multifokale Entzündungserscheinungen in verschiedenen Organen, die in der dritten Lebenswoche zum Tod führen. Durch das Fehlen der entzündungshemmenden und immunsuppressiven Effekte des TGF $\beta$ 1, kommt es zu einer überschießenden Reaktion des Immunsystems, die vermutlich zum Tod führt (Kulkarni et al., 1993; Geiser et al., 1993).

#### 2.1.4 Fibroblast Growth Factors (*Fgfs*)

*Fgfs* umfassen eine Familie von nahezu 22 interzellulären Signalmolekülen (Yamaguchi und Rossant, 1995; Ohbayashi et al., 1998). Sie binden an eine Familie von vier Rezeptoren, die eine Tyrosinkinase-Domäne enthalten (Yamaguchi und Rossant, 1995). In den Zahnanlagen und/oder dem ersten Kiemenbogen werden fünf *Fgfs* exprimiert, sowie drei der vier bekannten *Fgf*-Rezeptoren (Kettunen und Thesleff, 1998; Kettunen et al., 1998b). *Fgf4* stellt ein mitogenes Signal im Schmelzknoten dar (Vaahtokari et al., 1996a; Jernvall et al., 1998). Interessanterweise wird im primären Schmelzknoten jedoch kein Rezeptor für *Fgf4* exprimiert, was die Ursache für den Proliferationsstopp

und die Voraussetzung zur Apoptose darstellen könnte (Kettunen und Thesleff, 1998; Kettunen et al., 1998b).

Mitte der 80er Jahre wurden zwei Formen des *Fgf* entdeckt. Sowohl die a-Form (acidic) als auch die b-Form (basic) stellen ein Protein mit durchschnittlich 140 Aminosäuren dar. Beide Formen induzieren die Zellproliferation und sind an der Heilung von Hautwunden und Nerven beteiligt (Rifkin und Moscatelli, 1989; Burgess und Maciag, 1989). Obwohl a-Fgf (Fgf1) und b-Fgf (Fgf2) an den selben Rezeptor binden, zeichnet sich b-Fgf durch eine höhere Affinität zum Rezeptor aus (Moscatelli 1987; Rodan et al., 1987; Globus et al., 1988; Yayon et al., 1991). In vitro lassen sich vier Isoformen von b-Fgf unterscheiden (Baird et al., 1986). Syndecan, das ein Heparin-Sulfat-Proteoglykan in der Zellmembran darstellt, dient als Rezeptor für b-Fgf (Kiefer et al., 1990). Auch *Wnt* ist ein Mitglied der *Fgf*-Familie (Bradshaw et al., 1993; Miyazono et al., 1993a).

#### 2.1.5 Hepatocyte Growth Factor (*Hgf*)

*Hgf* stimuliert nicht nur die Proliferation von Hepatozyten, sondern steigert auch die Invasivität von endothelialen und epithelialen Zellen, wie dies in den Anfangsstadien der Zahnentwicklung der Fall ist. *Hgf* wird in vielen epithelialen Geweben exprimiert (Sporn und Roberts, 1991; Burgess, 1995).

## 2.2 Transkriptionsfaktoren

Transkriptionsfaktoren sind Proteine, die an eine bestimmte Sequenz der DNA binden und hierdurch die Expression eines Gens induzieren (Induktor) oder hemmen (Repressor). Die Bereiche auf der DNA, an dem ein Induktor binden kann, wird Promotor genannt, an dem ein Repressor binden kann, Operator (Koolman und Röhms, 1988). Da alle Transkriptionsfaktoren einen hohen Anteil an konservierten DNA-Sequenzen enthalten, ist eine Einteilung in verschiedene Sequenzgruppen wie Homöobox (z.B. *Dlx1*, *Dlx2*, *Msx1*, *Msx2*), Paired Box (z.B. *Pax*) und Zinkfinger möglich (Thesleff et al., 1995).

Transkriptionsfaktoren werden auch trans-aktivierende Faktoren genannt, weil sie eine Genexpression induzieren, die weit weg vom Ort ihres eigenen Gens liegt (Knippers, 1997).

## 2.3 Homöobox-Gene

Viele Gene, die bei Insekten wie Wirbeltieren die Entwicklung steuern, enthalten eine stets wiederkehrende Sequenz, die Homöobox. Hierbei zeichnen sich Homöobox-Gene durch große Homologie unter den verschiedenen Spezies aus, was auf einen gemeinsamen molekularen Ursprung hinweist. Homöobox-Gene beeinflussen auf verschiedene Weise die Morphogenese. Sie steuern die Zellproliferation (Niswander und Martin, 1993), regen zur Zelldifferenzierung an (Parker et al., 1995; Lough et al.,

1996; Ericson et al., 1996), leiten die Apoptose ein (Graham et al., 1994) und bereiten die Zelladhäsion vor (Huber et al., 1996).

Homöotische Gene verfügen über organisatorische wie funktionelle Eigenschaften, die sie von anderen Homöobox-Genen unterscheiden. Hierbei sind die homöotischen Gene (HOMC) einer Fliege linear in einer posterior-anterioren Expressionsdomäne angeordnet (Kolinearität) (Sharpe, 2000). In Säugetieren, die über vier große miteinander verwandte Gruppen von Homöobox-Genen verfügen, werden diese Gruppen *Hox*-Gene genannt (Ruddle et al., 1994; Kappen et al., 1993). Die Entdeckung der Homöobox, als eine kleine konservierte, 180 Basenpaare lange Region auf der DNA von *Drosophila*, ist ein Meilenstein in der Erforschung der genetischen Kontrolle der Morphogenese (Duboule, 1994). Durch molekulare Impulse bringt dieser kurze DNA-Abschnitt embryonale Zellen dazu, sich zu differenzieren. In einem Säugetier entstehen auf diese Weise ungefähr 200 unterschiedliche Zelltypen (Sharpe, 2000). Durch eine homöotische Mutation kann in einer *Drosophila*-Fliege eine ektopische Anlage eines Beines anstelle einer Antenne (*Antennapedia*-Mutation) erzeugt werden (Duboule, 1994). Strukturanalysen der Homöodomäne eines Homöobox-Genes geben einen Hinweis darauf, wie Homöobox-Gene funktionieren. Die 60 Aminosäuren der Homöodomäne bilden eine Helix-turn-helix-Struktur, die an DNA bindet (Laughon und Scott, 1984). Durch die Bindung des Homöoproteins an Abschnitte der DNA wird eine weitere Transkription von Genen in Gang gesetzt, die zur Ausbildung eines Körpersegments wichtig sind (Stryer, 1994; Koolman und Röhm; 1998). Durch die Expression eines Homöobox-Genes entstehen Signal- und Strukturmoleküle. Bisher wurden in Mäusen und im Menschen 83 Homöobox-Gene entdeckt, die mit den

entsprechenden Genen in der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* homolog sind (Sharpe, 1995). Die Homöobox-Gene besitzen somit eine übergeordnete Kontrollfunktion über die Expression von Genen (Gehring et al., 1990; Ruddle et al., 1994; Sharpe, 2000). Die *Hox*-Gene selbst werden nicht im ersten Kiemenbogen, aus dem sich Kiefer und Zähne entwickeln, exprimiert (Shashikant et al., 1991; McGinnis und Krumlauf, 1992; Krumlauf und Gould, 1992; Weiss et al., 1995), sondern zu Beginn der Embryogenese in ektodermalen und mesodermalen Zellen (Gaunt et al., 1986), dann im sich entwickelnden Zentralen Nervensystem im Hinterhirn, in den Somiten und in den Gliedmaßenknospen (Hunt und Krumlauf, 1991). Darüber hinaus spielen *Hox*-Gene eine Rolle in der Entwicklung des axialen Skeletts und zwar im Hinblick auf die anterior-posteriore Anordnung der Knochen (LeMouelllic et al., 1992; Ramirez-Solis et al., 1993; Burke et al., 1995). Homöobox-Gene, die näher am 3'-Ende einer Sequenzgruppe lokalisiert sind, werden vermehrt im anterioren Bereich eines Embryos exprimiert (Graham et al., 1989; Duboule und Dolle, 1989). Für die Entwicklung von Zähnen geben 3' *Hox*-Gene in den cranialen Zellen der Neuralleiste, die sich vom rostralen Hinterhirn (Rhombomere 1 und 2) und caudalen Mittelhirn ableiten, den Anstoß. Diese Zellen der Neuralleiste bilden im ersten Kiemenbogen die ektomesenchymale Grundlage zur Ausbildung der Zähne (Sharpe, 2000). Der Hauptanteil des orofacialen Mesenchyms stammt von Zellen der Neuralleiste, die im anterioren Bereich des Rhombencephalon vorkommen. Sie bilden zusammen mit Zellen aus dem Mittelhirn das Ektomesenchym des ersten Kiemenbogens, aus dem sich Unter- und Oberkiefer ableiten (Sharpe, 1995). Wenn Zellen der Neuralleiste, die normalerweise das Ektomesenchym des ersten Kiemenbogens bilden, in die Region des zweiten Kiemenbogens verpflanzt werden, entwickeln sich dort Strukturen des

ersten Kiemenbogens (Noden, 1983 und 1988). Es liegt daher nahe anzunehmen, dass das segmentierte Expressionsmuster der *Hox*-Gene im Rhombencephalon zusammen mit der anschließenden Migration der Zellen der Neuralleiste einen Positionskode „branchial Hox code“ bilden (Hunt et al., 1991; Hunt und Krumlauf, 1991; Sharpe, 1995; Sharpe, 2000). Der „branchial Hox code“ bestimmt die Genexpression der emigrierenden Zellen der Neuralleiste. *Hox*-Gene werden allerdings nicht im ersten Kiemenbogen exprimiert. Dort ist der „odontogenetic homeobox code“ für das Expressionsmuster der Gene im ersten Kiemenbogen verantwortlich (Sharpe, 1995; Thomas et al., 1998; Thomas und Sharpe, 1998; Sharpe, 2000). Im embryonalen Kiefer werden Homöobox-Gene der Genfamilien *Dlx*, *Msx*, *Prx*, *Six*, *Prox*, *Barx*, *Tlx* und *gooseoid* exprimiert (MacKenzie et al., 1991a, 1991b und 1992; Gaunt et al., 1993; Raju et al., 1993; Oliver et al., 1993; Robinson und Mahon, 1994; Simeone et al., 1994; Leussink et al., 1995; Tissier-Seta et al., 1995; Qiu et al., 1997; Weiss et al., 1998).

Die Gene *Msx* und *Dlx* lassen sich in eine weitere Klasse von Homöobox-Genen einteilen. Ihr Ursprung liegt in einem Vorläufer der *Hox*-Gene, die sogenannten DHox-Gene. D steht hierbei für „divergent“ (Weiss et al., 1994). Hox- und DHox-Gene spielen bei der Anordnung der Zähne eine ähnliche Rolle (Weiss et al., 1995), wobei DHox-Gene, wie z.B. *Msx1*, nachweislich im Mesenchym des ersten Kiemenbogens exprimiert werden (MacKenzie et al., 1991a und 1991b; MacKenzie et al., 1992; Jowett et al., 1993).

Wie schon erwähnt werden einige Homöobox-Gene im ersten Kiemenbogen exprimiert. Darunter ist z.B. auch die Genfamilie *Msx* zu finden. Säugetiere haben drei *Msx*-Gene.

Während der embryonalen Entwicklung von Mäusen treten *Msx1* und *Msx2* erstmalig in den Zellen des Primitivstreifens auf (Hill et al., 1989; Robert et al., 1989). Später sind diese Gene in Zellen der Neuralleiste sowie in Zellen, die an einer epithelial-mesenchymalen Interaktion beteiligt sind, nachweisbar (MacKenzie et al., 1991a und 1991b; MacKenzie et al., 1992). Eine Expression von *Msx3* findet nur im Zentralen Nervensystem statt (Shimeld et al., 1996; Wang et al., 1996). Noch bevor Zahnanlagen im Embryo sichtbar werden, werden *Msx1* und *Msx2* im vorderen Mesenchym des ersten Kiemenbogens exprimiert (MacKenzie et al., 1992). Hierbei gibt es Bereiche, in denen *Msx1* und *Msx2*, nur *Msx1* oder keines von beiden Genen, aktiv werden. *Msx2* wird in den distalen Spitzen des Mesenchyms im mandibularen und maxillaren Bogen exprimiert (Sharpe, 2000). *Msx1* wird in einem ähnlichen ektomesenchymalen Bereich wie *Msx2* exprimiert. Dieser befindet sich jedoch etwas weiter proximal als *Msx2* (MacKenzie et al., 1992). Der Bereich mit der *Msx1(+)/Msx2(-)*-Konstellation im Mesenchym korreliert im darüberliegenden Epithel mit dem Auftreten von Epithelverdichtungen, die zu Zahnanlagen werden. Eine Expression von *Msx2* im Epithel korreliert ebenfalls mit dem Erscheinen von Epithelverdichtungen, während *Msx1* im Epithel nicht exprimiert wird (Sharpe, 2000). Ein Knockout des *Msx1*-Genes bewirkt einen Stillstand in der Zahnentwicklung aller Zähne im frühen Knospenstadium (Satokata und Maas, 1994), während ein *Msx1/Msx2*-Doppel-Knockout das Zahnwachstum noch vor dem Knospenstadium hemmt (Maas et al., 1996).

Zu den Homöobox-Genen gehören weiter: *Dlx*, *Barx1*, *Bmp*, *Egf*, *Fgf*, *gooseoid*, *Hgf*, *Notch*, *Otx*, *Shh*, *Tabby* und *Wnt*.

Homöobox-Gene wie *Barx1*, *Dlx1* und *Dlx2* beeinflussen das Zahnmesenchym dahingehend, mehrhöckerige molare Zähne auszubilden (Sharpe, 1995; Thomas und Sharpe, 1998; Tucker und Sharpe, 1999), während Gene wie *Msx1* und Mitglieder der *Alx*-Familie in der Entwicklung von Schneidezähnen eine Rolle spielen. Hierbei ist nicht nur die Anwesenheit bestimmter Gene von Bedeutung, sondern auch das Fehlen von Genen. So ist für die Morphogenese von molaren Zähnen die Expression von *Barx1*, *Dlx1* und *Dlx2* genauso nötig, wie die gleichzeitige Inaktivität von *Msx1* und *Alx*-Genen (Tissier-Seta et al., 1995; McCollum und Sharpe, 2001a). Bei *Dlx1/Dlx2*-Doppelmutationen entwickeln sich die oberen und unteren Schneidezähne sowie die unteren Backenzähne normal. Die oberen Backenzähne werden jedoch nicht ausgebildet (Qiu et al., 1997; Thomas et al., 1997). Zusammenfassend lässt sich behaupten, dass Gene, die die Ausbildung von molaren Zähnen bewirken, auch an der Bildung des proximalen Kiefers beteiligt sind. Gene, die für die Entstehung von Schneidezähnen verantwortlich sind, bewirken die Ausprägung des distalen Kiefers (McCollum und Sharpe, 2001b).

Die Wirkung des Gens *Gooseoid* (*Gsc*) besteht darin, die Ausbildung des Unterkieferknochens zu fördern. Es wird daher nur im Unterkiefer und nicht im Oberkiefer exprimiert (Gaunt et al., 1993; Sharpe, 1995). *Gsc*-Mutationen weisen craniofaciale Defekte auf, ohne dass die Zahnentwicklung dabei tangiert wird (Rivera-Perez et al., 1995; Yamada et al., 1995)

Homöobox-Gene wie *Msx2*, *Shh*, *Bmp2*, *Bmp4*, *Bmp7* und *Fgf4* stellen eine molekulare Brücke zwischen dem Auftakt der Zahnentwicklung und der Zahngestaltung dar, da sie im primären als auch in den sekundären Schmelzknoten exprimiert werden (Sharpe, 2000).

### 3. Gene, die eine Rolle bei den epithelial-mesenchymalen Interaktionen spielen

Die ersten Gentranskripte der epithelial-mesenchymalen Interaktion treten um den 12. Embryonaltag auf. Eine Expression von *Dlx1* tritt bereits am 11,5. Embryonaltag im Mesenchym des ersten Kiemenbogens in Erscheinung und wird am 13,5. Embryonaltag und später immer stärker (Proteus et al., 1991; Dolle et al., 1992). Im Zahnepithel des frühen Knospenstadiums zeigen *Bmp2*, *Lef1* und *Shh* eine starke Expression, während die von *Bmp4*, *Msx2* und *p21* schwächer ausfällt (Keränen et al., 1998). Auffallend ist, dass sich hierbei *Bmp2*, *Bmp4*, *Lef1*, *Shh* und *p21* vor allem lingual an der Zahnknospe konzentrieren, an der sich auch eine leichte Schwellung ausmachen lässt. Man geht davon aus, dass die exprimierende Zellpopulation ein frühes Signalzentrum gegenüber den Signalzentren im Schmelzknoten darstellt. In der Mitte des Knospenstadiums (13. Embryonaltag) ist die Expression aller oben genannten Gene herunterreguliert. Im Epithel lassen sich Transkripte von *Dlx2* nachweisen, die schon am 9. Embryonaltag im Mesenchym des ersten Kiemenbogens angezeigt werden (Robinson et al., 1991). Die *Dlx2*-Expression lässt sich sowohl in Schneide- wie in Backenzähnen bis über die Geburt hinaus im Epithel nachweisen (Robinson et al., 1991; Price et al., 1991). Das

frühe epitheliale Signalzentrum grenzt sich räumlich vom primären Schmelzknoten ab, der um den 14. Embryonaltag in Erscheinung tritt.

*Msx1* kann nur im Mesenchym nachgewiesen werden, während *Lef1*, *Bmp4* und *Msx2* in Epithel und Mesenchym exprimiert werden, wobei *Bmp4* und *Msx2* vor allem im buccalen Mesenchym des 12. und 13. Embryonaltags auftreten. Die Expression von *Msx2* zeigt im Epithel ebenfalls eine buccale Lokalisation.

### 3.1 Bone morphogenetic protein (*Bmp*)

Bei der Beobachtung der Interaktionen zwischen Zahnepithel und Zahnmesenchym treten die *Bmp*-Gene in den Vordergrund (Vainio et al., 1993; Aberg et al., 1997). *Bmp2* und *Bmp4* werden in vielen Organen mit einer Reihe von Gewebeinteraktionen in Verbindung gebracht (Hogan, 1996a und 1996b). Im frühen Zahnepithel werden *Bmp2*, *Bmp4* und *Bmp7* exprimiert. Zu dem Zeitpunkt, an dem das Epithel zunehmend seinen Einfluss auf das darunterliegende Mesenchym verliert und die induktiven Signale vermehrt aus dem Mesenchym stammen, wechselt auch das Expressionsmuster von *Bmp4* vom Epithel ins Mesenchym (Vainio et al., 1993). Epitheliales *Bmp4* sowie *Fgf8* sind in der Lage, die Expression der Homöobox-Gene *Msx1* und *Dlx2* im Mesenchym zu induzieren bzw. zu erhalten (Bei und Maas, 1998; Vainio et al., 1993; Aberg et al., 1997). Im Epithel stimulieren *Bmp2* und *Bmp4* die Expression der Transkriptionsfaktoren *Msx1* und *Msx2* (Vainio et al., 1993). Im Gegensatz zum Epithel lösen *Bmp*-

Gene im Mesenchym keine Zelldifferenzierung oder Zellproliferation aus (Thesleff und Sharpe, 1997; Zeichner-David et al., 1995).

Während epitheliales *Bmp4* im Bereich der späteren Schneidezähne die Expression von *Msx1* und *Alx3* im Mesenchym auslöst, hemmt es gleichzeitig die Expression des von *Fgf8* induzierten Gens *Barx1*. Dadurch wird *Barx1* nur im Bereich des molaren Mesenchyms exprimiert (Ten Berge et al., 1998; Tucker et al., 1999). Sind Transkripte von *Pax9* und *Msx1* vorhanden, induziert *Bmp4* im Epithel die eigene Genexpression im darunterliegenden Mesenchym (Chen et al., 1996). Mesenchymales *Bmp4* bewirkt zusammen mit *Fgf8* die Expression von *Activin βA*, welches unter anderem bei der Ausbildung der epithelialen Zahnknospen beteiligt ist (Jernvall und Thesleff, 2000).

*Bmp*-Gene werden auch im Schmelzknoten und bei der Differenzierung von Odontoblasten und Ameloblasten exprimiert (Begue-Kirn et al., 1992; Vainio et al., 1993; Aberg et al., 1997). Die Expression von *Bmp5* ist jedoch auf die Ameloblasten beschränkt (Aberg et al., 1997).

Eine Ausschaltung der *Bmp*-Gene im distalen Ektomesenchym von 10 Tage alten Mäuseembryonen bewirkt, dass statt Schneidezähnen molare Zähne ausgebildet werden (Tucker et al., 1998b). Die Ursache hierfür ist vermutlich darin begründet, dass *Bmp*-Gene die Expression von *Msx1* nicht mehr induzieren und die Expression von *Barx1* nicht mehr hemmen können (Ferguson et al., 2000).

### 3.2 Fibroblast growth factor (*Fgf*)

Die Familie der Fibroblast growth factor hat in niedrigen (Nematoden) wie in hoch entwickelten Lebewesen (Mensch) über 20 Mitglieder. Sie binden an Rezeptoren der Zelloberfläche, die als Transmembranproteine intrazellulär eine Tyrosinkinase enthalten. In Vertebraten kommen vier verschiedene Fgf-Rezeptoren vor. Durch alternatives Splicing werden Rezeptoren mit zwei unterschiedlichen IG-3-Schleifen generiert. Fgfr1, -2 und -3 existieren je in zwei Isoformen, die eine unterschiedliche Ligandenbindung aufweisen. Die extrazellulären Domänen der Fgf-Rezeptoren interagieren mit Heparinsulfatproteoglykanen, die wiederum die Ligandenbindung regulieren. Die unterschiedlichen zellulären Funktionen werden durch die verschiedenen Kombinationen der Signalpfade mediiert und hängen vom Zelltyp ab. Während der Embryogenese werden *Fgf* für die Morphogenese aller Organe und Gewebe benötigt. Die Rolle der *Fgf* während der Organogenese von Haaren, Drüsen und Zähnen wurde intensiv untersucht (Chuong, 1998; Kettunen und Thesleff, 1998; Kettunen et al., 2000; Mailleux et al., 2001). Bisher konnten die Expressionsmuster von *Fgf3*, -4, -7, -8, -9, -10 und -20 beschrieben werden. Interessanterweise lassen sich hierbei nur zwei Kategorien unterscheiden, nämlich die *Fgf*, die hauptsächlich im Mesenchym exprimiert werden, und die *Fgf* die ausschließlich im Epithel exprimiert werden. *Fgf3*, -7 und -10 werden in überlappenden Bereichen im dentalen Mesenchym exprimiert. Ausgenommen davon ist eine vorübergehend schwache Expression von *Fgf10* im frühen Zahnepithel und *Fgf3* im Schmelzknoten. *Fgf3* und *Fgf10* werden vom späten Knospenstadium bis ins späte Glockenstadium stark im dentalen Mesenchym exprimiert (Kettunen et al., 2000). Deshalb wird ihre Expression mit der Morphogenese der Zahnkrone assoziiert.

Zusätzlich ist ihre Expression um die cervicale Schleife am Wachstumsende der permanent wachsenden Schneidezähne der Mäuse intensiv (Harada et al., 1999). *Fgf7* wird an diesem Ort schwach exprimiert (Kettunen et al., 2000). Die Expression von *Fgf4*, *-8*, *-9* und *-20* ist auf das Epithel beschränkt, wobei sie überlappende Expressionsmuster in den Signalzentren des Epithels aufweisen. *Fgf8* wird noch vor der Zahnentwicklung im Mundhöhlenepithel exprimiert. Gleichzeitig findet auch eine schwächere Expression von *Fgf9* statt (Kettunen und Thesleff, 1998). Das Auftreten des frühen Signalzentrums im Knospenstadium wird von der Expression von *Fgf20* begleitet, welches danach wiederholt im späten epithelilen Signalzentrum exprimiert wird, und zwar an der Spitze der Knospe am sich formenden Schmelzknoten, im voll entwickelten Schmelzknoten während des Kappenstadiums und in den sekundären Schmelzknoten während des Glockenstadiums (Thesleff und Mikkola, 2002). *Fgf4* taucht im frühen Signalzentrum nicht auf, wird aber später zusammen mit *Fgf20* im primären und in den sekundären Schmelzknoten sowie im inneren Schmelzepithel während des Glockenstadiums exprimiert (Kettunen und Thesleff, 1998). In verschiedenen Mäuselinien wurde die Fgf-Signalkaskade ausgeschaltet. Mäuse ohne epitheliales *Fgf4* und *Fgf8* sterben während der frühen embryonalen Entwicklung (Feldman et al., 1995; Meyers et al., 1998), während die *Fgf9*-Null-Mutanten keine Zähne entwickeln (Colvin et al., 2001). Experimente verschiedener Labore zeigen, dass epitheliales *Fgf8* eine Reihe von Genen, die eine Bedeutung für die Zahnentwicklung haben, zur Expression anregt. Darunter sind auch *Msx1*, *Pax9*, *Dlx2* und *ActivinβA* (Satokata und Maas, 1994; Matzuk et al., 1995b; Peters et al., 1998). Die Untersuchung des *Fgf8*-Genes im ersten Kiemenbogen gibt Aufschluss über dessen Funktion in der Zahnentwicklung. Die operative Entfernung der *Fgf8*-positiven Zellen aus dem Epithel des ersten

Branchialbogens führt zu schweren Störungen der mandibularen und maxillaren Entwicklung (Trumpp et al., 1999). Es werden nur rudimentäre Schneidezähne ausgebildet, wohingegen sich keine molaren Zähne entwickeln. Es kann nachgewiesen werden, dass *Fgf8* in den molaren Bereichen des Kiemenbogens für die Ausprägung von *Barx1*, *Lhx6* und *Pax9* verantwortlich ist. Im Bereich der Schneidezähne ist dies nicht so. Man vermutet hier, dass *Fgf9* den Mangel an *Fgf8* ausgleichen kann (Trumpp et al., 1999). Epitheliale *Fgf* scheinen auch nach dem frühen embryonalen Stadium zentrale Regulatoren für die Zahnmorphogenese zu sein. Verschiedene Assays zeigen, dass *Fgf4* und *Fgf9* das Wachstum stimulieren, indem sie die Zellproliferation anregen und die Apoptose im Epithel und Mesenchym verhindern (Jernvall et al., 1994; Vaahtokari et al., 1996b; Jernvall et al., 1998; Kettunen und Thesleff, 1998).

Im Mesenchym induzieren *Fgf8* und *Fgf4* die Expression von *Fgf3* aber nicht die von *Fgf10* (Bei und Maas, 1998; Kettunen et al., 2000). Mesenchymales *Fgf10* stimuliert die Zellproliferation im Epithel aber nicht im Mesenchym. *Fgfr2b* ist der Rezeptor von *Fgf10* und wird ausschließlich im Zahnepithel exprimiert (Kettunen et al., 1998). *Fgf10* scheint ein signalgebender Mediator für Interaktionen zwischen Mesenchym und Epithel zu sein. Eventuell stimuliert mesenchymales *Fgf10* zusammen mit *Fgf3* die epitheliale Morphogenese vom späten Knospen- bis ins Glockenstadium.

In transgenen Mäusen, in denen der *Fgfr2b*-Rezeptor ausgeknockt wurde, entwickelten sich die meisten Organe, die eine epithelial-mesenchymale Interaktion durchlaufen, nicht (De Moerlooze et al., 2000). Diese Tiere haben keine Lungen und sterben deshalb nach der Geburt. Die Zahnentwicklung stagniert im Knospenstadium (Harada et al.,

2002). Der Fgfr2b-Rezeptor wird nur im Epithel exprimiert. Er bindet alle mesenchymalen Fgf der Zähne (Fgf3, Fgf7 und Fgf10), jedoch keine epithelialen Fgf. Man geht davon aus, dass Fgf10 die Proliferation der epithelialen Stammzellen im „Stellate reticulum“ der permanent wachsenden Nagerschneidezähne stimuliert (Harada et al., 1999).

### 3.3 Sonic hedgehog (*Shh*)

Hedgehog wurde in der Fruchtfliege als ein signalgebendes Gen für die Ausbildung von Flügeln, Augen und Körpersegmente entdeckt. Während Fliegen nur ein Hedgehog-Gen haben, kommen in Säugetieren drei vor - sonic, desert und indian hedgehog. Die Rolle der beiden letzten Gene ist auf die Spermatogenese und die Skelettentwicklung reduziert. Shh hingegen reguliert eine Vielzahl von Entwicklungsschritten einschließlich der links-rechts Asymmetrie, die Ausbildung des Neuralrohres und der Gliedmaßenknospen (McMahon, 2000). Die Hedgehog-Gene sezernieren Signalmoleküle, die autokatalytischen Prozessen unterworfen sind und dabei am N-terminalen Ende einen 19-kDa-Liganden entlassen. Der Rezeptor für Hedgehog-Gene auf der Zelloberfläche heißt „patched (Ptc)“. In Säugetieren existieren zwei *Ptc*-Gene, wobei *Ptc1* weiter verteilt vorkommt als *Ptc2*. In den letzten Jahren wurden verschiedene Moleküle entschlüsselt, die die Hedgehog-Signalgebung beeinflussen. „Dispatched“ wird an der Zelloberfläche der Hedgehog-produzierenden Zellen exprimiert. Dort beeinflusst es die Signalgebung von „Hedgehog“. Auch „Smoothened“ ist ein Membranprotein, das die Signalgebung an der Oberfläche der Zielzellen mediiert

(McMahon. 2000). Zur Aktivierung von Zielgenen benutzt *Shh* Transkriptionsfaktoren, wie z.B. Ci/Gli, die einen Zinkfinger-Bereich im Protein aufweisen (Ruiz i Altaba, 1997). Von den Hedgehog-Genen wird nur *Shh* in Zähnen exprimiert. Es beschränkt sich hierbei auf das ektodermale Gewebe. Wiederholt lässt es sich in den verschiedenen Entwicklungsstadien der Zähne nachweisen. Die ersten Transkripte kommen in der Zahnlamelle, noch vor der Epithelverdickung, im 11 Tage alten Embryo vor. Während der Knospenbildung beschränkt sich sein Vorkommen auf den Bereich der Zahnformation. Eine starke Expression findet man im frühen epithelialen Signalzentrum (Keränen et al., 1998; Sarkar et al., 2000). Während im Knospenstadium eher eine schwache Expression von *Shh* vorherrscht, wird es danach im Schmelzknoten um so intensiver vorgefunden. Vom Schmelzknoten dehnt sich die Expression über das innere Schmelzepithel aus und ist in den sekundären Schmelzknoten besonders hoch (Keränen et al., 1998; Jernvall und Thesleff, 2000). Aufgrund des Verteilungsmusters von *Shh* wird angenommen, dass *Shh* die Ausprägung der Schmelzhöcker der Zähne beeinflusst (Vaahtokari et al., 1996a). Die Zellen des Stratum intermedium, das zwischen dem inneren Schmelzepithel und dem „Stellate reticulum“ liegt, exprimieren *Shh* während des Glockenstadiums. Es wird angenommen, dass *Shh* vom Stratum intermedium aus die Sekretion der Schmelzmatrix in den Ameloblasten anregt. Aber obwohl seine Expression in den Zellen des Stratum intermedium anhält, wird sie in den Ameloblasten herunterreguliert (Gritli-Linde et al., 2001). Auch im Zahnmesenchym kann reichlich Shh-Protein mittels Immunhistochemie nachgewiesen werden. Dies beweist, dass Shh über weite Strecken diffundieren kann, und dass epitheliales *Shh* das Epithel wie das Mesenchym beeinflusst. Die Expression von Shh im Mesenchym geht

mit der Expression von *Ptc1* einher. *Ptc2* hingegen wird nur im Epithel exprimiert (Dassule und McMahon, 1998).

Bei funktionellen Studien wurde herausgefunden, dass eine Shh-Applikation auf dem Mesenchym eine Expression von *Ptc1* bewirkt (Dassule und McMahon, 1998; Laurikkala et al., 2001). Eine Applikation im Kiefer von 11 Tage alten Embryonen stimuliert die Proliferation des frühen Zahnepithels sowie die Ausbildung eines nach innen wachsenden Epithels, das einer Zahnknospe gleicht (Hardcastle et al., 1998). Die Ausprägung von *Ptc1* und *Ptc2* im Epithel und Mesenchym verrät einen direkten Einfluss von Shh auf die epithelialen Zellen. Dies beweist auch eine gegenübergestellte Studie mit *Shh*-mutierten Mäusen, da *Ptc1* und 2 im Epithel wie im Mesenchym herunterreguliert sind (Dassule et al., 2000). Ein weiterer Nachweis an der Beteiligung von *Shh* an der Zahnmorphogenese liefern Knockout-Mäuse mit einem deletierten Gli-Gen. Eine gleichzeitige Ausschaltung von *Gli2* und *Gli3* bewirkt, dass die Zahnentwicklung noch vor dem Knospenstadium zum Erliegen kommt (Hardcastle et al., 1998). *Shh*-Knockout-Mäuse sterben am 9,5. Embryonaltag, noch bevor die Zahnentwicklung beginnt (Chiang et al., 1996). Diverse regulierende Gene wie z. B. *Bmp2*, *Pax9*, *Msx1* und 2 werden jedoch in diesen Tieren exprimiert. Dies deutet darauf hin, dass *Shh* stromabwärts dieser Gene liegt.

### 3.4 Notch

Das *Notch*-Gen wurde erstmals in der Fruchtfliege gefunden. Dort sorgt es für die Ausbildung eines Zellmembranrezeptors, der das weitere Schicksal der Zelle kontrolliert. In Vertebraten kommen vier Homologe des *Notch*-Genes vor. Die *Notch*-Signalgebung hat Bedeutung für die Entwicklung der Stammzellen und die Spezialisierung von Zellen (Artavanis-Tsakonas et al., 1999). Die Liganden der Notch-Rezeptoren, Jagged (Serrate) und Delta, sind membrangebunden. Deshalb benötigt die *Notch*-Signalgebung einen engen Zellkontakt. Der Aktivierung der Liganden geht die Freisetzung einer intrazellulären Domäne von Notch voran, die wie ein Transkriptionsfaktor im Zellkern wirkt. Die Zielgene der *Notch*-Signalgebung gehören zur HES-Familie (Hairy/Enhancer of split) der bHLH-Transkriptionsfaktoren (basic helix-loop-helix) (Iso et al., 2001; Iso et al., 2003). Fringe-Moleküle steuern an der Zelloberfläche die Signalgebung von *Notch*, indem sie als Glykosyltransferasen die Glykosylierung der Moleküle bewirken. Die Modulation der *Fringe*-Molekülen ist dabei von den speziellen Umständen abhängig und variiert zwischen unterschiedlichen Liganden. In Säugetieren kommen drei *Fringe*-Gene vor: Lunatic Fringe, Radical Fringe und Manic Fringe (Wu und Rao, 1999).

Die Expression von *Notch1*, *-2* und *-3* ist weitestgehend auf die epithelialen Zellen der Zähne beschränkt. Sie findet im frühen Mundhöhlenepithel statt, wird aber während der Epithelverdickung in den basalen, epithelialen Zellen herunterreguliert (Mitsiadis et al., 1995b). Auch in den Ameloblasten, die sich aus den basalen Zellen während des Glockenstadiums entwickeln, findet man keine Notch-Expression. In allen anderen epithelialen Zellen der Zahnanlage findet eine kontinuierliche Aktivierung der Notch-

Gene statt. Besonders hoch ist sie im Stratum reticulum und im Stratum intermedium (Mitsiadis et al., 1995b).

Noch vor und während der Knospenbildung wird der Ligand Jagged-1 (Serrate-1) zusammen mit Notch exprimiert. Man findet ihn daher, mit Ausnahme der basalen Zellen, in allen epithelialen Zellen. Auch im kondensierten Zahnmesenchym während der Knospenbildung ist eine ausgeprägte Expression von Jagged-1 zu verzeichnen (Mitsiadis et al., 1997). Serrate-2 wird nur schwach und Delta-1 gar nicht in den frühen embryonalen Stadien exprimiert. Von den *Notch*-Zielgenen zeigt HES-1 eine Koexpression von *Notch1* im Zahnepithel sowie mit Jagged-1 im Mesenchym (Mustonen et al., 2002). Von den *Fringe*-Genen kommt nur *Lunatic-Fringe (LFrg)* in den Zähnen vor (Mustonen et al., 2002). Dabei ist seine Expression auf das Zahnepithel beschränkt. Zum Schmelzknoten hin bildet es eine scharfe Grenze, während im Schmelzknoten selbst keine Expression stattfindet. Man vermutet, dass *LFrg* eine Rolle bei der Gestaltung des Schmelzknotens spielt. Die Zahnmorphogenese bleibt jedoch durch das Ausschalten des *LFrg*-Genes unbeeinflusst (Mustonen et al., 2002).

Null-Mutationen von *Notch* haben keine phänotypischen Auswirkungen. Studien, in denen epitheliales und mesenchymales Gewebe rekombiniert wurde, haben gezeigt, dass eine Herunterregulierung von *Notch* und Jagged-1 in den basalen Epithelzellen nur stattfindet, wenn das Zahnepithel mit dem Mesenchym in Kontakt treten kann. Die Aufregulierung von Jagged-1 im Zahnmesenchym wird durch das Zahnepithel stimuliert. Ersatzweise kann eine Aufregulierung auch durch *Fgf4* alleine bewirkt werden, nicht jedoch durch *Bmp* (Mitsiadis et al., 1997). Die Expression von *LFrg* und *Hes1* im Epithel ist auch vom Zahnmesenchym abhängig. Beide Gene können durch *Fgf10*-Gaben im

isolierten Zahnepithel induziert werden (Mustonen et al., 2002). Interessanter Weise wird das durch *Fgf* induzierte *LFrg* durch die experimentelle Anwendung von *Bmp4* verhindert, wohingegen *Hes1* durch *Bmp4* auch bei Abwesenheit von *Fgf10* stimuliert wird. Rekombinates *LFrg*-Protein, das auf das Zahnepithel aufgebracht wird, stimuliert die Expression von *Hes1* (Mustonen et al., 2002). Diese Tatsache ist schwer zu interpretieren, da man annimmt, das *Fringe* nur intrazellulär agiert (Wu und Rao, 1999). Andererseits zeigt die hauptsächlich nicht überlappende Expression von *LFrg* und *Notch*, dass *LFrg* keine zellautonomen Effekte auf die *Notch*-Signalgebung ausübt.



#### 4. Gene des Schmelzknotens

Der Eintritt ins Kappenstadium beginnt mit der Ausprägung des primären Schmelzknotens (Jernvall et al., 1994). Während sich der Schmelzknoten in der Mitte der Kappe befindet und von einer Furche umgeben ist, bildet ein Schmelzstrang eine Brücke zur Schmelznarbe, die am äußeren Schmelzepithel eine Anhäufung von Zellen auf der labialen Seite der Zahnanlage darstellt (Butler, 1956; Ferguson, 1990; Berkovitz, 1967). Schmelznarbe und Schmelzstrang stellen ebenfalls eine vorübergehende Struktur in der Zahnentwicklung dar. Ihre genaue Aufgabe ist bisher nicht bekannt. Man vermutet jedoch, dass das Schmelznarbe/Schmelzstrang/Schmelzknoten-Gefüge für die Positionierung des ersten bukkalen Zahnhöckers verantwortlich ist. In der Schmelznarbe werden die Gene *Msx2*, *Dlx2* und *Dlx3* exprimiert (MacKenzie et al., 1992; Zhao et al., 2000). Am 14. Embryonaltag werden im primären Schmelzknoten alle Gene exprimiert, außer *Msx1*, dessen Expression nur mesenchymal im Bereich der sich entwickelnden Backenzähne nachweisbar ist (Keränen et al., 1998). Vermutlich gibt mesenchymales *Bmp4* das Signal zur epithelialen Expression von *p21*. Aber auch epitheliales *Bmp2* ist in der Lage *p21* zu induzieren (Jernvall et al., 1998). Eine Aufregulierung von *p21* geht einem Stopp der Zellproliferation voraus. Im Gebiet des späteren Schmelzknotens lassen sich Transkripte von *Bmp2*, *Bmp7* und *Shh* ebenfalls nachweisen (Jernvall et al., 1998). Im primären Schmelzknoten ist die Expression von *Bmp4* stark aufreguliert (Vaahtokari et al., 1996a; Jernvall et al., 1998), was darauf hindeutet, dass *Bmp4* über die Aktivierung von *Msx2*, *p21* und *Lef1*, die Entstehung des Schmelzknotens induziert (Jernvall et al., 1998). Es scheint so, dass der Schmelzknoten die Kontrolle über die Ausbildung der Zahnhöcker übernimmt, in dem er das Wachstum

rund um seinen nicht-proliferativen Bereich anregt (Jernvall et al., 1994; Jernvall, 1995; Vaahtokari et al., 1996a). Vermutlich fördert der Schmelzknoten über die parakrine Wirkung von *Fgf4* die Trennung des inneren Schmelzepithels vom Zahnmesenchym, bzw. nimmt auch auf die Faltung des inneren Schmelzepithels Einfluss (Jernvall et al., 1994; Thesleff und Jernvall, 1998; Vaahtokari et al., 1996a). Noch bevor die Schmelzhöcker ihre Ausprägung finden, verfällt der primäre Schmelzknoten im Kappenstadium der Apoptose (Vaahtokari et al., 1996b). *Bmp4*, *Msx2* und *p21* scheinen an der Apoptose des Schmelzknotens beteiligt zu sein (Jernvall et al., 1998). Da *Msx2* im gesamten Epithel auftritt und *p21* nicht eindeutig zur Apoptose beiträgt, wird vermutet, dass *Bmp4* der Mediator des programmierten Zelltods ist (Graham et al., 1994). Dies ist umso wahrscheinlicher, als *Bmp4* nachweislich auch für die Apoptose interdigitalen Gewebes während der Embryonalentwicklung des Huhnes verantwortlich ist (Yokouchi et al., 1996; Zou und Niswander, 1996). In Zelllinien konnte nachgewiesen werden, dass *Bmp4* *p21* aufreguliert. *p21*-Null mutante Mäuse weisen allerdings keine Zahnanomalien auf (Deng et al., 1995), so dass man davon ausgeht, dass *p21* die Zellteilung im Schmelzknoten verhindert (Jernvall et al., 1998). Mit einer dreidimensionalen, computergestützten Darstellung des Schmelzknotens zu verschiedenen Entwicklungszeitpunkten, konnte demonstriert werden, dass *Bmp4* während der Bildung des primären Schmelzknotens im Zahnepithel nicht nachweisbar ist. Im Kappenstadium jedoch befindet sich *Bmp4* im distalen Bereich des Schmelzknotens, wo auch apoptotische Zellen vorkommen (Vaahtokari et al., 1996b). Im Mesenchym tritt *Bmp4* im gesamten Bereich der Zahnanlage auf (Jernvall et al., 1998). Am 14,5. Embryonaltag ist die distale Hälfte des Schmelzknotens verschwunden. Transkripte von *p21*, *Bmp4* und *Msx2* lassen sich hier nicht mehr erkennen. Am 15. Embryonaltag, an dem der

Übergang vom Kappen- ins Glockenstadium stattfindet, ist der primäre Schmelzknoten fast vollständig aufgelöst. Ein aktiver Schmelzknoten besteht also über einen Zeitraum von ca. 24 Stunden (Jernvall et al., 1998).

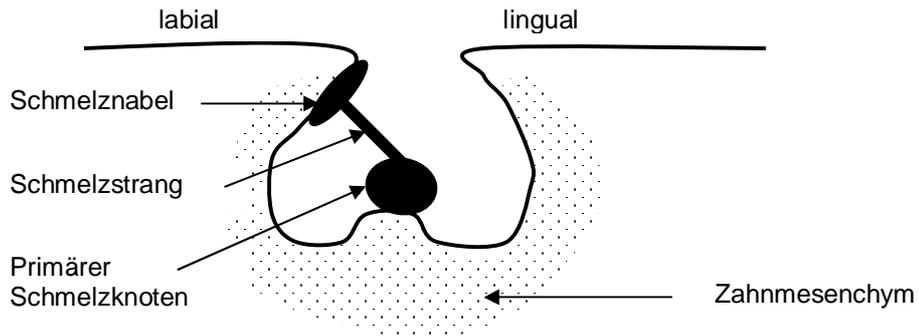
In der funktionellen Phase des primären Schmelzknotens, gleicht er dem Apikalen Ektodermalen Kamm (AER) und der Zone der Polarisierenden Aktivität (ZPA) in den embryonalen Gliedmaßenknospen (Ingham, 1995; Hogan, 1996a und 1996b; Martin, 1998; Colvin et al., 1999).

Zu Beginn des frühen Glockenstadiums um den 16. Embryonaltag, beginnt die Ausbildung der Schmelzhöcker. Kurz vorher treten sekundäre Schmelzknoten an der Spitze der sich formenden Höcker in Erscheinung (Jernvall et al., 1994; Jernvall, 1995). Mit dem Auftreten der sekundären Schmelzknoten korreliert die Expression von *Fgf4*, die sich vor allem an den Spitzen und Seiten der Höcker zeigt (Keränen et al., 1998). *Fgf4* sorgt hier für das Wachstum der Zellen (Jernvall et al., 1998). *Lef1* und *Shh* werden dagegen mehr im inneren Schmelzepithel exprimiert. Der Transkriptionsfaktor *Lef1* wird noch vor der Ausbildung des Schmelzknotens im Epithel durch *Bmp4* induziert (Kratochwil et al., 1996). Fehlt *Lef1* bleiben die molaren Zähne im Knospenstadium der Entwicklung stehen (Van Genderen et al., 1994). Um den 17. Embryonaltag lässt sich für *Lef1* und *Shh* keine Korrelation zur Ausprägung der Schmelzspitzen mehr ausmachen. Auch die Intensität der *Bmp2*-Expression lässt zu diesem Zeitpunkt rapide nach (Aberg et al., 1997). Das epitheliale Auftreten von *Msx2* und *p21* ist nur schwach mit dem Entstehen der sekundären Schmelzknoten assoziiert (Keränen et al., 1998). Die sekundären Schmelzknoten spielen in der Formation der späteren Ausbildung der

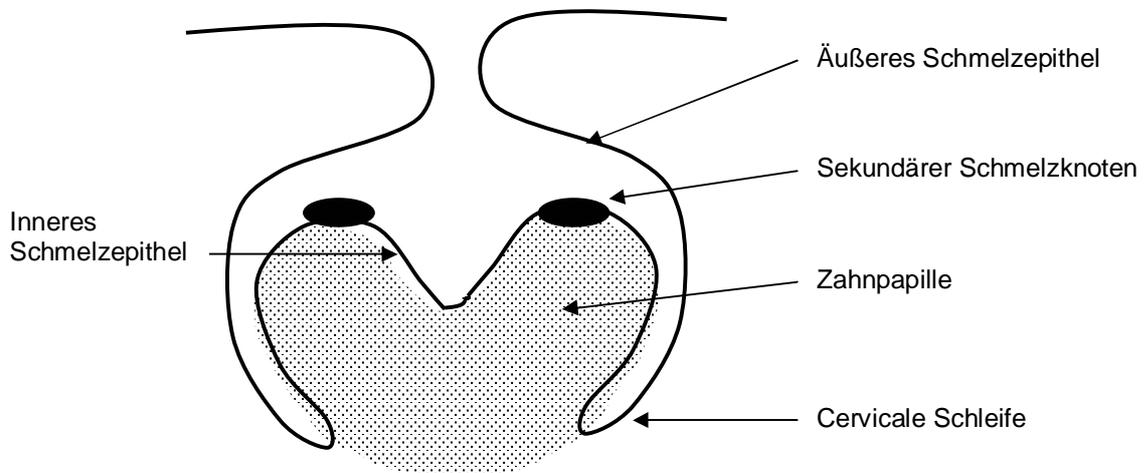
Zahnhöcker vermutlich eine ähnliche Rolle wie der primäre Schmelzknoten (Jernvall et al., 1994). Zum heutigen Zeitpunkt weis man jedoch noch nicht, wie die Anzahl oder die Anordnung der sekundären Schmelzknoten die Gestaltung der Zahnkrone beeinflussen (Zhao et al., 2000). Vaahtokari et al. (1996a) vermuten mit dem sporadischen Auftreten von *Bmp4* die beginnende Apoptose des sekundären Schmelzknotens.

Schematische Darstellung der Veränderungen des Schmelzknotens während des Kappen- und Glockenstadiums

Kappenstadium



Glockenstadium



Nach Zhao et al.,  
Development and evolution of dentition patterns and their genetic basis

## VI. Gene der Zahnentwicklung (alphabetisch geordnet)

### 1. *Activin beta A*

*Activin* ist ein Mitglied der Transforming Growth Factor (TGF)  $\beta$  Superfamilie. *Activine* wie auch *Inhibine* sind homo- und heterodimere Wachstumsfaktoren (Ferguson et al., 1998). Als extrazelluläres Signalprotein entfaltet *Activin* via Smad eine intrazelluläre Wirkung. *Activin*-Proteine werden durch zwei Genprodukte, nämlich *Activin  $\beta$ A* und *Activin  $\beta$ B* gebildet. *Activin  $\beta$ A* und *Activin  $\beta$ B* dimerisieren um *Activin A* ( $\beta$ A: $\beta$ A), *Activin B* ( $\beta$ B: $\beta$ B) und *Activin AB* ( $\beta$ A: $\beta$ B) zu bilden (Vale et al., 1990; Roberts et al., 1991; Roberts und Barth, 1994). *Activin* bindet an Rezeptoren der Zelloberfläche. Es handelt sich hierbei um Serin-Threonin-Kinase-Rezeptoren, die Typ II Liganden-bindende-Rezeptoren und Typ I Signalrezeptoren darstellen. Wenn *Activin* an den Liganden gebunden hat, heterodimerisiert es mit dem Typ II Rezeptor und phosphoryliert den Typ I Rezeptor (Attisano et al., 1992; Zimmerman und Mathews, 1996). Der Typ I Rezeptor wird hierbei aktiviert und führt zur Phosphorylierung spezieller zytoplasmatischer Smad-Proteine (Massague und Chen, 2000). Diese Smad-Proteine wandern zum Zellkern, wo sie von spezifischen Transkriptionsfaktoren erkannt werden. Am 10,5. Embryonaltag erscheint *Activin  $\beta$ A* erstmalig im Zahnmesenchym. Um Schneidezähne und Backenzähne im Unterkiefer ausbilden zu können, ist eine Expression von *Activin  $\beta$ A* noch vor dem 11,5. Embryonaltag nötig (Ferguson et al., 1998).

Wird das *Activin  $\beta$ A*-Gen ausgeschaltet, werden die Dimere *Activin A*, *Activin AB* und *Inhibin A* nicht codiert. *Activin  $\beta$ A*-Knockout-Mäuse entwickeln im Oberkiefer normale

Backenzähne. Die Schneidezähne in Ober- und Unterkiefer, sowie die Molaren im Unterkiefer entwickeln sich jedoch nicht über das Knospenstadium hinaus. Diese Mäuse haben keine Schnurrhaare und keine Schneidezähne. Das Fehlen der Molaren im Unterkiefer verursacht sekundäre Anomalien der Alveolen. Außerdem weisen die homozygoten Mäuse eine Spaltbildung im Gaumen auf, durch die das Saugen und Abschlucken der Muttermilch unmöglich ist. Sie sterben spätestens nach 24 Stunden (Matzuk et al., 1995a; Ferguson et al., 1998).

Das Knockout des *Activin  $\beta B$* -Gens bewirkt, dass das Activin B-Protein, sowie das Activin AB- und das Inhibin B-Protein nicht codiert werden. In diesem Fall sind die Mäuse lebensfähig, haben jedoch zum Zeitpunkt der Geburt bereits die Augen geöffnet. Ebenso ist bei den weiblichen Tieren der Reproduktionstrakt unvollständig ausgebildet. Die Zähne werden durch das *Activin  $\beta B$* -Knockout nicht beeinflusst. Es verschlimmert auch nicht den Phänotyp von *Activin  $\beta A$* -Knockout-Mäusen (Schrewe et al., 1994; Matzuk et al., 1995a; Heikinheimo et al., 1998). Wenn *Activin  $\beta A$*  und *Activin  $\beta B$*  ausgeschaltet werden, ergeben sich individuelle Kombinationen aus den oben genannten Missbildungen (Matzuk et al., 1995a; Ferguson et al., 1998).

Die Generierung von Knockout-Mäusen, denen zum einen die Activinrezeptoren und zum anderen die Smad2 Proteine fehlen, führt immer zum selben Ergebnis, dem Phänotyp des *Activin  $\beta A$* -Mutanten (Ferguson et al., 2001). Daraus lässt sich ableiten, dass verwandte *Tgf $\beta$* -Gene nicht die Ursache für die Ausbildung der Molaren im Oberkiefer sind. Vielmehr scheint es der Fall zu sein, dass parallele, unabhängige genetische Wege, wie z. B. *Dlx*-Gene, für deren Ausprägung verantwortlich sind. So

weisen *Dlx1/Dlx2* Doppel-Knockout-Mäuse keine Molaren im Oberkiefer auf, während alle anderen Zähne normal ausgeprägt sind (Thomas et al., 1997; Qiu et al., 1997). Darüber hinaus ist anzumerken, dass das Gen für *Fgf8*, das stromaufwärts von *Dlx* und *Activin  $\beta A$*  liegt, als Aktivator eine Rolle spielen könnte (Ferguson et al., 1998; Ferguson et al., 2000; Thomas et al., 2000).

## 2. AP-2.2

### *Activated protein*

Angeregt durch Retinol wird das AP-2.2-Gen in unterschiedlichen embryonalen Regionen ausgebildet wie z. B. Vorderhirn, Gesicht und Gliedmaßen (Oulad-Abdelghani et al., 1996; Chazaud et al., 1996).

7,5 Tage p.c. ließen sich bei Mäusen AP-2.2-Transkripte im Grenzbereich zwischen Neuralplatte und oberflächlichem Ektoderm nachweisen. Am 8. Tag p.c. erschienen Transkripte in migrierten Zellen der Neuralleiste sowie in deren Vorstufen. Im weiteren Verlauf konnte man AP-2.2-RNA im Mesenchym des Gesichts und hier insbesondere im Bereich der Mund- und Nasenhöhle, im oberflächlichen Ektoderm sowie im Epithel von Nase und Mund nachweisen. Weitere Lokalisationen waren die Rindenregion des Vorderhirns, die Gliedmaßen sowie der Bereich der primären Geschlechtsmerkmale (Chazaud et al., 1996).

### 3. *Barx1*

#### *Bar class homeobox1*

Das Homöobox-Gen *Barx1* induziert eine Reihe von epithelialen und mesenchymalen Interaktionen während der craniofacialen Entwicklung sowie während der Organogenese des Magen-Darm-Traktes (Hjalt und Murray, 1999).

Am 10,5. Embryonaltag zeigt sich eine räumlich eingeschränkte Expression des Transkriptionsfaktors *Barx1* im Ektomesenchym des ersten und zweiten Kiemenbogens (Mitsiadis et al., 1998). Am 16,5. Embryonaltag weisen nur noch die heranwachsenden Molaren eine *Barx1* Expression auf (Tissier-Seta et al., 1995). Eine Herunterregulierung der *Barx1*-Expression erfolgt erst mit der Fertigstellung der Zahnkrone (Mitsiadis et al., 1998).

*Bmp4* des Mundhöhlenepithels aktiviert im darunterliegenden Ektomesenchym die Expression von *Msx1* im Mandibularbogen. Der proximale Expressionsbereich von *Msx1* trifft am 10. Embryonaltag distal auf den Expressionsbereich von *Barx1*. In Regionen, die überwiegend *Msx1* positiv und *Barx1* negativ sind entwickeln sich später die Schneidezähne. Umgekehrt bilden sich in Bereichen die *Msx1*-negativ und *Barx1*-positiv sind später Molare aus. Es zeigt sich, dass die Grenze, die sich zwischen den Transkripten von *Msx1* und *Barx1* bildet, mit den Transkripten von *Fgf8* und *Bmp4* korrespondiert. Es konnte bewiesen werden, dass *Bmp4* in der Lage ist eine Expression von *Barx1* zu hemmen. *Fgf8* hingegen induziert die *Barx1*-Expression, war jedoch in Anwesenheit von *Bmp4* nicht dazu in der Lage (Tucker et al., 1998b).

Eine ektopische Expression von *Barx1* (evtl. durch *Fgf8* eingeleitet) im distalen Ektomesenchym von Schneidezähnen führt zu einer Entwicklung von Molaren anstelle der Schneidezähne (Tucker et al., 1998b). Gelegentlich konnte in dieser Versuchsreihe auch eine hybride Ausprägung von Molaren/Schneidezähnen beobachtet werden. Letztlich wurde jedoch nicht geklärt, ob *Barx1* alleine für diese Veränderungen verantwortlich ist oder ob ein Mangel bzw. eine Hemmung der *Msx1*- und/oder *Bmp4*-Expression mit beteiligt sind (Tucker et al., 1998b).

*Barx2* wird zusammen mit *Pitx2* in verschiedenen Geweben der Maus exprimiert. Aufgrund dieser Coexpression wird vermutet, dass eine Mutation des *Barx2*-Genes in den Fällen, in denen keine *Pitx2*-Mutation vorliegt, die Ursache für das Rieger-Syndrom ist (Mucchielli et al., 1997).

#### 4. *Bmp2-7*

##### *Bone morphogenetic protein 2-7*

Bone morphogenetic proteins (*Bmp*) bilden eine Familie von Wachstumsfaktoren und gehören zur Superfamilie der Transforming Growth Faktoren- $\beta$  (*Tgf $\beta$* ), die während der gesamten Zahnentwicklung sowohl im Epithel als auch im Mesenchym exprimiert werden (Heikinheimo et al., 1998). Sie sind strukturell verwandte Zytokine, die als Signalmoleküle, eine Vielzahl regulierender Funktionen während der Morphogenese und Zelldifferenzierung übernehmen. Auch im Schmelzknoten, der als Regulationszentrum

der Zahnentwicklung gilt, werden *Bmps* exprimiert. Die *Bmp*-Gruppe gibt das Startsignal für die Zahnentwicklung. Sie sind an der Bildung von Dentin, Schmelz und Zement beteiligt. Ursache für das bemerkenswerte Überschneiden der Expressionsgebiete der einzelnen *Bmp*-Gene kann ein funktioneller Überfluss sein und/oder eine Bildung aktiver Heterodimere der unterschiedlichen *Bmps* (Aberg et al., 1997). Die *Bmps* werden in die Gruppen *Bmp2* und *4*, *Bmp 3* und *3b* und *Bmp 5, 6, 7* und *8* eingeteilt (Heikinheimo et al., 1998).

*Bmp2* ist in die frühe Zahnentwicklung und in die Kontrolle der Differenzierung der Odontoblasten mit eingebunden (Bègue-Kirn et al., 1992). Es wird in sezernierenden Odontoblasten stark exprimiert, jedoch nicht in Ameloblasten (Heikinheimo et al., 1998).

Die Expression von *Bmp3* ist auf mesenchymale Zellen beschränkt. Insbesondere lässt sich *Bmp3* in den dentalen Follikelzellen nachweisen, die für das Wachstum der Zementoblasten verantwortlich sind, jedoch nicht in den Zahnanlagen selbst (Helder, 1994) .

*Bmp4* wird im frühen Mundhöhlenepithel exprimiert (Vainio et al., 1993) und ist in der Lage, das Homöobox-Gen *Msx1* im darunterliegenden Ektomesenchym des Mandibularbogens zu aktivieren. Ein anderes Homöobox-Gen, *Barx1*, welches für die Ausbildung der Molaren im proximalen Mesenchym steht, wird durch die *Bmp4*-Expression gehemmt (Tucker et al., 1998b). Im Kappenstadium erfolgt ein Wechsel der *Bmp4*-Transkription vom Epithel ins Mesenchym. *Bmp4*-mRNA ist reichlich während des frühen Glockenstadiums in der Zahnpapille, in den Zahnhöckern, und später auch in

Odontoblasten und Ameloblasten nachweisbar (Vainio et al., 1993). *Bmp4* agiert als parakrines Signal zwischen epithelialelem und mesenchymalem Gewebe. Es induziert sowohl die Entstehung des Schmelzknotens als später auch dessen apoptotische Rückbildung (Jernvall et al., 1998).

*Bmp5* wird erst spät in der Zahnentwicklung exprimiert und ist nur in den epithelialen Ameloblasten feststellbar. Eine Steigerung der Expression erfolgt während der Polarisierung der sezernierenden Ameloblasten (Heikinheimo et al., 1998). Während des Knospen- und Kappenstadiums konnte eine schwache Expression von *Bmp5* im Zahnmesenchym nachgewiesen werden (Aberg et al., 1997).

Während des Glockenstadiums war ein Wechsel der *Bmp7*-mRNA- und Protein-Expression vom Zahnepithel zum Zahnmesenchym zu beobachten (Helder et al., 1998). Vahtokari et al. (1996a), lokalisierten *Bmp7*-mRNA im Schmelzknoten. Es wird daher angenommen, dass *Bmp7* einen Einfluss auf die Ausbildung der Zahnhöcker ausübt. Mit zunehmender Differenzierung der Odontoblasten, verringert sich die Menge an *Bmp7*-Protein. In sezernierenden Ameloblasten wird *Bmp7* nur noch schwach exprimiert. Postsekretorisch sind nur noch wenige Ameloblasten *Bmp7*-positiv (Helder, 1994).

Das Expressionsmuster von *Bmp7* gleicht dem der anderen Mitglieder der *Bmp*-Familie. *Bmp7* stellt jedoch keinen essentiellen Wachstumsfaktor der Zahnentwicklung dar. Vermutlich sind die anderen *Bmp*-Gene oder verwandte Wachstumsfaktoren im funktionellen Überfluss vorhanden (Helder et al., 1998). Die Wirkung von *Bmp7* kann durch Follistatin beeinträchtigt werden (Heikinheimo et al., 1998).

*Bmp*-Knockout-Mäuse haben nicht zur Aufklärung der Rolle der *Bmp*-Gene beigetragen.

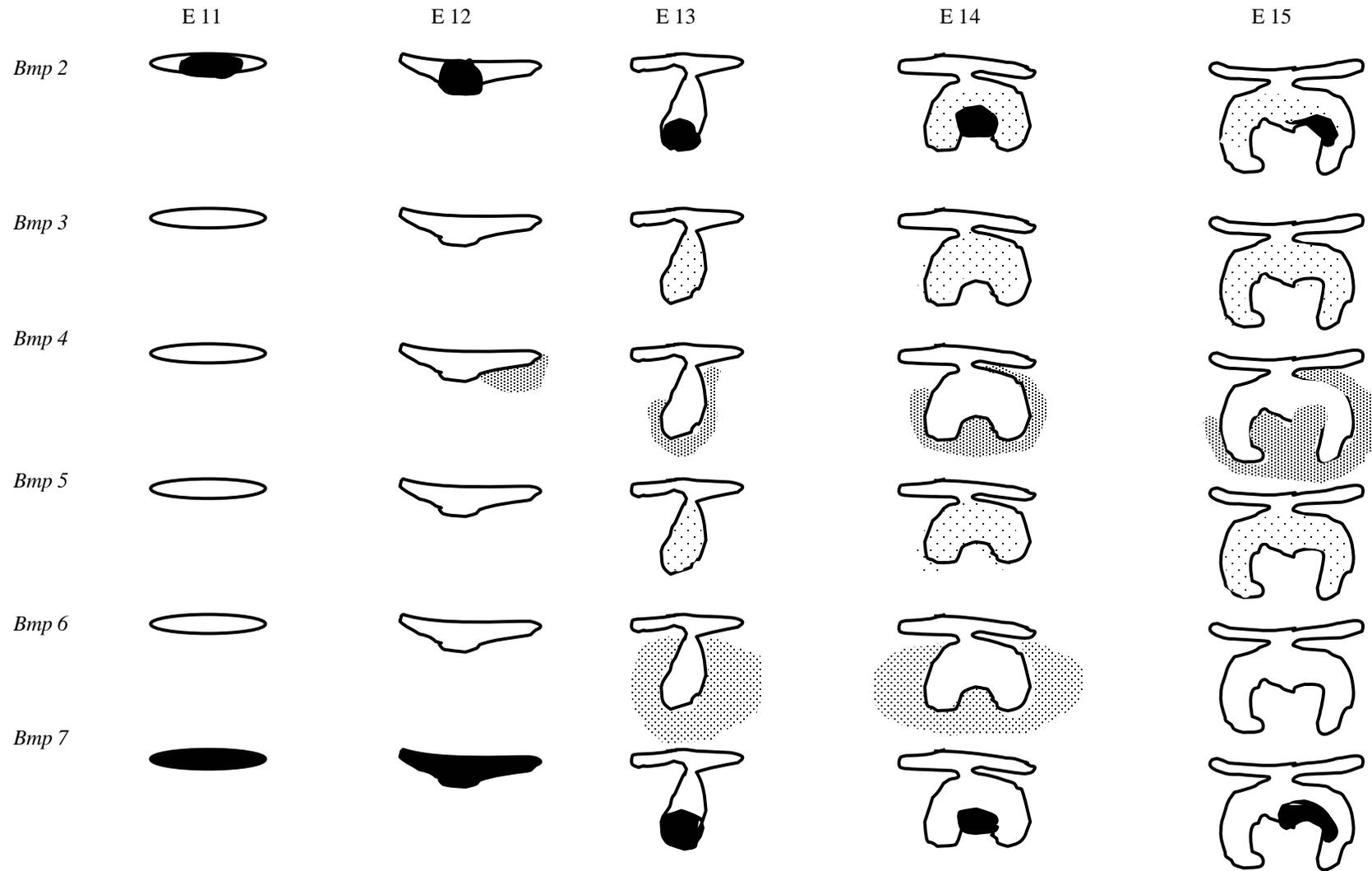
In der Regel kommt es zum frühen Tod der Tiere (*Bmp2*: Zhang und Bradley, 1996;

*Bmp4*: Winnier et al., 1995) oder einer fehlenden Stimulation der Zahnentwicklung

(*Bmp5*: Kingsley et al., 1992; *Bmp6*: Solloway et al., 1998; *Bmp7*: Dudley und

Robertson, 1997).

Schematische Darstellung der Expressionsmuster von *Bmp2-7*



Nach Aberg et al., 1997

## 5. *Cbfa1/Osf2/Runx2*

*Core binding factor 1/Osteoblast specific factor 2/Runt-related homeobox gene*

Osteoblasten und Odontoblasten sind Zellen, die für Bildung von Knochen bzw. Dentin verantwortlich sind. Sie haben mehrere gemeinsame molekulare Kennzeichen (D'Souza et al., 1999). *Cbfa1* reguliert die Transkription während der Osteoblastendifferenzierung. Mutiert dieses Gen (heterozygote Mäuse), kommt es zu schweren Missbildungen im Bereich der Knochen, wie z.B. große Fontanellen, Zahnanomalien und eine verzögerte Skelettentwicklung. Dieser Symptomenkomplex wird Cleidocraniale Dysplasie genannt. Die Cleidocraniale Dysplasie wird autosomal dominant vererbt. Die Zahnmissbildungen umfassen eine Überzahl von Zähnen und eine Verzögerung des Durchbruchs der permanenten Zähne (D'Souza et al., 1999; Lee et al., 1997).

Die Abweichungen in der Zahnentwicklung bei einer Cleidocranialen Dysplasie zeigt, dass dieses Molekül eine wichtige Rolle bei der Zahnbildung einnimmt. Mit RT-PCR und in situ Hybridisierung konnte gezeigt werden, dass *Cbfa1* einheitlich im Zahnmesenchym während des Knospen- bis zum Glockenstadium exprimiert wird (D'Souza et al., 1999).

*Cbfa1*-homozygote Mutanten sterben kurz nach der Geburt an einer Schädigung des Respirationstrakts. Die Knochen werden nicht ausgebildet und Odontoblasten lassen sich nicht nachweisen (Otto et al., 1997).

Im Unterschied zur Osteoblastendifferenzierung wird *Cbfa1* in voll ausgereiften Odontoblasten nur wenig exprimiert. Überraschenderweise wird *Cbfa1* während der Reifungsphase des Schmelzes in den vom Ektoderm abgeleiteten Ameloblasten exprimiert (Otto et al., 1997).

Durch epithelial-mesenchymale Rekombination konnte gezeigt werden, dass das Zahnepithel die mesenchymale Expression von *Cbfa1* während des Knospen- und Kappenstadiums induziert. Ähnliches konnte man auch für das Expressionsverhalten der *Fgfs* beobachten. *Cbfa1* reguliert die Expression von mesenchymalen Molekülen, die abwechselnd auch das Wachstum und die Differenzierung des Zahnepithels kontrollieren (Otto et al., 1997).

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass *Cbfa1* im Unterschied zur Knochenentwicklung, bei der Zahnentwicklung nicht redundant exprimiert wird. Während das Gen in der frühen Zahnentwicklung keine nennenswerte Rolle spielt, reguliert es epithelial-mesenchymale Interaktionen mit Schlüsselwirkung auf die Entwicklung des Schmelzorgans (D'Souza et al., 1999; Lee et al., 1997; Otto et al., 1997).

## 6. *Dlx1, Dlx2*

### *Distal less homeobox gene*

Zur „distal-less“ Familie der Homöobox-Gene gehören sechs Mitglieder: *Dlx1, Dlx2, Dlx3, Dlx5, Dlx6 und Dlx7* (Weiss et al., 1995; Qiu et al., 1997; Weiss et al. 1998). Wie schon erwähnt, versteht man unter Homöobox-Genen wiederkehrende Sequenzen auf der DNA, von denen Transkriptionsfaktoren codiert werden, die wiederum an die DNA binden. Da Homöobox-Gene im gesamten Tierreich vorkommen, nimmt man an, dass sie eine zentrale Rolle bei der Frühentwicklung spielen. Die „distal-less“ Homöobox-Gene sind im Genom von Säugetieren als konvergierende Paare angeordnet. Beide Gene eines Paares (*Dlx1 und Dlx2, Dlx3 und Dlx7, Dlx5 und Dlx6*) haben eine ähnliche Domäne (Qiu et al., 1997). *Dlx1 und Dlx2* werden im Epithel und im Mesenchym in den Bereichen des späteren Ober- und Unterkiefers im Branchialbogen exprimiert (Thomas et al., 1995). *Dlx5 und Dlx6* weisen ebenfalls ein ähnliches Expressionsmuster auf und werden im Bereich des späteren Unterkiefers im Branchialbogen, ähnlich wie *Dlx1 und Dlx2*, jedoch nicht im Oberkieferbereich, exprimiert (Qiu et al., 1997). Eine fehlerhafte Expression von *Dlx1 und Dlx2* führt zu einer Entwicklungshemmung der Molaren (Thomas et al., 1997). Dabei sind nur die Molaren im Oberkiefer von der Fehlbildung betroffen jedoch nicht die Molaren im Unterkiefer. Dies wird durch die gleichzeitige Expression anderer *Dlx*-Gene, wie *Dlx5 und Dlx6*, im Unterkiefer erklärt (Qiu et al., 1997; Thomas et al., 1997). Vor dem Beginn der Zahnentwicklung werden *Dlx1 und Dlx2* im proximalen Mesenchym des entstehenden Oberkiefers und im Bereich des Unterkiefers im ersten Kiemenbogen exprimiert (Thomas et al., 1995; Thomas und Sharpe, 1998). In diesem Stadium werden im proximalen Epithel keine *Dlx*-Gene

exprimiert, aber in Richtung auf die distalen Spitzen im Ober- und Unterkieferbereich des ersten Kiemenbogens ist eine Expression von *Dlx1* und *Dlx2* im Epithel zu verzeichnen (Weiss et al., 1995). Hierbei unterscheiden sich die Domänen von *Dlx1* und *Dlx2* in Epithel und Mesenchym. Ihre Expressionsbereiche nähern sich einander auf halben Wege entlang des Kiemenbogens (Bulfone et al., 1993; Qiu et al., 1997; Thomas and Sharpe, 1998).

Zur Bestätigung der Wirkungsweise von *Dlx1* und *Dlx2* wurden Knockout-Mäuse generiert, in denen mutiertes Epithel mit dem Wildtyp-Mesenchym rekombiniert wurde. In diesen Mäusen schritt die Zahnentwicklung nicht weiter fort. Im umgekehrten Experiment, in dem mutiertes Mesenchym mit Wildtyp-Epithel rekombiniert wurde, entwickelten sich die Zähne nicht weiter als bis zur epithelialen Verdickung (Thomas et al., 1997). Daraus wird geschlossen, dass die mesenchymale Domäne von *Dlx2* während der Entwicklung der molaren Zähne einschränkend auf die Ausprägung der proximalen Region wirkt.

Die Mechanismen der Expression von *Dlx2* wurden anhand eines transgenen Mäusemodells untersucht (Thomas et al., 2000). Die DNA dieser transgenen Mäuse beinhaltet ein *lacZ*-Reporter-Gen stromaufwärts von *Dlx2*. Das *lacZ*-Gen codiert für Beta-Galactosidase. Die Expression des *Dlx2/lacZ*-Gen-Konstruktes wurde im Gewebe des ersten Kiemenbogens in 10,5 Tage alten Embryonen untersucht. Das Konstrukt, das 3,77 Kilobasen stromaufwärts des ATG-Startpunktes liegt, exprimierte *lacZ* im Epithel, jedoch nicht im Mesenchym des ersten Kiemenbogens. Wie durch in situ Hybridisierung gezeigt werden konnte, stimmte die Expression des *lacZ*-Gen-

Konstruktes zu 100 Prozent mit der Expression von *Dlx2* im Epithel überein. Die Expression des Transgens wurde während der verschiedenen Stadien der Entwicklung des ersten Kiemenbogens verfolgt und ergab eine positive Reaktion in einem proximalen, verdickten Epithelband, das sich auch entlang des Diastemas nachweisen ließ (Thomas et al., 2000).

Da verschiedene Signalmoleküle im ersten Kiemenbogen exprimiert werden, wie z.B. *Shh* (Hardcastle et al., 1998), *Bmp* (Vainio et al., 1993; Tucker et al., 1998b), *Activin* (Ferguson et al., 1998), *Fgf* (Grigoriou et al., 1998; Tucker et al., 1999) und *Wnt* (Parr et al., 1993; Christiansen et al., 1995), war es interessant zu untersuchen, ob sie einen Einfluss auf die Expression von *Dlx2* ausüben. *Bmp4* wird im Epithel des ersten Kiemenbogens am 10,5. Embryonaltag exprimiert (Tucker et al., 1998a) und reguliert dort auch Homöobox-Gene (Vainio et al., 1993; Tucker et al., 1998a). *Fgf8* wird in Bereichen des proximalen Mundhöhlenepithels exprimiert, das über der Expressionsdomäne von *Dlx2* im Mesenchym liegt. *Fgf8* reguliert ebenfalls Homöobox-Gene im ersten Kiemenbogen (Grigoriou et al., 1998; Tucker et al., 1999). Die Ergebnisse der Untersuchungen von Thomas et al. (2000), lassen vermuten, dass die epitheliale Expression von *Dlx2* durch *Bmp4* induziert und durch *Fgf8* gehemmt wird. Im Mesenchym des Unterkiefers von 10,5 Tage alten Mäuseembryonen konnte *Fgf8* eine räumlich begrenzte Expression von *Dlx2* induzieren, während *Bmp4* keine Expression von *Dlx2* bewirkte (Thomas et al., 2000). Das zeitliche und räumliche Expressionsmuster von *Shh* und *Activin*  $\beta A$  weist auf keinen Zusammenhang mit der Expression von *Dlx2* in Epithel und Mesenchym hin (Hardcastle et al., 1998; Ferguson et al., 1998; Dassule and McMahon, 1998). *Pitx2*, ein "bicoid"-ähnlicher Homöodomäne-

Transkriptionsfaktor, wurde auf seine Wirkung auf die Promotor-Region von *Dlx2* in Zellen des Zahnepithels untersucht (Green et al., 2001). Dabei konnte festgestellt werden, dass *Pitx2* imstande ist, an „bicoid“ (5'-TAATCC-3') und „bicoid“-ähnlichen Elementen im *Dlx2*-Promotor zu binden und die Transkription des TK-Bicoid-Luciferase-Reporter-Gens zu induzieren. *Msx2* (ein Homöobox-Protein) ist ebenfalls dazu in der Lage. Es wirkt jedoch sehr viel spezifischer als *Pitx2*. *Pitx2*-Transkripte können in frühen Entwicklungsstadien, aber auch in Präameloblasten nachgewiesen werden (Green et al., 2001).

Neuere Studien beschäftigen sich mit der Frage, inwieweit *Dlx2* zur Entwicklung in späten Stadien der Zahnentwicklung beiträgt (Thomas et al., 1997; Thomas et al., 2000; Lézot et al., 2000a). Es gibt Hinweise dafür, dass *Dlx2* die Differenzierung der Epithelzellen der Zahnwurzeln beeinflusst (Fong et al., 1996; Ding et al., 1997; Terling et al., 1998). Dazu wurden transgene Mäuse generiert, die das *Dlx2/lacZ*-Reporter-Konstrukt enthielten und dessen Expression in Zementoblasten untersucht. Während der Entwicklung der Zahnwurzeln konnte *Dlx2* im Epithel der Zahnwurzeln von Schneidezähnen und Molaren nachgewiesen werden. Schneidezähne haben ein azelluläres Zement, das kontinuierlich während des Wachstums abgeschieden wird. Die Wurzeln von Molaren haben dagegen zwei Typen von Zement. Das erste ist ebenfalls azellular, das zweite zellular und kommt vor allem im Bereich der Wurzelspitzen vor. Azelluläres Zement bedeckt die buccale Oberfläche der Schneidezähne, sowie die Krone und den Mittelteil der Oberfläche der Molaren. Das zelluläre Zement bedeckt die Spitzen der molaren Wurzeloberflächen. Azelluläres und zelluläres Zement unterscheiden sich durch die unterschiedliche Anordnung kollagener Fasern und durch

die Anwesenheit bzw. Abwesenheit von Zellen in der Zementmatrix (Bosshardt und Schroeder, 1996). Die verschiedenen *Dlx2* positiven Zellen entlang der Wurzeloberfläche sprechen gleichfalls für einen unterschiedlichen Ursprung der Zementblasten. Eine Gruppe stammt vom Wurzelepithel ab, die andere vom Ektomesenchym des Zahnsackes (Cho und Garant, 1988; Bosshardt und Schroeder, 1996). Während der zellulären Zementbildung wird *Dlx2* nur in den innersten Zementozyten exprimiert (Lézot et al., 2000a).

Eine Beteiligung des *Dlx2*-Genes an der Entwicklung der Zahnwurzeln wurde wieder anhand des *Dlx2/lacZ*-Modells untersucht (Lézot et al., 2000a). In den Schneidezähnen von 13 bis 45 Tage alten Mäusen konnte eine starke Expression von *Dlx2* im Epithel der Wurzelscheide, jedoch nicht in den Zahnfollikeln und in den Zahnpapillen, festgestellt werden. Eine Beta-Galactosidase des Reportergenese konnte hingegen in diesen Bereichen im Wildtyp nicht nachgewiesen werden. Während der azellulären Zementablagerung an den Schneidezähnen wurde in 13 Tage alten Mäusen eine starke *Dlx2* Expression der meisten Zementblasten nachgewiesen (Lézot et al., 2000a).

Kurz vor dem Durchbruch der Molaren von 13 Tage alten Mäusen liess sich eine azelluläre Zementablagerung am Dentin der Zahnwurzeln feststellen. Erst ab dem 21. Lebensstag können erste Zellen in der Zementschicht nachgewiesen werden. Die *Dlx2*-Expression im Bereich der Wurzelscheide war intensiv. Kurz vor dem Durchbruch und während des Durchbruchs der Molaren war die Expression von *Dlx2* in einigen Zementblasten, die azelluläres Zement bilden, vorhanden. Während der zellulären Zementbildung fiel die Expression von *Dlx2* nur in einigen Zementozyten der

Wurzelspitze auf. Durch diese Daten konnten Lézot et al. (2000a) beweisen, dass das *Dlx2*-Homöobox-Gen nicht nur in frühen Stadien der Zahnentwicklung, sondern auch bei der Bildung von Zahnzement eine wichtige Rolle spielt.

Andere Homöobox-Gene, wie *Dlx5* und *Msx2*, sind an der Regulation der Osteocalcin-Genexpression der sich differenzierenden Osteoblasten beteiligt (Newberry et al., 1997; Ryoo et al., 1997). Eine Deletion des *Dlx5*-Genes beeinträchtigt die Mineralisation des Schmelzes (Depew et al., 1999; Acampora et al., 1999). *Dlx5* und *Dlx6* werden in fast identischen Bereichen wie *Dlx1* und *Dlx2* exprimiert (Qiu et al., 1997). Sie können den Verlust von *Dlx1* und *Dlx2* ausgleichen, so dass sich mandibulare Backenzähne normal entwickeln (Thomas et al., 1997).

*Dlx3* wird nicht im Zentralen Nervensystem exprimiert, sondern nur in einem sehr beschränkten Bereich im Branchialbogen (Robinson und Mahon, 1994; Weiss et al., 1995). Eine *Dlx3*-Mutation wird mit dem Auftreten des „Tricho-Dento-Osseous-Syndroms (TDO)“ in Verbindung gebracht (Price et al., 1998). Hierbei handelt es sich um eine autosomal dominant vererbte Fehlbildung (Wright et al., 1994). Im Phänotyp des „TDO-Syndroms“ erkennt man lockiges Haar, hypoplastischen Zahnschmelz, „taurodonte“ Zähne und eine Verdickung der Corticalis der Knochen (Seow, 1993). Price et al. (1999) gelang es mittels DNA-Sequenzierung, das „TDO-Syndrom“ von Amelogenesis imperfecta, das einen sehr ähnlichen Phänotyp aufweist, zu unterscheiden. Beim „TDO-Syndrom“ ist eine Deletion des *Dlx3*-Genes gegenüber der Amelogenesis imperfecta nachzuweisen.

Eine starke Expression von *Dlx2* im Zahnepithel während der Amelogenese lässt vermuten, dass das *Dlx2*-Gen eine Kontrolle auf die Differenzierung der Ameloblasten ausübt (Thomas et al., 1995). Zum weiteren Studium der *Dlx2*-Expression in Ameloblasten wurde auch hier wieder das Modell mit dem *Dlx2/lacZ*-Transgen herangezogen. Es konnte eine starke Expression von *Dlx2* in Ameloblasten nachgewiesen werden, die sich noch vor der eigentlichen sekretorischen Phase befanden (Thomas et al., 1995). Interessanterweise verhielt sich die Aktivität des *Dlx2*-Genes linear invers zur Dicke des Schmelzes, und war dabei umso stärker exprimiert je dünner die Schmelzdicke war (Lézot et al., 2000b).

## 7. *Fgf*

### *Fibroblast growth factor*

Über saure wie basische Fibroblasten Wachstumsfaktoren (aFgf und bFgf) ist bekannt, dass sie an bestimmten Komponenten der extrazellulären Matrix, wie z. B. Proteoglykanen, binden. Dadurch regulieren sie in vitro die Proliferation, Differenzierung und Morphologie von Zellen mit neuroektodermalem und mesodermalem Ursprung (Cam et al., 1992). *Fgf8* beispielsweise ist in der Lage, die Expression des Wachstumsfaktors *Activin  $\beta A$* , sowie der Transkriptionsfaktoren *Dlx1* und *Dlx2* (Bei und Maas, 1998), *Alx3* (Ten Berge et al., 1998), *Barx1* (Tucker et al., 1999), *Pax9* (Neubüser et al., 1997) und *Msx1* (Kettunen und Thesleff, 1998) zu induzieren. Epitheliales *Fgf8* leitet darüber hinaus die Expression der Transkriptionsfaktoren *Lhx6* und *Lhx7* (Grigoriou et al., 1998) im Mesenchym ein.

Um die Rolle der Fibroblasten Wachstumsfaktoren bei der Regulation der Zahnmorphogenese aufzuklären, wurden die Expressionsmuster von *Fgf4*, *-8* und *-9* bei der Entwicklung der Zahnanlagen der Molaren und der Schneidezähne bei Mäusen durch in situ Hybridisierung analysiert (Kettunen und Thesleff, 1998). Die Expression dieser *Fgfs* wurde durch epitheliale Zahnzellen auf ein Stadium beschränkt, in dem epithelial-mesenchymale Signale kritische Punkte in der Morphogenese regulieren. *Fgf8*- und *Fgf9*-mRNAs waren im Mundhöhlenepithel des ersten Branchialbogens am zehnten Embryonaltag nachweisbar. Einen Tag später war die Expression in dem mutmaßlichen Gebiet des Zahnepithels stark eingeschränkt und hörte schließlich ganz auf, als die epitheliale Sprossung begann. *Fgf8*-mRNA wurde in der weiteren Entwicklung des Zahns nicht mehr gefunden. Die Expression von *Fgf4* und *Fgf9* war im primären Schmelzknoten aufreguliert. Später wurden *Fgf4* und *Fgf9* in den sekundären Schmelzknoten exprimiert. Die *Fgf9*-Expression weitete sich vom primären Schmelzknoten bis in das innere Schmelzepithel aus, wo es bis zum 18. Embryonaltag auch verblieb. In den ständig wachsenden Schneidezähnen persistierte die *Fgf9*-Expression im Epithel der cervicalen Schleifen. Die Wirkung der *Fgfs* wurde anhand der Expression der Homöobox enthaltenen Transkriptionsfaktoren *Msx1* und *Msx2* analysiert (Kettunen und Thesleff, 1998). Lokal applizierte *Fgf4*, *-8* und *-9* stimulierten intensiv die Expression von *Msx1* und *Msx2* im isolierten Zahnmesenchym. Daraus lässt sich schließen, dass die drei *Fgfs* als epitheliale Signale Interaktionen zwischen dem Zahnepithel und dem Zahnmesenchym während der verschiedenen Stadien der Zahnentstehung steuern. *Fgf8* und *Fgf9* spielen somit eine Rolle bei der Initiation der Zahnentwicklung während *Fgf4* und *Fgf9* die Zahngestaltung regulieren. *Fgf9* ist

vermutlich auch an der Differenzierung der Odontoblasten beteiligt. Die gleichzeitige Expression von *Fgfs* und anderen Signalmolekülen wie *Shh* und verschiedene *Bmps*, sowie deren teilweise ähnlichen Effekte, lassen vermuten, dass *Fgfs* am Signalnetzwerk während der Odontogenese beteiligt sind (Kettunen und Thesleff, 1998).

#### 8. *Fgfr2(IIIb)/ Kgfr/Bek*

##### *Fibroblast growth factor receptor 2 III b*

Das Gen für den Fibroblasten Wachstumsfaktor Rezeptor-2 (*Fgfr2*) codiert für zwei Varianten, den Keratinozyten Wachstumsfaktor (*Kgfr*) und *Bek*. Ihre Spezifität Liganden zu binden ist unterschiedlich. Es wurde untersucht, ob die alternative Expression von Exons, außer der Beeinflussung der Rezeptorspezifität, auch zu einer Transkription führt. Dieses Problem wurde mittels in situ Hybridisierung und PCR studiert (Orr-Urtreger et al., 1993), wobei Sonden und spezifische Primer für das alternative Exon von *Fgfr2* verwendet wurden. Transkripte beider Varianten wurden in allen drei Keimblättern sowie in embryonalen und extraembryonalen Bereichen des Primitivstreifens, nachgewiesen (Orr-Urtreger et al., 1993). Die Intensivität der *Kgfr*-Expression übertraf die von *Bek*. Die lokalisierte Expression beider Rezeptoren war in der Gastrula diffuser als später in der Organogenese, wo *Kgfr*-Transkripte hauptsächlich im Epithel, *Bek* hingegen eher im korrespondierenden Mesenchym, vorhanden war (Le Guiner et al., 2001). *Kgfr* und *Bek* scheinen eine wichtige Rolle in der Entwicklung von Haut und Hautanhangsorganen zu spielen. Die alleinige Expression von *Bek* scheint vor allem während der Osteogenese wichtig zu sein (Orr-Urtreger et al., 1993).

## 9. *Fibulin1 und -2*

Fibulin1 und Fibulin2 sind extrazelluläre Proteine mit gemeinsamen Strukturmerkmalen. Fibulin2-mRNA und sein Protein werden stark in Geweben exprimiert, die sich vom Mesenchym der Neuralleiste ableiten. Epitheliale und mesenchymale Interaktionen von Fibulin1- und Fibulin2-mRNA und ihren Proteinen wurden unter anderem auch während der Zahnentwicklung festgestellt (Zhang et al., 1996).

## 10. *Gelatinase A*

### *Matrix metalloproteinase 2*

Die Gelatinase A ist eine Matrix metalloproteinase (MMP), die zusammen mit anderen MMPs eine wichtige Rolle bei der Schmelz- und Dentinmineralisation spielt (Caron et al., 2001). Während des Knospenstadiums werden MMP1, -2, -3 und -9 im Epithel und Mesenchym exprimiert (Randall und Hall, 2002).

Durch in situ Hybridisierung wurde Typ IV Kollagenase (72 kDa) nachgewiesen, die in den fortgeschrittenen Stadien der Zahnmorphogenese in Erscheinung tritt (Sahlberg et al., 1992 und 1999). Während im Epithel zu keinem Zeitpunkt der Zahnentwicklung eine Expression von Typ IV Kollagenase-Gen gefunden wurde, war das Zahnmesenchym während der frühen Entwicklungsstadien stets positiv. Eine vermehrte Expression konnte während des Glockenstadiums in den Präodontoblasten festgestellt werden. Die Expression erfuhr während des sekretorischen Stadiums der Odontoblasten ihren

Höhepunkt. Danach, während der Mineralisation des Dentins, entwickelte sich die Expression rückläufig, bis sie schließlich ganz versiegte. Der gesteigerten Expression des Kollagen IV Gens in den Odontoblasten geht eine Rückbildung der Basalmembran voraus. Zum Zeitpunkt, an dem Typ IV Kollagenase-Transkripte nicht mehr in den Odontoblasten nachweisbar sind, hat sich die Basalmembran vollständig zurückentwickelt. In den frühen Entwicklungsstadien verhalten sich die Expressionsprodukte des Typ IV Kollagenase Gens wie eine Gelatinase, während es sich in den späteren Entwicklungsstadien eher wie eine Typ IV Kollagenase verhält und zum Abbau der Basalmembran beiträgt (Sahlberg et al., 1992 und 1999).

#### 11. *Gli 1, -2, -3*

##### *Glioblastoma 1, -2, -3*

*Gli1, -2* und *-3* werden während der frühen Entwicklungsstadien im Epithel als auch im Mesenchym exprimiert (Johnston, 1967; Vortkamp et al., 1991 und 1992; Mo et al., 1997). *Gli2* und *Gli3* Knockout Mäuse sterben bei der Geburt. *Gli2*-Mutanten weisen schwere Fehlbildungen im Bereich der Zähne, des Gaumens, der Gliedmaßen, des Sternums, der Wirbelsäule und des Schädels auf (Hardcastle et al., 1998). Die Schneidezähne sind entweder gar nicht ausgebildet, oder die Zahnanlagen fusionieren zu einem einzelnen, zentralen Schneidezahn (Hardcastle et al., 1998; Mo et al., 1997). Immer ist die Zahnfehlbildung von einer mild ausgeprägten Holoprosencephalie begleitet.

*Gli3* mutierte Mäuse weisen Abweichungen in der Entwicklung des Neuralrohres auf. Sie haben Defekte des Gaumens und des Schädels. Darüber hinaus kommen schwerwiegende Polysyndactyliien und Verkürzungen der Tibiae vor (Johnston, 1967; Schimmang et al., 1993; Hui et al., 1994; Mo et al., 1997). Schwerwiegende Zahnanomalien treten bei *Gli3* Knockout Mäusen nicht auf.

*Gli2/Gli3*-doppel-homozygote Mutanten zeigten keine normale Zahnbildung und starben spätestens am 14,5. Embryonaltag (Mo et al., 1997).

Bei der Konstellation *Gli2*(-/-)/*Gli3*(+/-) überlebten die Embryonen bis zur Geburt. Sie wiesen kleine Molaren und Schneidezähne im Unterkiefer auf. Die Schneidezähne des Oberkiefers sind nur als rudimentäre Verdickungen vorhanden (Hardcastle et al., 1998).

## 12. *Integrin beta 5*

Integrin-Rezeptoren extrazellulärer Matrixproteine spielen eine wichtige Rolle in der Morphogenese. Sie vermitteln die embryonale Zelladhäsion und -migration. In wachsenden Zähnen von Mäusen sind Integrin beta 5-Transkripte in hohen Konzentrationen nachweisbar. Die Expression des Gens wechselt hierbei zwischen dem Epithel und Mesenchym. Jeder Wechsel ist innerhalb eines Tages abgeschlossen. Diese Resultate demonstrieren, dass Integrin-mRNA präzise innerhalb kürzester Zeit auf- und abreguliert werden kann (Yamada et al., 1994).

### 13. *Laminine*

*Kalinin, Nicein, Epiligrin*

Viele Vorgänge der Zahnmorphogenese werden durch epithelial-mesenchymale Interaktionen, die durch die Basalmembran vermittelt werden, reguliert (Pakkala et al., 2002). Laminine sind größere Glykoproteinkomponenten der Basalmembran, die in verschiedene zelluläre Aktivitäten einbezogen sind (Oksanen und Hormia, 2002; Wahlgren et al., 2003). Durch in situ Hybridisierung und Immunhistochemie wurden die Expression und Lokalisation der alpha3, beta3 und gamma2 Laminin-5 Untereinheiten während der Entwicklung der Zahnmolaren bei der Maus analysiert (Yoshida et al., 1998). Am 12. Embryonaltag wurde mRNA aller Untereinheiten im gesamten Zahnepithel und das dazugehörige Protein in der Basalmembran nachgewiesen. Während des Kappenstadiums (13.-14. Embryonaltag) können die Transkripte der alpha3 und gamma2 Untereinheit im äußeren Zahnepithel, die der beta3 Untereinheit im inneren Zahnepithel nachgewiesen werden. Während des frühen Glockenstadiums (16. Embryonaltag) verschwand die Immunreaktivität aller Untereinheiten von der Basalmembran entlang des inneren Zahnepithels, obwohl intensive Signale für beta3-mRNA in Zellen des inneren Zahnepithels registriert wurden. Später, nach Sekretion der Zahnmatrix durch die Odontoblasten (18.-19,5. Embryonaltag), wurde die mRNA aller drei Untereinheiten von den Ameloblasten reexprimiert. Das dazugehörige Protein lässt sich in Ameloblasten und in der Schmelzmatrix nachweisen. In Experimenten mit Geweberekombinationen, in denen das innere oder das äußere Zahnepithel (16. Embryonaltag) mit dem Mesenchym der Zahnpapille (18. Embryonaltag) in Verbindung gebracht wurden, verschwand die Immunfärbung aller Laminin-5-Untereinheiten aus der

Basalmembran (Yoshida et al., 1998). Wenn sie hingegen mit nicht spezifischem Mesenchym, wie z.B. dem Mesenchym der Gliedmaßenknospen, 48 Stunden kultiviert wurden, blieb eine positive Färbung zurück. Diese Ergebnisse zeigen, dass die zeitlich-räumliche Expression der Laminin-5-Untereinheiten in der Zahnentwicklung, kontrolliert durch das Zahnmesenchym, mit der Histo- und Morphogenese des Schmelzorgans sowie der Differenzierung der Ameloblasten in Zusammenhang gebracht werden kann (Yoshida et al., 1998).

#### 14. *Lef1*

##### *Lymphoid enhancer factor1*

Lef1 ist ein Protein, das an spezifische Sequenzen der DNA bindet. Zusammen mit Tcf1, das auch im ersten Kiemenbogen exprimiert wird, lässt es sich in die große Familie der High Mobility Group-domain proteins (HMG) einordnen, welche wiederum zu den Transkriptionsfaktoren zählen (Oosterwegel et al., 1993). *Lef1* wird in Prä-B- und T-Lymphozyten ausgewachsener Mäuse in der Neuralleiste, im Mesencephalon, den Zahnanlagen, den Bartfollikeln und anderen Bereichen während der Embryogenese exprimiert (Zhao et al., 2000).

Eine *Lef1*-Expression ist während des Initialstadiums im Epithel nachweisbar. Obwohl sie zwischen Epithel und Mesenchym wechselt, induziert *Lef1* im Epithel ein Signal für die weitere mesenchymale Entwicklung. Jedoch konnte nachgewiesen werden, dass

*Lef1*-Knockout-Mäuse anscheinend auch auf anderem Wege als über *Lef1* das epitheliale Signal erhielten und *Bmp4* und *Msx1* im Mesenchym exprimierten.

*Lef1* wird zusammen mit *Msx1* und *Msx2* durch *Bmp2* und *Bmp4* im Epithel induziert. Die epitheliale *Lef1*-Expression gleicht der von *Shh* und findet im frühen Epithel in den Zahnanlagen, im Gaumen und im Schmelzknoten statt (Oosterwegel et al., 1993).

Während die mesenchymale *Lef1*-Expression im Bereich des Diastemas herunterreguliert wird, zeigt sich im Bereich der Molaren und der Schneidezähne eine erhöhte Expression.

*Lef1*-Expression an falscher Stelle bzw. eine Überexpression kann ektopische Zahnanlagen bewirken (Van Genderan et al., 1994; Zhao et al., 2000).

Wird *Lef1* während der Entwicklung ausgeschaltet, entwickeln Mäuse neben anderen Missbildungen, wie das Fehlen von Haaren und Schnurrhaaren, keine normalen Zähne. Ihre Entwicklung bleibt im Kappenstadium stecken (Zhao et al., 2000). Das Epithel formt eine zusätzliche Invagination, was zu einer Fehlentwicklung der Zähne führt (Kratochwil et al., 1996). *Lef1* hat vermutlich auch Einfluss auf den *Wnt*-Signalpfad (Van Genderen et al., 1994; Keränen et al., 1999).

Um die Bedeutung der Gene der rudimentären diastemalen Zahnanlagen zu erforschen, wurden die Expressionsmuster der Gene, die für Signalproteine codieren (*Bmp2*, *Bmp4*, *Fgf4*, *Fgf8*, *Shh*) sowie ihre intrazellulären Ziele (*Lef1*, *Msx1*, *Msx2*, *Pit2*,

*Pax9*, *p21*) zwischen den diastemalen Zahnanlagen und den Molaren verglichen (Vainio et al., 1993; Chen et al., 1996; Kratochwil et al., 1996; Tucker et al., 1998a).

Vier miteinander verknüpfte Signalpfade spiegeln die Funktion der Gene wieder, nämlich Bone Morphogenetic Protein (*Bmp*), Fibroblast Growth Factor (*Fgf*), Sonic Hedgehog (*Shh*) und Wingless (*Wnt*). Alle diese Gene haben eine große Bedeutung in der Zahnentwicklung. Beispielsweise werden *Bmp4* und *Fgf8* im frühen Zahnepithel exprimiert. Im Mesenchym bewirkt *Bmp4* die Expression von *Msx1*, *Msx2* und *Lef1* (Vainio et al., 1993; Chen et al., 1996; Kratochwil et al., 1996; Tucker et al., 1998a), während *Fgf8* im Mesenchym die Expression von *Pax9* und *Msx1* induziert (Neubüser et al., 1997).

*Msx1* und *Pax9* wiederum wirken auf das mesenchymale *Bmp4*, welches auf das Epithel einwirkt und die *p21*-Expression auslöst. Dadurch wird der Übergang vom Knospen- in das Kappenstadium eingeleitet. Zusätzliche Gene, wie z.B. das epitheliale *Lef1*, sind für den Wechsel vom Knospen- in das Kappenstadium notwendig und können bei fehlerhafter Expression ektopische Zahnanlagen bewirken (Keränen et al., 1999).

#### 15. *Lhx6*, *Lhx7*, *Lhx8*

### *Lim-homeobox domain gene*

*Fgf8* des Mundhöhlenepithels induziert die Expression von *Lhx6* und -7 im darunterliegenden Ektomesenchym der Neuralleiste im ersten Kiemenbogen (Tucker and Sharpe, 1999). *Lhx7* und *Lhx8* sind ähnlich bzw. identisch (Wanaka et al., 1997; Kitanaka et al., 1998). Die Zahnentwicklung beginnt mit der Expression von *Lhx6* und -7 (Grigoriou et al., 1998). Ab dem 9. Embryonaltag ist eine schwache Expression beider Gene zu verzeichnen, die zwar nicht in einer bestimmten Zelllinie des Ektomesenchyms aufzufinden sind, sondern im Mundhöhlenepithel (Tucker und Sharpe, 1999). Der zweite Kiemenbogen, in dem normalerweise *Lhx6* und -7 nicht vorkommen, kann zur Expression der beiden Gene angeregt werden, wenn er mit dem Epithel der Mundhöhle im ersten Kiemenbogen in Kontakt kommt. Umgekehrt kann die Expression von *Lhx6* und -7 im Mesenchym des ersten Branchialbogens durch Kontakt mit dem Epithel des zweiten Branchialbogens herunterreguliert werden (Grigoriou et al., 1998). Diese Ergebnisse zeigen, dass die lokalen Interaktionen, die die orale-aborale Polarität bestimmen, nicht wie ursprüngliche vermutet, ein genetisch fixiertes Entwicklungsprogramm der Neuralleiste sind.

### 16. *MFRp2*

### *Fizzled related protein*

Durch in situ Hybridisierung wurden die Transkripte von sechs *Wnt*-Genen (*Wnt3*, -4, -5a, -6, -7b und -10b) sowie der Wnt-Rezeptor MFz6 und Agonist/Antagonist MFrzb1 und MFrp2 nachgewiesen (Sarkar und Sharpe, 1999). Ihre Expression findet während des Initialstadiums bis ins Glockenstadium statt (Dassule und McMahon, 1998; Hoang et al., 1998). *Wnt4*, *Wnt6* und der Wnt-Rezeptor *MFz6* werden im Gesicht, im Mundhöhlen- und Zahnepithel exprimiert. *Wnt10b* konnte nur im Zahnepithel lokalisiert werden. *Wnt3* und *Wnt7b* sind nur im Mundhöhlenepithel aktiv. Eine eingeschränkte Expression von *Wnt3* wird auch im Schmelzknoten registriert (Sarkar und Sharpe, 1999). *Wnt6*, *10b* und *MFz6* konnten im Schmelzknoten nachgewiesen werden. *Wnt5a* und *MFrzb1* werden stark im Mesenchym der Zahnpapille exprimiert (Jernvall et al., 1994; Sarkar und Sharpe, 1999; Sarkar und Sharpe, 2000). Zahnanlagen, die am 10,5. Embryonaltag mit exogenem MFrzb1 behandelt werden, zeigen eine verzögerte Zahnentwicklung bzw. wachsen die betroffenen Zahnanlagen nicht zur vollen Größe heran (Sarkar und Sharpe, 2000).

## *Midkine*

*Midkine* ist das erste geklonte Gen einer neuen Familie heparinbindender Wachstums- bzw. Differenzierungsfaktoren, das in die Regulation von Wachstum und Differenzierung eingreift (Zou et al., 2003). Eine *MK*-Expression erfolgt nur im Bereich der Zähne. *MK*-mRNA und sein Protein werden während der gesamten Zahnentwicklung im Epithel und Mesenchym exprimiert. Jedoch erfolgt die Expression der mRNA und des Proteins mit deutlichen Unterschieden zwischen den einzelnen Stadien. Dies deutet auf parakrine Funktionen von *Midkine* hin. Experimente, in denen Epithel und Mesenchym rekombiniert wurde, zeigten, dass die Expression von *MK*-Gen und *MK*-Protein im wesentlichen durch epithelial-mesenchymale Interaktionen reguliert wird, und dass das Zahngewebe in der Lage ist, eine ektopische Expression von *MK*-Protein zu bewirken (Mitsiadis et al., 1995a). Durch lokale Applikation von Retinolsäure im Bereich des Zahnmesenchyms am Unterkieferbogen, konnte eine Expression des *MK*-Gens induziert werden. Die Morphogenese und Zelldifferenzierung der Zahnanlagen können durch neutralisierenden *MK*-Antikörper gehemmt werden, wohingegen die Entwicklung anderer Organe wie z.B. der Speicheldrüsen und der Nieren nicht beeinflusst wurde (Mitsiadis et al., 1995a).

Mittels *in situ* Hybridisierung ließ sich eine Expression von *MK* in vielen Organen nachweisen, die nicht immer mit der Verteilung von *MK*-Protein im sich entwickelnden Gewebe übereinstimmte. In den Organanlagen wie z. B. den Gliedmaßenknospen und im Gesichtsbereich wurde *MK* (sowie HB-GAM bzw. Pleiotrophin) zusammen mit *Syndecan1*, einem Zelloberflächenproteoglykan exprimiert.

MK, HB-GAM sowie Syndecan1 wurden hierbei im Epithel und im angrenzenden Mesenchym lokalisiert, wobei MK und HB-GAM Syndecan1 banden. Die biologischen Effekte von MK und HB-GAM im Bereich der Gliedmaßen und im Gesichtsmesenchym wurden durch Proteinapplikation in vitro studiert. Weder MK noch HB-GAM bewirkten eine mesenchymale Zellproliferation oder induzierten eine Expression von *Syndecan 1* (Mitsiadis et al., 1995c).

#### 18. *Msx1, Msx2 (Hox-7, Hox-7.1, Hox-8)*

##### *Murine msh-like homeobox gene*

*Msx1* und *Msx2* sind Mitglieder der Homöobox-Gen-Familie Msh (Muscle segment homeobox). Beide Gene werden im Embryo im craniofacialen Bereich, besonders in Regionen epithelial-mesenchymaler Organogenese, wie z.B. der Zähne, Augen und Ohren, exprimiert. *Msx1*, das auf dem Chromosomenabschnitt 4p lokalisiert ist, wirkt ausschließlich im Mesenchym von Zahnpapille und Zahnfollikel (MacKenzie et al., 1992), während *Msx2* im Zahnepithel und im Mesenchym der Zahnpapille auftritt (Jowett et al., 1993; Liu et al., 1994). Eine Expression von *Msx2* findet im Mundhöhlenepithel, auf der Seite der Zahnplakoden statt. Bei den Molaren wird der Bereich der *Msx2*-Expression später in die Invagination der Zahnlamelle mit einbezogen. Während des Kappenstadiums wird so das äußere Schmelzepithel gebildet. Die ursprüngliche *Msx2*-Expression wird durch eine Expression von *Msx2* in der Mitte des Schmelzes, im Schmelzknoten, im Schmelzseptum und im inneren Schmelzepithel verstärkt. Im Knospenstadium findet man eine verstärkte Expression von *Msx2* auf der buccalen

Seite der Zahnanlage. Von dort zieht sich im Kappenstadium die verstärkte Expression von *Msx2* über einen Schmelznabel bis hin zum Schmelzknoten, der direkt über der Invagination zur Zahnpapille im Epithel liegt. Im Glockenstadium schließlich lässt sich eine verstärkte Expression von *Msx2* symmetrisch am äußeren und inneren Schmelzepithel lokalisieren (MacKenzie et al., 1992). Schmelznabe, -septum und -knoten kommen in den kegelförmigen Schneidezähnen nicht vor. *Msx2* wird hier symmetrisch exprimiert. Im Glockenstadium wechselt die Expression von *Msx2* vom epithelialen Gewebe in den Ameloblasten zur mesenchymalen Ausprägung in den Odontoblasten (MacKenzie et al., 1992). *Msx2* scheint ebenfalls bei der Stimulation der Apoptose im Schmelzknoten eine Rolle zu spielen (Maas und Bei, 1997).

Die Signalmoleküle des Epithels, *Bmp4* und *Fgf8*, sind in der Lage ab dem 10,5. Embryonaltag eine Expression von *Msx1* und *Msx2* im Zahnmesenchym zu induzieren (Vainio et al., 1993; Bei und Maas, 1998; Kettunen und Thesleff, 1998; Tucker et al., 1998a). Durch *Msx1*-Knockout-Mäuse konnte nachgewiesen werden, dass *Msx1* eine positive Rückkopplung auf die Ausbildung von *Bmp4* und *Fgf3* im Mesenchym hat (Chen et al., 1996; Bei und Maas; 1998). Eine Hemmung von *Bmp4* durch Noggin führt zur Unterdrückung der *Msx1*-Expression (Zimmerman et al., 1996; Tucker et al., 1998a). *Msx1* scheint eine große Rolle bei der Entstehung des Schmelzknotens zu spielen, da *Msx1* stark im mesenchymalen Bereich der Zahnknospe exprimiert wird und die Zahnentwicklung bei *Msx1*-Knockout-Mäusen im Knospenstadium stecken bleibt (Satokata und Maas, 1994).

Die Homöobox-Gene *Fgf8* und *Bmp4* regulieren jedoch auch die Expression von *Dlx*-Genen (Bei und Maas, 1998). In neuesten Studien (Green et al., 2001) konnte

nachgewiesen werden, dass *Msx2* antagonistisch zu *Pitx2* an Sequenzen im Promotor von *Dlx2* bindet. Durch Proteininteraktionen ist *Msx2* auch in der Lage, das Transkriptionsmolekül von *Dlx5* funktionell zu antagonisieren (Green et al., 2001).

In Mäusefamilien mit autosomal dominant vererbten Aplasien der Zähne wurde durch Sequenzanalysen (Hu et al., 1998) eine Arg31Pro-missense Mutation in der Homöodomäne von *Msx1* festgestellt. Die Aminosäure Prolin wird auf Grund einer Punktmutation durch Arginin ersetzt (Hu et al., 1998). Arg31 interagiert dort mit dem Ribosephosphatrest der Ziel-DNA (Vastardis et al., 1996). Die biochemische Aktivität sowie die Thermostabilität des mutierten *Msx1*-Proteins sind verglichen mit dem Wildtyp stark herabgesetzt. Es ist nicht in der Lage, das Wildtyp *Msx1*-Protein in vitro zu antagonisieren (Hu et al., 1998). Zielgerichtetes Ausschalten von *Msx1* in transgenen Mäusen führt zu einer Hemmung der Zahnentwicklung im Knospenstadium, zur Bildung von Gaumenspalten und zu einer mangelhaften Ausprägung der Alveolen im Unter- und Oberkiefer. Darüber hinaus zeigen diese Tiere auch Anomalien der Nase, der frontalen und seitlichen Schädelknochen und des Malleus im Mittelohr (Satokata und Maas, 1994). Wird zusätzlich das *Msx2*-Gen ausgeschaltet, wird die Zahnentwicklung bereits im Initialstadium gehemmt.

19. p63

*Protein63*

p63 ist ein DNA-bindendes Protein, das zu p53 homolog ist. Es ist ein gut charakterisierter Tumorsuppressor, der den Zellzyklus und die Apoptose reguliert (Mills et al., 1999; Yang et al., 1999). p63 wurde bisher bei Menschen, Mäusen und Ratten gefunden. In der Maus konnte p63 am 9,5. Embryonaltag im Branchialbogen, im Mundektoderm, in den Gliedmaßenknospen und in der Schwanzknospe nachgewiesen werden. In späteren Stadien der Entwicklung erscheint p63 primär in der Basalschicht des Ektoderms und der äußeren Wurzelscheide der Haarfollikel. Bei erwachsenen Mäusen findet die Expression auch im Skelettmuskel statt.

Zwei Forschergruppen entwickelten eine p63-Knockout-Maus (Mills et al., 1999; Yang et al., 1999). Diese Mäuse sterben kurz nach der Geburt und weisen Defekte im Bereich der Epidermis auf. Dies führt zu einem großen Wasserverlust über die Haut und so zum Tod durch Dehydratation (Mills et al., 1999). Ein Ausbleiben der Bildung des apikalen Ektodermalkamms führt zu einer Verstümmelung der Vordergliedmaßen und zum kompletten Fehlen der Hintergliedmaßen (Mills et al., 1999). Die Knockout-Mäuse haben auch keine Zähne, kein Fell, kein Gesäuge sowie keine Speichel- und Tränendrüsen. Auch die Schichtung im übrigen Epithel ist abnormal (Mills et al., 1999; Yang et al., 1999). Das Ausbleiben der Entwicklung verschiedener Organe wird in der Störung der epithelial-mesenchymalen Interaktion vermutet. In p63-Knockout-Mäusen ist die *Fgf8*-Expression im apikalen Ektodermalkamm stark erhöht. Folglich bleibt die Expression des Transkriptionsfaktors *Msx1* im darunterliegenden Mesenchym aus (Mills et al., 1999). Die Expression des *Lef1*-Transkriptionsfaktors findet weder in der Haut

noch im Bereich der Haarfollikel oder in den Epithelknospen der sich entwickelnden Milchdrüsen statt (Mills et al., 1999).

Der *p53*-Tumorsuppressor ist ein Transkriptionsfaktor, der wesentlichen Einfluss auf Zellzyklus und Zelltod hat. Obwohl durch *p53* diese kritischen Zellprozesse gesteuert werden, entwickeln sich *p53*-Knockout-Mäuse während der Embryogenese normal. Bei *p63* und *p73* handelt es sich um Homologe von *p53*. Im Gegensatz zu *p53* ist *p63* essentiell für die ektodermale Differenzierung während der Embryogenese (Mills et al., 1999).

## 20. *Pax9*

### *Paired box gene*

*Pax*-Gene sind eine Familie von homologen Entwicklungskontrollgenen, die für nukleäre Transkriptionsfaktoren kodieren. Sie werden durch paarige Domänen charakterisiert, die als konservierte Aminosäuren DNA-bindende Aktivität aufweisen. Ursprünglich wurden Gene, die paarige Domänen (paired-box) enthalten, in *Drosophila melanogaster* entdeckt, wo sie vielfältige Funktionen während der Embryogenese erfüllen. Dies trifft auch für Wirbeltieren zu. Mutationen in vier von neun *Pax*-Genen werden mit congenitalen Erkrankungen des Menschen, wie Waardenburg Syndrom (*Pax3*), Aniridie (*Pax6*), Peters-Anomalie (*Pax6*) und Nierensäulchen-Syndrom (*Pax2*) in Verbindung gebracht. Analysen von spontanen wie induzierten Mutationen in Mäusen zeigen, dass *Pax*-Gene Schlüsselregulatoren für die Organogenese von Nieren, Augen, Ohren, Nase,

Muskulatur der Gliedmaßenknospen, der Wirbelsäule und des Gehirnes sind (Peters et al., 1998). Möglicherweise bestimmen *Pax*-Gene Zeit und Ort der Organogenese bzw. Morphogenese. Für die meisten Gewebe ließ sich die Wirkung von *Pax*-Transkriptionsfaktoren schon aufklären (Dahl et al., 1997). Das *Pax1*-Gen ist nah verwandt mit dem *Pax9*-Gen. Diese Gene werden teilweise koexprimiert. Beide Gene werden im Endoderm der Schlundtaschen und daraus abgeleitetem Gewebe (ab dem neunten Embryonaltag), sowie in sklerotomalen Teilen der Somiten (ab dem 10,5. Embryonaltag) exprimiert.

Um die Funktion der *Pax*-Gene in vivo zu analysieren, wurde eine *Pax9*-Knockout-Maus generiert. Dadurch konnte gezeigt werden, dass *Pax9* essentiell für die Entwicklung unterschiedlicher Organe ist (Peters et al., 1998). Homozygote *Pax9*-Mutanten sterben kurz nach der Geburt; meist infolge einer Gaumenspalte. Ihnen fehlen alle Organe, die sich von den Schlundtaschen ableiten, wie Thymus, Nebenschilddrüsen und Ultimobranchialer Körper. An allen Gliedmaßen sind präaxial zusätzliche Zehen ausgebildet, aber die Beugemuskeln an den Zehen der Hintergliedmaßen fehlen. Außerdem wird die craniofaciale und viscerale Skeletogenese unterbrochen, wodurch Zähne nicht ausgebildet werden. Die heterozygoten Tiere, die ein intaktes Allel besitzen, erscheinen dagegen vollständig normal. Die Organogenese von Vertebraten beginnt oft an Stellen, die morphologisch nicht vom umgebenden Gewebe unterscheidbar sind. *Pax9* wurde noch vor der ersten morphologischen Manifestation der Organogenese als Indikator für das künftige Zahnmesenchym entdeckt. Es wurde nachgewiesen, dass die *Pax9*-Expression im Mandibularbogen durch die kombinierte Aktivität von zwei Signalen moduliert wird. *Fgf8* induziert die *Pax9*-Expression, während sie von *Bmp2* und *Bmp4*

am 10,5. Embryonaltag gehemmt wird (Tucker et al., 1998a). Das lässt vermuten, dass die Position der Zähne durch eine Kombination zweier unterschiedlicher Signalmoleküle bestimmt wird, die in weiten und überlappenden Domänen exprimiert werden (Neubüser et al., 1997). Die Zahnentwicklung sistiert bei *Pax9*-Knockout-Mäusen bereits im Knospenstadium. In diesem Stadium sorgt *Pax9* für die mesenchymale Expression von *Bmp4*, *Msx1* und *Lef1*. Der Defekt wirkt sich nur im Mesenchym und nicht im Epithel aus. Das Mesenchym ist nicht in der Lage, *Bmp4*-Wachstumsfaktor zu exprimieren. Auch die Transkriptionsfaktoren *Msx1* und *Lef1* sind im 12 Tage alten Embryo der Knockout-Maus herunterreguliert. Es wird daher vermutet, dass *Pax9* die Expression von *Bmp4* in mesenchymalen Zellen, die für die Ausbildung von *Msx1* und *Lef1* notwendig ist, reguliert (Peters et al., 1998).

## 21. *Pitx2/Otlx2/Rieg1*

*Pitx* – Pituitary homeobox gene

*Otlx* – Mäusehomolog zu *Drosophila orthodenticle (Otd)*

*Rieg* – Rieger-Syndrom

*Pitx2* ist ein bicoid-ähnlicher Transkriptionsfaktor, der zusammen mit *Msx2* und *Dlx2* im Zahnepithel während der Zahnentwicklung exprimiert wird (Muccielli et al., 1996; St. Amand et al., 2000). Bereits im Knospenstadium um den 8,5. Tag wird eine Expression von *Pitx2* im Zahnepithel verzeichnet. In späteren Stadien der Zahnentwicklung ist die Expression von *Pitx2* sowie *Dlx2* und *Msx2* auf das innere Schmelzepithel, aus dem die Ameloblasten hervorgehen, beschränkt. In Präameloblasten lässt sich noch eine

schwache Expression von *Pitx2* beobachten, während sie bei differenzierten Ameloblasten fehlt. Postnatal kann eine Expression auch im undifferenzierten Epithel der Zahnanlagen nachgewiesen werden (Green et al., 2001).

Das Rieger Syndrom wird mit einem mutierten *Pitx2*-Protein in Zusammenhang gebracht (Semina et al., 1996), das nicht mehr in der Lage ist, den Promotor-Bereich des *Dlx2*-Gens zu aktivieren (Amendt et al., 2000). Beim Rieger-Syndrom handelt es sich um einen autosomal dominant vererbten Fehlbildungskomplex. Hierbei treten Abnormalitäten der vorderen Augenkammer, Hypodontie sowie hyperplastische Zähne und Abweichungen im Bereich des Nabelstumpfes auf. Das verantwortliche Gen für die Fehlbildungen wurde 1996 von Semina et al. geklont. *Rieg* ist ein Homöobox-Gen, das mit dem Drosophila Gen „bicoid“ verwandt ist. Die Analyse der Expression in Mäusen zeigte, dass es im mandibularen und maxillaren Epithel während der Zahnmorphogenese exprimiert wird (Semina et al., 1996). Unabhängig von Semina et al. (1996) wurde das Mäusegen auch von einer anderen Forschergruppen geklont und *Otlx2* genannt (Muccielli et al., 1996). Es konnte gezeigt werden, dass die Expression von *Rieg/Otlx2/Pitx2* bereits am 8,5. Embryonaltag im mutmaßlichen Zahnepithel stattfindet, und dass die Expression während der gesamten Zahnmorphogenese über anhält (Mucchielli et al., 1997). Es ist möglich, dass *Rieg/Otlx2/Pitx2* im Initialstadium an der Zahngestaltung beteiligt ist.

Untersuchungen in einer epithelialen Zelllinie (LS-8) ergaben, dass *Pitx2* die Transkription eines TK-Bicoid-Luciferase-Reporter-Gens aktivierte, während sie von *Msx2* gehemmt wurde (Green et al., 2001). In einer CHO Zelllinie (Chinese hamster

ovary, epithelial permanente Zelllinie) war Pitx2 in der Lage, an bicoid bzw. bicoid-ähnliche Elemente im *Dlx2*-Promotor zu binden und ihn zu aktivieren. Die Bicoid-Sequenz, an die Pitx2 im *Dlx2*-Promotor bindet, lautet, 5'-TAATCC-3'. Msx2 hingegen bindet sehr spezifisch an das Bicoid-Element 5'-TAATCC-3'. Durch RT-PCR und Western-Blots konnte gezeigt werden, dass zwei Isoformen von Pitx2 vorkommen. Das Protein von Pitx2A hat gegenüber Pitx2C ein niedrigeres Molekulargewicht. Eine dritte Isoform, das Pitx2B, konnte durch RT-PCR nicht gefunden werden (Green et al., 2001). Erstmals konnte jedoch gezeigt werden, dass Pitx2-Proteine durch ihre C-terminalen Enden miteinander agieren. Pitx2 ist auch in der Lage, Homodimere durch Interaktionen der Homöodomäne zu bilden (Green et al., 2001).

## 22. *Prx2/S8*

### *Paired-related homeobox gene*

*Prx1* und *Prx2* gehören zu den aristaless-related Homöobox-Genen, die zur korrekten Skeletogenese beitragen (Ten Berge et al., 2001). *Prx1* und *-2* codieren für zwei sehr ähnliche Proteine, die sowohl eine fast identische Homöodomäne haben, als auch über die stark konservierten Domänen aristaless-domain und prx-domain verfügen (Opstelten et al., 1991; Cserjesi et al., 1992; Kern et al., 1992; Ten Berge et al., 1998).

*Prx1* wird postmigratorisch im cranialen Mesenchym des Gesichts exprimiert. Weiter ist es erforderlich für die Ausdifferenzierung der Gewebe, die sich aus dem proximalen ersten Kiemenbogen ableiten. Es wurde *lacZ* an den *Prx1*-Genort eingebracht, um das Schicksal der Zellen zu verfolgen, die *Prx1* im *Prx1*-mutierten Umfeld exprimieren (Lu et

al., 1999). *LacZ* wurde in *Prx1* (neo) normal exprimiert, während *lacZ* im *Prx1*-(*lacZ*)-mutierten craniofacialen Mesenchym bis zum 11,5. Embryonaltag verstärkt exprimiert wurde. Zu späteren Zeitpunkten konnte *lacZ* in den unvollständigen Strukturen einer *Prx1* (neo) mutierten Maus nicht mehr nachgewiesen werden. Um die Hypothese zu überprüfen, dass *Prx1* und *Prx2* gemeinsame Funktionen übernehmen, wurde eine *Prx1* (neo)/*Prx2* (*lacZ*) Maus generiert. Die Doppelmutanten weisen neue Phänotypen mit Defekten im rostralen Bereich des Unterkiefer auf. Die Unterkieferschneidezähne wurden in ihrer Entwicklung gehemmt. Es waren keine Zahnanlagen, die sich im Knospenstadium befinden nachweisbar. Der Meckel Knorpel fehlte. Die Expression der beiden Marker der Zahnentwicklung, *Pax9* und *Patched*, waren herunterreguliert. Durch Verwendung eines Markers, der die Zellen unter der *Prx1*-exprimierenden Zelllinie im craniofacialen Mesenchym anzeigt, konnte nachgewiesen werden, dass Zellen im Hyoidbogen die Eigenschaften von Zellen im ersten Branchialbogen annahmen. Diese Daten zeigen, dass *Prx1* und *Prx2* koordiniert die Genexpression in den Zellen des distalen Mesenchyms im Mandibularbogen regulieren (Lu et al., 1999).

Das murine *Prx2/S8* Gen, das ursprünglich von Kongsuwan et al. (1988) entdeckt wurde, kodiert für eine Homöodomäne, die denen der „paired family“ ähnelt. Durch in situ Hybridisierung wurde die Expression von *S8* im mittleren Trächtigkeitsstadium studiert (Opstelten et al., 1991). Dabei konnte eine Expression im craniofacialen Mesenchym, in den Gliedmaßenknospen, im Herz, in den Somiten und Sklerotomen festgestellt werden. Dieses Muster unterscheidet sich deutlich von den früher beschriebenen Homöoboxgenen. Genetische Analysen ergaben, dass das Gen auf Chromosom 2, circa 20 cM entfernt vom HOX-4-Cluster liegt (Opstelten et al., 1991).

Das murine *S8*-Gen codiert für eine Homöodomäne im Zellkern, aus der Transkriptionsfaktoren hervorgehen, die bei epithelial-mesenchymalen Interaktionen, wie z. B. bei der Entwicklung von craniofacialem Gewebe, exprimiert werden. Durch in situ Hybridisierung wurde die zeitliche und räumliche Expression von *S8* untersucht (Karg et al., 1997). Transkripte von *S8* wurden in allen Stadien der Zahnentwicklung bei 13 bis 16,5 Tage alten Mäusembryonen (frühes Knospenstadium bis Differenzierungsstadium) gefunden. *S8*-mRNA wurde ausschließlich im Ektomesenchym und den Zellabkömmlingen der Neuralleiste (zukünftige Zellen der Pulpa, Vorläufer der Odontoblasten und Zahnfollikelzellen) nachgewiesen. Die Expression war im frühen Knospenstadium und im späten Kappenstadium am höchsten und nahm im mittleren Glockenstadium sowohl in den ersten Molaren wie auch in den Schneidezähnen ab (Karg et al., 1997). Dies deutet darauf hin, dass *S8* während der Zahnentwicklung eine wichtige Rolle für die Beschaffenheit der Zahnpapille und der Follikelzellen spielt. Spekulativ ist jedoch die Annahme, dass die zeitlich beschränkte Expression von *S8* in den Zahnanlagen zu der definitiven Gestalt der Zähne führt (Karg et al., 1997). *Prx2* Knockout Mäuse weisen keine Anomalien auf (Ten Berge et al., 1998).

Ten Berge et al. (2001) generierten *Prx1/Prx2*-Null-Mäuse, die im Unterkiefer entweder keine Schneidezähne oder nur einen zentral gelegen Zahn aufwiesen. Außerdem traten Fehlbildungen der knöcherner Anteile im Schädel, des Gesichts, der Gliedmaßen und der Wirbelsäule auf. Die Ursache für die mittige Zahnausbildung könnte der fehlende Einfluss von *Prx1* und -2 auf das epitheliale *Fgf8* sein. Auch der Zusammenhang von *Prx1* und -2 mit der Herunterregulierung von *Shh* wurde untersucht. Da *Prx1* als auch

*Prx2* nur im Mesenchym exprimiert werden, wird angenommen, dass *Prx1/Prx2* die Produktion eines mesenchymalen Signals regulieren, das für die Expression des epithelialen *Shh* sorgt (Ten Berge et al., 2001).

### 23. *Shh*

#### *Sonic hedgehog*

*Shh* ist ein Gen der Hedgehog Familie, die für sekretorische Proteine kodieren (Echelard et al., 1993). Das erste Hedgehog-Gen wurde in *Drosophila melanogaster* von Nüsslein-Volhard und Wieschaus (1980), entdeckt. Auch bei Vertebraten kommen diese Signalmoleküle vor (Chang et al., 1994; Currie und Ingham, 1996; Echelard et al., 1993; Ekker et al., 1995; Riddle et al., 1993; Roelink et al., 1994). Andere Mitglieder der Hedgehog Familie sind *Patched (Ptc)*, *Smoothed (Smo)* und die *Gli*-Zinkfinger-Transkriptionsfaktoren (Goodrich et al., 1996; Hooper und Scott, 1989; Nakano et al., 1989; Hui et al., 1994; Orenic et al., 1990; Marigo et al., 1996; Aza-Blanc et al., 1997; Grindley et al., 1997). Während *Ptc* und *Smo* Rezeptorenkomplexe für Hedgehog-Liganden bilden (Marigo et al., 1996; Stone et al., 1996), regulieren *Gli*-Proteine den *Shh*-Signalpfad (Aza-Blanc et al., 1997; Grindley et al., 1997; Lee et al., 1997; Platt et al., 1997). Dieser Signalpfad wird in Vertebraten durch einen zusätzlichen Rezeptor für *Shh*, *Ptch2*, kompliziert (Motoyama et al., 1998). *Ptch2* kodiert für ein Transmembranprotein, das mit einer extrazellulären Domäne *Shh* bindet und eine Homologie mit *Ptc* aufweist (Motoyama et al., 1998). Ein gegenwärtiges Modell (Nusse, 1996; Stone et al., 1996; Calderon, 1997) beruht auf der Annahme, dass *Shh* an *Ptc* bindet. Als Reaktion

darauf wird die Hemmung, die Ptc normalerweise auf Smo ausübt, aufgehoben. Smo ist dadurch in der Lage, stromabwärtsgelegene Gene über den Cubitus interruptus Transkriptionsfaktor (Ci) zu aktivieren. Ci ist ein Mitglied der *Gli*-Familie der Zinkfinger Transkriptionsfaktoren (Dominguez und Hafen, 1997).

Am 11,5. Embryonaltag ist die Expression von *Shh* nur in den epithelialen Verdickungen der späteren Zahnknospe zu beobachten. Am 13,5. Embryonaltag kommt es zu einer Aufregulierung an der Spitze der Zahnknospe. Während des Kappenstadiums (am 14,5. Embryonaltag) grenzt die starke *Shh*-Expression den Schmelzknoten von der Zahnanlage ab (Vaahtokari et al., 1996a). Das epitheliale Shh aktiviert hierbei die Transkription von Ptc und Gli1 im Epithel und Mesenchym (Bitgood and McMahon, 1995; Koyama et al., 1996; Dassule und McMahon, 1998; Hardcastle et al., 1998). Die Expression von *Shh*, *Ptc* und *Gli1* ist im Unterkiefer im Bereich der späteren Schneidezähne und der Zunge am intensivsten. Im Oberkiefer im Bereich der Schneidezähne werden *Shh*, *Ptc* und *Gli1* vor allem in medialen, nasalen Regionen exprimiert (Hardcastle et al., 1999). Nach Bildung der Dentallamina kann Shh in jeder Zahnanlage lokalisiert werden. Die Expression von *Shh* wird hierbei von der Expression von *Ptch2* begleitet (Hardcastle et al., 1999). *Shh* ist auch an der Entwicklung des Neuralrohres (Echelard et al., 1993; Ericson et al., 1996), der Lunge (Bellusci et al., 1997) und der Federn (Jung et al., 1998) beteiligt. Es scheint, als würde *Shh* seine Signale an den Schmelzknoten über Ptch2 senden, während es seine Signale an das Epithel und an das Mesenchym via Ptc absetzt. Gli-Proteine scheinen die *Shh*-Signale an die Zellen des Schmelzknotens weiterzureichen (Hardcastle et al., 1999).

Eine Hemmung der *Shh*-Expression führt zu einer Herunterregulierung von *Ptc* und verhindert eine Ausbildung der Zähne ohne dass dabei die Expression von *Fgf8* und *Bmp4* vermindert wird (Cobourne et al., 2001). Ektopisches Shh-Protein auf dem Mundhöhlenepithel kann Veränderungen in der Morphologie der Zahnanlagen bewirken, indem es eine epitheliale Invagination bewirkt (Hardcastle et al., 1999).

*Shh* scheint eine duale Rolle in der frühen Zahnentwicklung zu spielen. Zum einen stimuliert es die epitheliale Zellproliferation der Zahnknospen, zum anderen bewirkt es im späten Knospenstadium das Überleben der epithelialen Zellen an der Spitze der Zahnknospe. Diese Zellen dienen als Vorläufer des späteren Schmelzknötens (Cobourne et al., 2001).

## 24. Sox

### *Sry-type high-mobility group box protein*

Die Gene der Sox-Familie gehören wie *Lef1* und *Tcf1* zur Gruppe der High Mobility Group-box Gene. Diese Gene sind mit der geschlechtsbestimmenden Region auf dem Y-Gen (sex-determining region Y gene, *Sry*) verwandt (Laudet et al., 1993).

Mittels RT-PCR konnten aus murinen Zahnanlagen 14 von 20 beschriebenen Sox-Genen nachgewiesen werden (Stock et al., 1996). Eine Expression von *Sox4*, *Sox6* und *Sox9* in den Zahnanlagen konnte durch in situ Hybridisierung bestätigt werden (Zhao et al., 2000). *Sox6*- und *Sox9*-Transkripte wurden auch im sich entwickelnden Unterkiefer

gefunden (Wright et al., 1995). Die genaue Rolle der Sox-Gene für die Zahnentwicklung ist derzeit noch nicht bekannt (Zhao et al., 2000).

## 25. *Syndecan1*

Die Zahnentwicklung und -differenzierung wird durch Interaktionen zwischen epithelalem und mesenchymalem Gewebe gesteuert. Weil die extrazelläre Matrix in diese Interaktionen mit einbezogen ist, wird die Expression der Matrixrezeptoren an der Zelloberfläche verändert. Aus diesem Grunde wurde ein Proteoglycan-Antigen an der Epithelzellenoberfläche untersucht, welches als Rezeptor für Komponenten der interstitiellen Matrix dient (Thesleff et al., 1988). Intensive Färbung konnte um die Zellen des embryonalen Mundhöhlenepithels wie auch des Zahnepithels im frühen Knospenstadium beobachtet werden. Im weiteren zeitlichen Verlauf war die Expression von *Syndecan1* im Schmelzorgan stark reduziert. Die Differenzierung dieser Zellen zu Ameloblasten ging generell einher mit einer Reduktion der Expression. Nur sich zurückentwickelnde Epithelzellen zeigen bei in situ Hybridisierung noch eine intensive Färbung im Stratum intermedium und in der weichen Schmelzpulpa (Thesleff et al., 1988). Das Proteoglykan-Antigen wurde nur schwach im lockeren Kiefermesenchym, das sich von der Neuralleiste ableitet, exprimiert. Im verdichteten Zahnpapillenmesenchym zeigte es jedoch eine starke Reaktion. Mit der Zeit verschwand das Proteoglykan-Antigen von dem fortgeschrittenen Zahnpapillenmesenchym. Im Mesenchym des Zahnsackes persistierte es jedoch und schafft so die Grundlage zur Entwicklung des Peridontalgewebes. In Odontoblasten wurde das Proteoglykan-Antigen

nicht exprimiert. Die Expression des Proteoglykan-Antigens wechselt während der epithelial-mesenchymalen Interaktionen und lässt sich im Endstadium der Zelldifferenzierung nicht mehr nachweisen (Thesleff et al., 1988). Bei der Morphogenese der Organe während der Embryonalentwicklung spielen epithelial-mesenchymale Interaktionen, sowie Veränderungen der Extrazellulärmatrix, eine wichtige Rolle. Die Reaktion der Zellen auf die Veränderungen in der Extrazellulärmatrix beinhaltet im Wesentlichen die Erkennung von Matrixliganden durch die Zelloberflächenmoleküle, und daraus resultierend eine intrazelluläre Signalübertragung. In einer Studie wurde die Expression des Zelloberflächenproteoglycans *Syndecan*, welches ein Matrixrezeptor epithelialer Zellen ist, sowie das Matrixprotein *Tenascin*, welches für epithelial-mesenchymalen Interaktionen wichtig ist, untersucht (Vainio et al., 1989). In früheren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass im Mäuseembryo *Syndecan* wie *Tenascin* intensiv im kondensierten Zahnmesenchym um die epithelialen Knospen herum exprimiert werden (Thesleff et al., 1988). Analysen von Ratten- und Mäusegeweben, die mit monoklonalen Antikörpern gegen murines *Syndecan* inkubiert wurden, zeigten, dass das Zahnepithel die Expression von *Syndecan* im darunterliegenden mesenchymalen Gewebe induziert (Vainio et al., 1989). Das Mundhöhlenepithel älterer Embryonen hat die Fähigkeit, *Syndecan* zu exprimieren, verloren. Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass die Expression von *Syndecan* und *Tenascin* im Zahnmesenchym durch epithelial-mesenchymale Interaktionen reguliert werden (Vainio et al., 1989).

In einer zweiten Arbeit wird die Expression von *Syndecan* und *Tenascin* während des Beginns der Zahnentwicklung verglichen (Vainio und Thesleff, 1992). Zahnanlagen der

Molaren von Mäuseembryonen wurden in Serienschnitten immunhistochemisch auf die Expression von *Syndecan* und *Tenascin* untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass vor der Entstehung der epithelialen Zahnknospen *Syndecan* in den mesenchymalen Zellen, welche unter dem Zahnepithel liegen, akkumuliert. *Tenascin* wird in diesem Stadium nicht gefunden, sondern erst bei der „Down-Regulation“ des epithelialen Wachstums auf der lingualen Seite der Zahnkeime. Im späten Knospenstadium kann *Syndecan* und *Tenascin* im kondensierten Mesenchym lokalisiert werden. Die Expression von *Syndecan* und *Tenascin* wird von einer rapiden Zellproliferation begleitet (Vainio und Thesleff, 1992).

## 27. *Tabby*

*Human homolog: Ektodysplasin; EDA*

*Tabby* ist eine spontane Mutation in Mäusen, die 1952 von Falconer entdeckt wurde. Während das *Tabby*-Gen auf dem X Chromosom liegt, handelt es sich bei dem *Crinkled*-Gen um eine autosomale Mutation, die jedoch zu den selben Fehlbildungen an den Zähnen führt wie das *Tabby*-Gen (Sofaer, 1969). Homozygote Tiere weisen Missbildungen der Zähne, des Fells und einiger Drüsen auf. Der Phänotyp der Mutanten variiert und ist von der genetischen Konstellation abhängig. Schneidezähne können ganz oder teilweise fehlen. Der erste Molare ist schmaler als im Wildtyp und hat weniger Zahnhöcker. Auch der zweite Molare ist nicht vollständig ausgebildet, während der dritte Molare meist fehlt (Grüneberg, 1965 und 1966; Sofaer 1969; Miller, 1978). Homozygote Tiere sind lebensfähig, brauchen aber aufgrund ihres reduzierten Gebisses eine weiche

Nahrung. Von den normalerweise vier verschiedenen Haarfollikeltypen fehlen den Tabby-Mäusen drei. Die verbleibenden Haare ähneln abnormen Grannenhaaren. Verschiedene Drüsen fehlen oder sind nur eingeschränkt ausgebildet, z. B. Schweißdrüsen, Tränendrüsen und Speicheldrüsen (Grüneberg, 1971). Das Gen für die Mutation wurde auf dem X-Chromosom lokalisiert. Da das humane Ektodermaldysplasie-Syndrom ebenfalls an dem analogen Genort lokalisiert ist und das Krankheitsbild, Christ-Siemens-Touraine Syndrom (Kere et al., 1996), dem Phänotyp der Tabby-Maus gleicht, wird angenommen, dass Tabby und EDA (Anhidrotic Ectodermal Dysplasia) homologe Mutationen sind (Blecher, 1986). Dies wurde durch das Klonieren der EDA-Genregion und dem Tabby-Gen bestätigt (Srivastava et al., 1997; Ferguson et al., 1997). Das Tabby- wie das EDA-Gen sind hoch konservierte Gene (Homöobox-Gene). Sie codieren für ein Typ II Transmembranprotein mit drei unterschiedlich gespleißten Formen. Die längste Form hat 391 Aminosäuren und enthält eine kurze kollagenähnliche Strecke, Gly-X-Y. Dieses Protein wird Ectodysplasin-A genannt. Durch Sequenzierung konnte gezeigt werden, dass die C-terminale Region (extrazellulär) von Ectodysplasin-A eine ähnliche Struktur aufweist, wie die der Familie der Tumornekrosefaktor-Liganden. Anders als die Mitglieder der TNF-Familie, die für das Überleben einer Zelle oder Apoptose sorgen, vermittelt das Ectodysplasin-A eine Zelladhäsion an der Extrazellulärmatrix, wodurch epithelial-mesenchymale Interaktionen reguliert werden, die für die Entwicklung der ektodermalen Anhänge nötig sind (Mikkola et al., 1999). Die Expression des Gens lässt sich im äußeren Schmelzepithel während des Kappenstadiums und in der Epidermis des 14 Tage alten Mäuseembryos nachweisen (Srivastava et al., 1997; Mikkola et al., 1999).

Ende der 50er Jahre des letzten Jahrhunderts entdeckte Philips (1960) eine neue Spontanmutation in Mäusen, die einen identischen Phänotyp hervorruft, wie ihn Tabby-Mutanten aufweisen (Sundberg, 1994). Die sogenannte *Downless*-Mutation, die auf dem Chromosom 10 lokalisiert ist, enthält einen neuen Tumornekrosefaktor-Rezeptor. Der homologe TNF-Rezeptor beim Menschen wird EDA-Rezeptor genannt (Tucker et al., 2000). Das Klonieren des *Downless*-Gens ermöglichte es, seine Expression während der Zahnentwicklung zu verfolgen (Headon und Overbeek, 1999). Das *Downless*-Gen wird im Mundhöhlenepithel des 10 Tage alten Mäuseembryos, sowie in den Zellen des veränderten Schmelzknotens, exprimiert. Durch vergleichende Analysen von *Downless*- mit *Tabby*-Mutanten konnte herausgefunden werden, dass in *Tabby*-Mutanten ein sehr kleiner Schmelzknoten vorhanden ist (Srivastava et al., 1997; Pispá et al., 1999), während in *Downless*-Mutanten die Zellen des Schmelzknotens eher strangartig entlang des inneren Schmelzepithels angeordnet sind. Dieser Schmelzstrang exprimiert viele der selben Gene, die der Schmelzknoten exprimiert, wie z. B. *Shh*, *Fgf4*, *Bmp4* und *Wnt10b*. Ihre Expression erfolgt jedoch in einem veränderten räumlichen Muster, was folglich auch zu einer Veränderung der Ausbildung der Schmelzhöcker führt (Tucker et al., 2000). Da sowohl in *Tabby*- wie in *Downless*-Mutanten die Ausprägung des Schmelzknotens beeinträchtigt ist, wird angenommen, dass der Schmelzknoten eine direkte Rolle in der Ausbildung der Zahnhöcker einnimmt (Tucker et al., 2000). EDA interagiert mit dem EDA-Rezeptor, sowohl bei der Maus als auch beim Menschen (Sharpe, 2001). EDA-Gene und EDA-Rezeptor-Gen wurden durch in situ Hybridisierung ausschließlich in ektodermalen Gewebsschichten nachgewiesen. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Expression von *EDA* durch *Wnt6* und die Expression von *EDA*-Rezeptor durch Activin  $\beta$ A induziert wird (Laurikkala et al., 2001). Weiter wurde

herausgefunden, dass Ectodysplasin-A zwischen den ektodermalen Kompartimenten reguliert, jedoch keine Wirkung auf die epithelialen Signalzentren ausübt (Laurikkala et al., 2001). Das *Tabby*-Gen enthält eine potentielle Bindungsstelle für Lef1 in seinem Promotor. Deshalb ging man davon aus, dass *Tabby* stromabwärts von *Lef1* liegt (Zhou et al., 1995; Kere et al., 1996). Da *Lef1*-Mutanten, ebenfalls schwere Missbildungen der Zähne aufweisen, wurden die Interaktionen zwischen *Lef1*, *Tabby* und *Downless* mit dem Wildtyp (13. Embryonaltag) untersucht (Tucker et al., 2000). Es zeigte sich, dass *Downless* und *Tabby* in den *Lef1*-mutierten Zahnknospen normal exprimiert wurde. *Lef1* liegt somit nicht stromaufwärts von *Tabby/EDAR* (Tucker et al., 2000).

## 27. *Tenascin-C*

Tenascin-C ist ein Protein der extrazellulären Matrix. Ihm wird eine Bedeutung bei der Regulation der Organogenese zugeschrieben. In einer Studie wurde die Expression von Tenascin-C-mRNA während der Zahnentwicklung bei Mäusen analysiert (Sahlberg et al., 2001). Dabei konnte gezeigt werden, dass Tenascin-C vorübergehend während der epithelialen Knospenbildung im kondensierten Zahnmesenchym exprimiert wird. Es erscheint später im Mesenchym der Zahnpapille, wo es im Zahnmark persistiert. In Odontoblasten wird es herunterreguliert. Das Zahnepithel induziert die Expression von Tenascin-C im frühen Zahnmesenchym. Es konnte gezeigt werden, dass die Wachstumsfaktoren Transforming growth factor beta (TGF beta) und Mitglieder der Fibroblast growth factor (FGF)-Familie diese Effekte ebenfalls auslösen können (Sahlberg et al., 2001).

## 29. *Wnt*

### *Wingless*

*FRP* = *Frizzled-related Proteins* = *Wnt-Agonisten/-Antagonisten*

Die *Wnt*-Wachstumsfaktoren sind extrazelluläre Signalmoleküle, die an der epithelial-mesenchymalen Interaktion (Proliferation, Migration, Differenzierung) bei der Morphogenese von Gewebe beteiligt sind. Die Familie der *Wnt*-Gene enthält mindestens 16 Mitglieder. Sie kodieren für Proteine, die über 350 bis 380 Aminosäuren verfügen und 23 oder 24 Cystein-Reste haben (Nusse und Varmus, 1992; Parr et al., 1993). Die Gene des *Wnt*-Signalpfads haben Teil an der Entwicklung von Gliedmaßen, Nieren, Herz, Darm und Reproduktionsorganen (Parr et al., 1993; Kispert et al., 1996; Monkley et al., 1996).

In *Drosophila melanogaster* wurden eine Reihe von *Wnt*-Genen entdeckt, die während der Entwicklung der Fruchtfliegen eine wichtige Rolle übernehmen. Hierbei ist *Wingless* (*Wg*) das archetypischste der *Drosophila*-*Wnt*-Gene (Rijsewijk et al., 1987). *Wnt1* war das erste *Wnt*-Gen, das auch in Vertebraten isoliert werden konnte. Seitdem wurden noch eine Reihe anderer *Wnt*-Gene identifiziert (Bradley und Brown, 1990; Nusse und Varmus, 1992). *Wnt*-Proteine tragen zur interzellulären Kommunikation bei, indem sie mit den Rezeptoren der Frizzled Familie interagieren (Wang et al., 1996; Yang-Snyder et al., 1996). Eine ähnliche Struktur wie die Frizzled-Proteine weisen die Frizzled-related-Proteine (*FRP*) auf. Sie enthalten eine *Wnt*-bindende Domäne am N-terminalen

Ende (Bhanot et al., 1996; Leyns et al., 1997) und können sowohl als Agonisten als auch Antagonisten von *Wnt*-Genen wirken (Wang et al., 1996; Zecca et al., 1996; Leyns et al., 1997). *Mfrzb1*, ein Frizzled-related-Protein, wird zusammen mit *Wnt5a* im primordialen Kiefermesenchym koexprimiert. Seine Expression wird hierbei teilweise durch *Fgf8* reguliert. Ein Übermaß an *Mfrzb1* führt zur Ausbildung kleinerer Zähne, wobei die Entwicklung im Knospenstadium eingeschränkt wird (Sarkar und Sharpe, 1999).

Vergleichende Analysen von sechs *Wnt*-Genen wurden anhand von in situ Hybridisierung angestellt. *Wnt*, -3, -4, -5, -6, -7b und 10b wurden zusammen mit dem Wnt-Rezeptor MFz6 (ein Frizzled-Protein) und den Rezeptoragonisten/ -antagonisten MFrzb1 (ein Frizzled-related Protein) und Mfrp2 während der ersten epithelialen Verdickung bis zum frühen Glockenstadium (11,5. - 15,5. Embryonaltag) verglichen. *Wnt3* und *Wnt7b* wurden im Mundhöhlenepithel gefunden, zeigten aber keine Expression im Zahnepithel. Die Interaktion von *Wnt7b* im Mundhöhlenektoderm und *Shh* im Zahnektoderm führt zur Bildung einer ektodermalen Grenze zwischen den beiden Geweben (Sarkar et al., 2000b). *Wnt3* wird ebenfalls nicht in epithelialen Zellen der Molaren im Knospenstadium exprimiert, zeigt aber eine eingeschränkte Expression im Schmelzknoten. Eine Expression von *Wnt4*, *Wnt6* und des Wnt-Rezeptors *MFz6* wurden im Gesichts-, Mund-, und Zahnepithel entdeckt. *Wnt5a* und Agonist/Antagonist *MFrb1* und *Mfrp2* werden abgestuft in proximo-distaler Richtung in mesenchymalen Zellen während der frühen Stadien der Zahnentwicklung exprimiert und zeigen keine Expression im Mundhöhlen- und Zahnepithel. *Wnt5a* und *MFrb1* werden stark im Mesenchym der Zahnpapille ausgeprägt. *Wnt6*, -10b und *MFz6* wurden im primären und

sekundären Schmelzknoten angezeigt. Während *MFz3* und *MFz4* im Mesenchym unter dem Zahnepithel des 11,5 Tage alten Embryos exprimiert werden, findet bis zum 15,5. Embryonaltag keine Expression von *Wnt1*, *-2*, *-8*, *-11* und den Rezeptoren *Mfz7* und *Mfz8* statt (Sarkar und Sharpe, 1999).

## VII. Zusammenfassung

Die Entwicklung von Zähnen und Kieferknochen wird durch Mechanismen geleitet, die bestimmen, welche ektomesenchymalen Zellen (die sich von der Neuralleiste ableiten) nun Zähne und welche Zellen Knochen und Knorpel werden. Das ektomesenchymale Gewebe des Unterkiefers erhält seine Signale zur Differenzierung der Zellen in Odontoblasten (Dentin), Osteoblasten (Knochen) und Chondrozyten (Knorpel) vom darüberliegenden Epithel. Die Zellen der cranialen Neuralleiste differenzieren sich unter dem Einfluss ektodermaler Signale. Ein frühes Signal (*Fgf8*) der Zahnentwicklung geht vom Mundhöhlenepithel aus und sorgt für die Ausbildung des Unterkieferknochens. Die Entstehung von molaren Zähnen geht vom Mesenchym aus, das z.B. von Genen wie *Barx1*, *Dlx1* und *Dlx2* beeinflusst wird. Gleichzeitig ist es notwendig, dass Gene wie *Msx1* und *Alx*-Gene nicht exprimiert werden (McCollum and Sharpe, 2001). Diese Gene (*Msx1* und die *Alx*-Familie) führen zur Ausbildung von Schneidezähnen. Bei *Dlx1/Dlx2*-Doppel-Knockout-Mäusen fehlen die Molaren im Oberkiefer. Alle anderen Zähne entwickeln sich normal (Qiu et al., 1997; Thomas et al., 1997). Jedoch kommt es zusätzlich zu Fehlbildungen im Knochengewebe des Oberkiefers. Die Entwicklung der Molaren im Unterkiefer sowie die Ausbildung des Unterkieferknochens wird mit der Expression der Gene *Dlx5* und *Dlx6* in Zusammenhang gebracht. Eine ektopische Expression von *Barx1* im distalen Unterkiefermesenchym, bei gleichzeitiger Abwesenheit von *Msx1*, führt zur Ausbildung von Schneidezähnen an Stelle der Molaren (Tucker et al., 1998). *Msx1*-Knockout-Mäuse weisen Missbildungen des Knochengewebes im Unterkiefer auf. Allgemein gilt, dass Gene, die die Ausbildung von Molaren regulieren, auch für die Ausprägung des knöchernen proximalen Kiefers

sorgen, wohingegen die Gene der Schneidezähne für die Ausprägung des distalen Kiefers zuständig sind (McCollum und Sharpe, 2001). Für die Ausbildung von Eckzähnen und Prämolaren sind vermutlich überlappende Domänen der Homöobox-Gene (z.B. *Msx1*, *Dlx1* und *Dlx2*) verantwortlich.

Die Entwicklung der Zähne im Oberkiefer von Mäusen erfolgt auf einem anderen genetischen Weg als die Entwicklung der Zähne im Unterkiefer. Die Generierung einer *Activin*  $\beta$ A-Knockout-Maus zeigte, dass im Unterkiefer dieser Tiere keine Schneidezähne und Molaren ausgebildet werden. Ihre Entwicklung wird im Knospenstadium gehemmt. Die Ausprägung der Zähne im Oberkiefer vollzieht sich hierbei uneingeschränkt (Matzuk et al., 1995b).

Viele der genetischen Mechanismen bei der Entstehung der Zähne im Ober- und Unterkiefer sind identisch. Einige jedoch führen zu einer abweichenden Morphogenese (McCollum und Sharpe, 2001). Die Ursache hierfür könnte im unterschiedlichen Ursprung der Mesenchymzellen begründet sein. Die Zellen der cranialen Neuralleiste, die die Unterkieferregion formen, stammen vom rostralen Hinterhirn und vom caudalen Mittelhirn, während Zellen, die die fronto-nasale Region bilden, vom caudalen Vorderhirn und Mittelhirn abstammen (Osumi-Yamashita et al., 1994).

## VIII. Summary

### Gene expression in the tooth development of mice (*Mus musculus*)

The development of teeth and jaw bones are lead by mechanisms that determine cells to become, teeth, bones or cartilages. The ectomesenchymal cells of the lower jaw receives signals from overlying epithelium to differentiate into odontoblasts, osteoblasts and chondrocytes. Cells from the neural crest are influenced by ectodermal signals. An early signal (Fgf8) comes from the oral epithelium and induces the development of the lower jaw. Molar morphogenesis in the maxillary starts from the mesenchyme, influenced by genes like Barx1, Dlx2 and Dlx2. At the same time the absence of genes like Msx1 and genes from the Alx-family is necessary for a normal development (McCollum and Sharpe, 2001). The expression of Msx1 and Alx-genes causes the development of incisors. Mice with null mutation of Dlx1 and Dlx2 fail to develop maxillary molars. Also additional abnormalities appear in the upper jaw. All other teeth are regularly developed (Qiu et al., 1997; Thomas et al., 1997). Dlx5 and Dlx6 are believed to be involved in the development of the lower molar teeth. Ectopic expression of Barx1 in the distal mandibular mesenchym, accompanied by loss of Msx1, results in a transformation of incisors into molars (Tucker et al., 1998). Msx1 mutant mice have defects in the distal jaw skeletal tissue. In conclusion, genes that determine the expression of molar teeth also control the development of the proximal jaw and genes that regulate incisor morphogenesis also regulate distal jaw development (McCollum and Sharpe, 2001). Generation of canine and premolar teeth is caused by overlapping domains of homeobox genes like Msx1, Dlx1 and Dlx2. In mice, the development of

teeth in the maxilla seems to be different compared to the mandibula. Activin  $\beta$ A null mutant mice shows no incisor and molar teeth in the lower jaw. Growth of teeth stops at bud stage in the mandibula while tooth development in the upper jaw in unaffected (Matzuk et al., 1995b). Most of the basic genetic mechanisms during the development of the teeth in the upper and lower jaw are identical. Only some of them lead into a different developmental pattern. This could be due to the different origin of mesenchymal cells (McCollum and Sharpe, 2001). The lower jaw is formed by ectomesenchymal cells originating from the neural crest from the cranial rostral hindbrain and the caudal middlebrain while neural crest cells from the caudal forebrain and middlebrain contribute to the fronto-nasal region (Osumi-Yamashita et al., 1994).

IX. Liste der Fehlbildungen, die durch Gen-Knockout entstehen

<b>Knockout</b>	<b>Phänotyp</b>
Activin $\beta$ A	<p>Aplasie der Schneidezähne im Ober- und Unterkiefer</p> <p>Aplasie der Backenzähne im Unterkiefer (Knospenstadium)</p> <p>Aplasie der Schnurrhaare</p> <p>Gaumenspalten</p> <p>Exitus nach spätestens 24 Stunden</p>
Activin $\beta$ B	<p>Die Augen sind zum Zeitpunkt der Geburt bereits geöffnet</p> <p>Unvollständige Ausbildung des Reproduktionstraktes weiblicher Tiere</p>
Activin $\beta$ A und Activin $\beta$ B	<p>Individuelle Kombinationen aus den oben genannten Missbildungen</p>
Bmp	<p>Fehlende Stimulation der Zahnentwicklung oder früher Tod der Tiere</p>
Cbfa1 (heterozygot)	<p>„Cleidocraniale Dysplasie“</p> <p>Missbildungen der Knochen (z.B. zu große Fontanellen)</p> <p>Aplasie der Schlüsselbeine (beim Menschen)</p> <p>Verzögerte Skelettentwicklung</p> <p>Zahnanomalien (Hyperdontie, Verzögerung des Durchbruchs permanenter Zähne)</p>
Cfa1 (homozygot)	<p>Tod kurz nach der Geburt</p> <p>Aplasie von Knochen und Odontoblasten</p>
Downless	<p>Missbildungen der Zähne, des Fells und einiger Drüsen (Schweiß-, Tränen- und Speicheldrüsen)</p> <p>Nur drei von vier verschiedenen Haarfollikeltypen sind ausgebildet</p> <p>Siehe: Tabby</p>

<b>Knockout</b>	<b>Phänotyp</b>
Dlx1 und 2	Aplasie der Backenzähne im Oberkiefer
Dlx3	„Tricho-Dento-Osseous-Syndrom“
Dlx5	Unzureichende Mineralisation des Schmelzes
Fgf 4 und 8	Tod während der Embryonalentwicklung
Fgf 9	Aplasie aller Zähne
Gli2	Fehlbildung der Schneidezähne im Oberkiefer, des Gaumens, der Gliedmaßen, des Sternums, der Wirbelsäule und des Schädels
Gli2 und 3	Fehlbildung aller Zähne  Exitus spätestens am 14,5. Embryonaltag
Gli 3	Defekte des Gaumens, des Schädels, Polysyndactylie, Verkürzung der Tibiae
Gli2(-/-) Gli3(+/-)	Tod bei der Geburt, keine Molaren und Schneidezähne im Unterkiefer, die Schneidezähne im Oberkiefer stellen nur rudimentäre Verdickungen dar
Lef1	Aplasie der Haare und der Schnurrhaare  Fehlbildung aller Zähne (Kappenstadium)
Msx1	Aplasie der Zähne (Knospenstadium)  Gaumenspalten  Mangelhafte Ausprägung der Alveolen im Unter- und Oberkiefer  Anomalien der Nase, der frontalen und seitlichen Schädelknochen  Fehlende Ausbildung des Malleus im Mittelohr
Msx1 + 2	Aplasie der Zähne (Initialstadium)

<b>Knockout</b>	<b>Phänotyp</b>
p63	<p>Missbildung des mehrschichtigen Hautepithels, die zu Dehydratation führt - kurz nach der Geburt Exitus</p> <p>Der Apikale Ektodermale Kamm wird nicht ausgebildet, dadurch werden die Hintergliedmaßen nicht ausgebildet, die Vordergliedmaßen sind verstümmelt</p> <p>Aplasie von Zähnen, Fell, Gesäuge, Speichel- und Tränendrüsen</p>
Pax9	<p>Aplasie aller Organe, die sich von den pharyngealen Taschen ableiten, wie Thymus, Nebenschilddrüsen, Ultimobranchialer Körper</p> <p>An allen Gliedmaßen präaxial zusätzliche Zehen, an den Hintergliedmaßen fehlen für die überzähligen Zehen die Beugemuskeln</p> <p>Aplasie der Zähne (Knospenstadium)</p> <p>Heterozygote Tiere weisen keine Missbildungen auf</p>
Pitx2 RIEG Otlx2	<p>Anomalien der vorderen Augenkammer, Hypodontie, hyperplastische Zähne, hervorstehender Nabel</p> <p>In Menschen: RIEGER Syndrom</p>
Prx1 + 2	<p>Aplasie einzelner Zähne im Unterkiefer, knöcherne Fehlbildungen am Schädel, im Gesicht, den Gliedmaßen und der Wirbelsäule</p> <p>Aplasie des Meckel Knorpel</p>
Shh	Aplasie von Zähnen, Tod am 9,5. Embryonaltag
Tabby	<p>Missbildungen der Zähne, des Fells und einiger Drüsen (Schweiß-, Tränen- und Speicheldrüsen)</p> <p>Nur drei von vier verschiedenen Haarfollikeltypen sind ausgebildet</p> <p>In Menschen: Christ-Siemens-Touraine-Syndrom</p>

## 1. Genexpression während des Initialstadiums

	Mundhöhlenepithel	Zahnepithel	Zahnmesenchym	Basalmembran
activin beta A (mRNA)			+	
AP-2.2 (mRNA)	+		+	
Barx-1 (mRNA)			+	
Bmp2 (Diastema, mRNA)	+	+		
Bmp2 (mRNA)		+		
Bmp4 (Diastema, mRNA)		+	+	
Bmp4 (mRNA)	+	+	+	
Bmp7 (mRNA)	+	+		
Bmp7 (Protein)	+	+	+	
Cbfa1 (mRNA)			+	
CD44 (mRNA)		+		
Dlx2 (Protein)	+	+	+	
Dlx2 (mRNA)		+	+	
Downless (mRNA)		+		
Fgf1 (Protein)	+	+	+	
Fgf2 (Protein)		+	+	+
Fgf8 (Diastema, mRNA)		+		
Fgf8 (mRNA)	+	+		
Fgf9 (mRNA)	+	+		
FGFR1(IIIc) (mRNA)			+	
FGFR2(IIIb) (mRNA)	+	+		
fibulin-1 (mRNA)	+	+	+	
gelatinase A (mRNA)			+	
Gli1 (mRNA)			+	
Gli2 (mRNA)	+	+	+	
Gli3 (mRNA)	+	+	+	
integrin beta 5 (mRNA)	+	+	+	
laminin 5 alpha 3 (mRNA)	+			
laminin 5 alpha 3 (Protein)	+			+
laminin 5 beta 3 (Protein)	+			+
laminin 5 beta 3 (Protein)	+			
laminin 5 gamma 2 (Protein)	+			+
laminin 5 gamma 2 (mRNA)	+			
Lef-1 (Diastema, mRNA)	+	+	+	
Lef-1 (mRNA)		+	+	
Lhx6 (mRNA)			+	
Lhx7 (mRNA)			+	
MFrp2 (mRNA)			+	

	Mundhöhlenepithel	Zahnepithel	Zahnmesenchym	Basalmembran
Mfrzb1 (mRNA)			+	
Mfz6 (mRNA)	+	+		
MK (mRNA)	+		+	
MK (Protein)	+	+	+	+
Msx1 (Diastema, mRNA)		+	+	
Msx1 (mRNA)			+	
Msx2 (mRNA)			+	
Notch-1 (mRNA)		+		
Notch-2 (mRNA)		+		
Notch-3 (mRNA)		+		
Otlx2 (mRNA)		+		
p63 (mRNA)	+	+		
Patched (mRNA)		+	+	
Pax9 (mRNA)			+	
Pax9 (Diastema, mRNA)			+	
Pitx2 (Diastema, mRNA)	+	+		
Prx2 (mRNA)			+	
Raf1 (Protein)		+		
RARalpha (mRNA)	+	+	+	
RARbeta (mRNA)		+		
RARgamma (mRNA)	+	+	+	
RIEG (mRNA)	+	+		
RXRalpha (mRNA)	+	+		
RXRbeta (mRNA)	+	+	+	
Smoothened (mRNA)	+	+	+	
Sonic hedgehog (Diastema, mRNA)	+	+		
syndecan 1 (mRNA)	+	+	+	
syndecan 1 (Protein)	+	+	+	
Tabby (mRNA)	+			
tenascin-C (mRNA)			+	
Wnt-3 (mRNA)	+			
Wnt-4 (mRNA)	+	+		
Wnt-5a (mRNA)			+	
Wnt-6 (mRNA)	+	+		
Wnt-7b (mRNA)	+			
Wnt10a (mRNA)		+		
Wnt10b (mRNA)		+		

Nach [www.bite-it.helsinki.fi](http://www.bite-it.helsinki.fi) (2002)

## 2. Genexpression während des Knospenstadiums

	Mundhöhlenepithel	Zahnepithel	Zahnmesenchym	Basalmembran
activin beta A (mRNA)			+	
activin beta A (Protein)	+	+		
Az-1 (Protein, mRNA)	+	+	+	
Barx-1 (mRNA)			+	
beta-catenin (Protein)	+	+		
Bmp2 (mRNA)		+		
Bmp4 (Diastema, mRNA)			+	
Bmp4 (mRNA)			+	
Bmp6 (mRNA)			+	
Bmp7 (mRNA)	+	+		
Bmp7 (Protein)	+	+		
BP-230 (Protein)	+	+		
Cbfa1 (mRNA)			+	
CD44 (mRNA)		+		
desmoglein (Protein)	+	+		
Dlx1 (mRNA)			+	
Dlx2 (Protein)		+	+	
Dlx2 (mRNA)		+	+	
Dlx3 (mRNA)			+	
Downless (mRNA)		+		
E-cadherin (Protein)	+	+		
Egr-1 (mRNA)			+	
Fgf10 (mRNA)			+	
Fgf3 (mRNA)		+	+	
Fgf4 (mRNA)		+		
Fgf8 (mRNA)	+			
Fgf9 (mRNA)	+	+		
FGFR1(IIIc) (mRNA)			+	
FGFR2(IIIb) (mRNA)	+	+		
FGFR2(IIIc) (mRNA)			+	
fibulin-1 (mRNA)	+	+	+	
follistatin (Protein)	+			
gelatinase A (mRNA)			+	
gelatinase B (mRNA)			+	
GFR alpha-2 (mRNA)			+	
Gli1 (mRNA)	+	+	+	
Gli2 (mRNA)	+	+	+	
Gli3 (mRNA)	+		+	

	Mundhöhlenepithel	Zahnepithel	Zahnmesenchym	Basalmembran
heparansulfat (Protein)		+	+	+
integrin alpha 4 (mRNA)	+		+	
integrin alpha 6 (mRNA)		+		
integrin alpha 6 (Protein)	+	+		+
integrin alpha v (Protein)			+	
integrin alpha v (mRNA)		+		
integrin beta 1 (Protein)			+	+
integrin beta 1 (mRNA)	+	+	+	
integrin beta 4 (Protein)				+
integrin beta 4 (mRNA)	+	+		
integrin beta 5 (mRNA)	+	+	+	
laminin 5 alpha 3 (mRNA)	+	+		
laminin 5 alpha 3 (Protein)	+			+
laminin 5 beta 3 (Protein)	+	+		+
laminin 5 beta 3 (Protein)	+	+		
laminin 5 gamma 2 (Protein)	+	+		+
laminin 5 gamma 2 (mRNA)	+	+		
laminin alpha 1 (mRNA)			+	
laminin alpha 2 (mRNA)			+	
laminin alpha 3A (mRNA)	+			
laminin alpha 5 (mRNA)	+	+		
laminin alpha 5 (Protein)				+
Lef-1 (Diastema, mRNA)	+	+	+	
Lef-1 (mRNA)		+	+	
Lhx6 (mRNA)			+	
Lhx7 (mRNA)			+	
MFrp2 (mRNA)			+	
MFrzb1 (mRNA)			+	
MFz6 (mRNA)	+	+		
MK (mRNA)		+	+	
MK (Protein)		+	+	+
Msx1 (Diastema, mRNA)			+	
Msx1 (mRNA)			+	
Msx2 (mRNA)		+		
NEP (mRNA)	+	+		
Notch-1 (mRNA)		+		
Notch-2 (mRNA)		+		
Notch-3 (mRNA)		+		
Odc (Protein, mRNA)	+	+		
Otlx2 (mRNA)		+		

	Mundhöhlenepithel	Zahnepithel	Zahnmesenchym	Basalmembran
P-catherin (Protein)	+	+		
Patched (mRNA)		+	+	
Pax9 (mRNA)			+	
Pax9 (Diastema, mRNA)	+	+	+	
Pitx2 (Diastema, mRNA)		+		
plakoglobin (Protein)	+	+		
PPT-A (mRNA)	+	+		
Prx2 (mRNA)			+	
Raf1 (Protein)		+		
Ret (mRNA)			+	
RXRbeta (mRNA)	+	+	+	
Smoothened (mRNA)	+	+	+	
Sna (mRNA)			+	
Sonic hedgehog (mRNA)		+		
Sonic hedgehog (Diastema,mRNA)	+	+		
Sox9 (mRNA)	+	+	+	
syndecan 1 (mRNA)	+	+	+	
syndecan 1 (Protein)	+	+	+	
Tabby (mRNA)	+	+		
TCF 1 (mRNA)			+	
tenascin (Protein)			+	+
Tgf beta-1 (mRNA)		+	+	
Tgf beta-1 (Protein)		+		
Tgf betaRII (mRNA)			+	
Timp-1 (mRNA)			+	
Timp-2 (mRNA)			+	
Timp-3 (mRNA)			+	
Wnt-4 (mRNA)	+	+		
Wnt-5a (mRNA)			+	
Wnt-6 (mRNA)	+	+		
Wnt-7b (mRNA)	+	+		
Wnt10a (mRNA)		+		
Wnt10b (mRNA)		+		

Nach [www.bite-it.helsinki.fi](http://www.bite-it.helsinki.fi) (2002)

### 3. Genexpression während des Kappenstadiums

	Mundhöhlenepithel	Äußeres Schmelzepithel	Inneres Schmelzepithel	Schmelzknoten	Stellate reticulum	Zahnpapille	Zahnsack	Basalmembran
activin beta A (mRNA)						+		
activin beta A (Protein)	+							
Az-1 (Protein, mRNA)		+	+		+	+		
Barx-1 (mRNA)						+		
Beta-Catenin (Protein)	+	+	+	+	+	+		
Bmp2 (mRNA)				+				
Bmp3 (mRNA)						+	+	
Bmp4 (mRNA)				+		+	+	
Bmp6 (mRNA)						+		
Bmp7 (mRNA)				+				
Bmp7 (Protein)	+		+	?	+			
BP-230 (Protein)	+	+			+			+
c-met (mRNA)		+						
c-myb (mRNA)						+		
Cbfa1 (mRNA)						+	+	
CD44 (mRNA)	+	+	+					
collagen typ III (alpha1) (Protein)						+	+	
desmoglein (Protein)	+	+			+			+
Dlx1 (mRNA)						+	+	
Dlx2 (Protein)		+	+	+	+	+		
Dlx2 (mRNA)		+	+	?	?	+		
Dlx3 (mRNA)						+		
Dlx5 (mRNA)		+				+		
Dlx6 (mRNA)							+	
Dlx7 (mRNA)						+		
Downless (mRNA)				+				
E-cadherin (Protein)	+	+			+			
Ebk (mRNA)						+	+	
Egr-1 (mRNA)		+	+			+		
Fgf1 (Protein)	+	+	+	+	+			+
Fgf10 (mRNA)						+	+	
Fgf2 (Protein)	+				+			
Fgf3 (mRNA)				+		+		
Fgf4 (mRNA)				+				
Fgf9 (mRNA)				+				
FGFR1(IIIb) (mRNA)		+	+		+			
FGFR1(IIIc) (mRNA)		+	+		+	+	+	

	Mundhöhlenepithel	Äußeres Schmelzepithel	Inneres Schmelzepithel	Schmelzknoten	Stellate reticulum	Zahnpapille	Zahnsack	Basalmembran
FGFR2(IIIb) (mRNA)	+	+			+			
FGFR2(IIIc) (mRNA)		+					+	
fibroglycan (Protein)							+	
fibronectin (Protein)						+	+	+
fibulin-1 (mRNA)	+	+	+	+	+	+	+	
fibulin-2 (mRNA)						+		
follistatin (Protein)	+							
follistatin (mRNA)	+	+	+					
GDNF (mRNA)							+	
gelatinase A (mRNA)						+	+	
gelatinase B (mRNA)						+		
GFR alpha-1 (mRNA)		+		+				
GFR alpha-2 (mRNA)						+	+	
Gli1 (mRNA)	+	+	+		+	+	+	
Gli2 (mRNA)							+	
Gli3 (mRNA)	+				+	+	+	
heparansulfat (Protein)	+	+	+			+	+	+
integrin alpha 6 (mRNA)			+		+	+		
integrin alpha 6 (Protein)	+	+	+		+	+		+
integrin alpha v (Protein)			+			+	+	
integrin alpha v (mRNA)			+	+		+		
integrin beta 1 (Protein)						+		+
integrin beta 1 (mRNA)	+	+	+	+	+	+	+	
integrin beta 4 (Protein)								+
integrin beta 4 (mRNA)	+	+	+	+	+			
integrin beta 5 (mRNA)	+	+	+	+	+	+	+	
laminin 5 alpha 3 (mRNA)	+	+		+				
laminin 5 alpha 3 (Protein)	+	+	+	+	+			+
laminin 5 beta 3 (Protein)	+	+	+	+	+			+
laminin 5 beta 3 (Protein)	+	+		+				
laminin 5 gamma 2 (Protein)	+	+	+		+			+
laminin 5 gamma 2 (mRNA)	+	+			+			
laminin alpha 1 (mRNA)						+	+	
laminin alpha 2 (Protein)								+
laminin alpha 2 (mRNA)						+	+	
laminin alpha 3A (mRNA)	+							
laminin alpha 3B (mRNA)				+				
laminin alpha 4 (mRNA)						+		
laminin alpha 5 (mRNA)	+	+	+	+	+			

	Mundhöhlenepithel	Äußeres Schmelzepithel	Inneres Schmelzepithel	Schmelzknoten	Stellate reticulum	Zahnpapille	Zahnsack	Basalmembran
laminin alpha 5 (Protein)								+
Lef-1 (mRNA)		+	+	+		+		
Lhx6 (mRNA)						+	+	
Lhx7 (mRNA)						+	+	
MFrp2 (mRNA)							+	
MFrbz1 (mRNA)						+	+	
MFz6 (mRNA)	+	+	+	+	+			
MK (mRNA)		+	+			+	+	
MK (Protein)		+	+	+	+	+		+
mlarp (mRNA)		+	+			+		
Msx1 (mRNA)						+	+	
Msx2 (mRNA)		+	+	+	+			
N-myc (mRNA)			+					
Ndr1 (mRNA)				+				
NEP (mRNA)						+	+	
Notch-1 (mRNA)		+			+	+		
Notch-2 (mRNA)		+			+			
Odc (Protein, mRNA)			+		+			
Otlx2 (mRNA)		+	+	+	+			
P-cadherin (Protein)	+	+	+	+				
Patched (mRNA)		+	+		+	+	+	
Pax9 (mRNA)						+		
plakoglobin (Protein)	+	+	+	+	+			
PPT-A (mRNA)						+	+	
Prx2 (mRNA)						+	+	
Raf 1 (Protein)							+	
RARalpha (mRNA)	+	+	+	+	+			
RARgamma (mRNA)						+		
Ret (mRNA)						+		
Ror1 (mRNA)		+	+	+				
Ror2 (mRNA)		+	+	+				
RXRalpha (mRNA)	+	+	+	+	+			
RXRbeta (mRNA)	+	+	+	+	+	+	+	
Smoothened (mRNA)	+	+	+		+	+	+	
Sonic hedgehog (mRNA)				+				
Sp4 (mRNA)						+	+	
syndecan 1 (mRNA)	+	+	+	+	+	+	+	
syndecan 1 (Protein)	+	+	+	+	+	+	+	
Tabby (mRNA)	+	+						

	Mundhöhlenepithel	Äußeres Schmelzepithel	Inneres Schmelzepithel	Schmelzknoten	Stellate reticulum	Zahnpapille	Zahnsack	Basalmembran
TCF (mRNA)						+		
tenascin (Protein)						+	+	+
tenascin-C (mRNA)		+						
Tgf beta-1 (mRNA)			+	+	+	+		
Tgf beta-1 (Protein)					+	+		
Tgf beta-3 (mRNA)					+			
Timp-1 (mRNA)						+		
Timp-2 (mRNA)						+	+	
Wnt-3 (mRNA)				+				
Wnt-4 (mRNA)	+	+	+		+			
Wnt-5a (mRNA)						+	+	
Wnt-6 (mRNA)	+	+	+	+	?			
Wnt-7b (mRNA)	+	+	+		+			
Wnt10a (mRNA)				+				
Wnt10b (mRNA)				+				

Nach [www.bite-it.helsinki.fi](http://www.bite-it.helsinki.fi) (2002)

#### 4. Genexpression während des Glockenstadiums

	Mundhöhlenepithel	Äußeres Schmelzepithel	Inneres Schmelzepithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Zahnpapille	Zahnsack	Basalmembran
activin beta A (mRNA)						+	+	
activin beta A (Protein)						+		
alkalische phosphatase (Prot.)				+		+		
Az-1 (Protein, mRNA)			+	+	+	+		
Barx-1 (mRNA)						+		
basalmembran proteoglykan (Protein)								+
beta-catenin (Protein)	+	+	+	+	+	+	+	
Bmp2 (mRNA)						+		
Bmp3 (mRNA)							+	
Bmp4 (mRNA)						+		
Bmp7 (mRNA)			+					
Bmp7 (Protein)	+		+	+	+	+		
BP-230 (Protein)	+	+	+	+				
c-met (mRNA)		+	+					
c-myc (mRNA)	+	+	+	+	+			
Cbfa1 (mRNA)						+	+	
CD44 (mRNA)	+	+	+		+			
collagen typ I (alpha1) (mRNA)						+	+	
collagen typ III (alpha1) (Protein)						+	+	
collagen typ IV (Protein)								+
cyclin A (Protein)			+					
dermo 1 (mRNA)						+	+	
desmoglein (Protein)	+			+	+			
Dlx2 (Protein)		+	+	+	+	+		
Dlx2 (mRNA)		+	+	?	+			
Dlx3 (mRNA)			+			+		
Dlx5 (mRNA)		+				+		
Dlx6 (mRNA)		+				+		
Dlx7 (mRNA)				+		+		
Downless (mRNA)			+					
E-cadherin (Protein)	+	+	+	+	+			
EGF (mRNA)			+	+	+			
Egr-1 (mRNA)		+		+		+	+	
Fgf1 (Protein)	+		+	+	+	+		
Fgf10 (mRNA)						+		
Fgf3 (mRNA)						+		

	Mundhöhlenepithel	Äußeres Schmelzepithel	Inneres Schmelzepithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Zahnpapille	Zahnsack	Basalmembran
Fgf4 (mRNA)			+					
Fgf9 (mRNA)			+		?			
FGFR1(IIIb) (mRNA)		+	+	?	?	?		
FGFR1(IIIc) (mRNA)			+		?	+		
FGFR2(IIIb) (mRNA)	+	+		+	+			
FGFR2(IIIc) (mRNA)							+	
fibroglycan (Protein)							+	
fibronectin (Protein)				+		+	+	+
fibulin-1 (mRNA)			+			+	+	
fibulin-2 (mRNA)			+			+		
follistatin (Protein)			+					
follistatin (mRNA)	+	+	+			+		
gelatinase A (mRNA)						+	+	
heparansulfat (Protein)	+	+	+		+	+	+	+
HGF (mRNA)						+		
integrin alpha 4 (mRNA)						+		
integrin alpha 6 (mRNA)			+					
integrin alpha 6 (Protein)	+	+	+	+	+	+		+
integrin alpha v (Protein)			+					
integrin alpha v (mRNA)			+					
integrin beta 1 (Protein)						+		+
integrin beta 1 (mRNA)	+	+	+	+	+	+	+	
integrin beta 4 (Protein)			+					
integrin beta 4 (mRNA)	+	+	+					
integrin beta 5 (mRNA)	+	+	+	+	+	+	+	
laminin (Protein)								+
laminin 5 alpha 3 (mRNA)	+	+						
laminin 5 alpha 3 (Protein)	+		+					+
laminin 5 beta 3 (Protein)	+		+					+
laminin 5 beta 3 (Protein)	+	+						
laminin 5 gamma 2 (Protein)	+	+	+					+
laminin 5 gamma 2 (mRNA)	+	+						
laminin alpha 1 (mRNA)						+	+	
laminin alpha 2 (Protein)								+
laminin alpha 2 (mRNA)						+	+	
laminin alpha 3A (mRNA)	+							
laminin alpha 5 (mRNA)	+	+	+	+	+			
laminin alpha 5 (Protein)								+
Lhx6 (mRNA)						+		

	Mundhöhlenepithel	Äußeres Schmelzepithel	Inneres Schmelzepithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Zahnpapille	Zahnsack	Basalmembran
Lhx7 (mRNA)						+		
MFrp2 (mRNA)							+	
MFrzb1 (mRNA)						+	+	
MFz6 (mRNA)	+		+	+	+			
MK (mRNA)		+	+			+	+	
MK (Protein)			+			+		+
Msx1 (mRNA)						+	+	
Msx2 (mRNA)		+	+	+	+	+		
N-myc (mRNA)						+		
Notch-1 (mRNA)		+	+	+	+			
Notch-2 (mRNA)		+	+	+	+	+		
Notch-3 (mRNA)					+	+		
Odc (Protein, mRNA)			+	+	+			
Otlx2 (mRNA)		+	+	+	+			
p21(WAF1/CIP1) (mRNA)			+					
p21(WAF1/CIP1) (Protein)			+					
Pax9 (mRNA)						+		
plakoglobin (Protein)	+	+	+	+	+			
Prx2 (mRNA)						+	+	
RARalpha (mRNA)	+	+	+		+	+		
RARbeta (mRNA)	+	+				+		
RARgamma (mRNA)	+	+	+		+	+		
RXRalpha (mRNA)	+	+	+		+			
RXRbeta (mRNA)	+	+	+	+	+	+	+	
Sonic hedgehog (mRNA)			+					
Sox9 (mRNA)	+	+	+		+	+		
syndecan 1 (mRNA)	+	+	+	+	+	+	+	
syndecan 1 (Protein)	+	+		+			+	
Tabby (mRNA)		+						
tenascin (Protein)	+					+		+
tenascin-C (mRNA)						+		
Tgf beta-1 (mRNA)			+					
Tgf beta-1 (Protein)				+				
Tgf beta-3 (mRNA)				+				
Tgf betaRII (mRNA)						+	?	
Timp (mRNA)						+		
tuftelin (Protein)			+			+		
Wnt-3 (mRNA)			+					
Wnt-4 (mRNA)		+	+	+	+			

	Mundhöhlenepithel	Äußeres Schmelzepithel	Inneres Schmelzepithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Zahnpapille	Zahnsack	Basalmembran
Wnt-5a (mRNA)						+	+	
Wnt-6 (mRNA)		+	+	?	+			
Wnt-7b (mRNA)		+	+	+	+			
Wnt10b (mRNA)			+					

Nach [www.bite-it.helsinki.fi](http://www.bite-it.helsinki.fi) (2002)

#### 4. Genexpression während des Differenzierungsstadiums

	Äußeres Schmelz-epithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Prä-ameloblasten	Zahn-papille	Zahn-sack	Odonto-blasten	Basal-membran
amelogenin (Protein)				+				
Az-1 (Protein, mRNA)		+	+	+	+		+	
Barx-1 (mRNA)					+		+	
basalmembran proteoglykan (Protein)								+
beta-catenin (Protein)	+	+	+	+	+			
Bmp2 (mRNA)					+		+	
Bmp3 (mRNA)						+		
Bmp4 (mRNA)					+		+	
Bmp5 (mRNA)				+				
Bmp7 (mRNA)				+			+	
Bmp7 (Protein)				+			+	
BP-230 (Protein)	+	+	+	+				
c-met (mRNA)	+	+		+				
Cbfa1 (mRNA)						+		
CD44 (mRNA)	+		+	+				
collagen typ I (alpha1) (mRNA)					+	+	+	
collagen typ III (alpha1) (Protein)					+	+		
collagen typ III (alpha1) (mRNA)					+	+	+	
collagen typ IV (Protein)								+
cyclin A (Protein)		+	?	+				
dentin sialophosphoprotein (mRNA, Protein)				+			+	
desmoglein (Protein)			+	+				
Dlx2 (Protein)	+	+	+	+	+			
Dlx2 (mRNA)	+		+	+				
Dlx3 (mRNA)				+	+		+	
Dlx5 (mRNA)	+		?	?	+			
Dlx6 (mRNA)	+		?	?	+			
Dlx7 (mRNA)		+			+			
E-cadherin (Protein)	+	+	+	+				
Egr-1 (mRNA)	+			+	+	+	+	
Fgf1 (Protein)			+	+				
Fgf10 (mRNA)					+		+	
Fgf2 (Protein)		+			+	+		

	Äußeres Schmelzepithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Prä-ameloblasten	Zahnpapille	Zahnsack	Odontoblasten	Basalmembran
Fgf3 (mRNA)					+		+	
FGFR1 (mRNA)			+	+	+		+	
FGFR1(IIIb) (mRNA)	+		?	+			+	
FGFR1(IIIc) (mRNA)			?	+			+	
FGFR2(IIIb) (mRNA)	+	+	+	+				
fibroglycan (Protein)						+	+	
fibronectin (Protein)		+			+	+		+
GDNF (mRNA)					+	+	+	
gelatinase A (mRNA)					+	+	+	
GFR alpha-1 (mRNA)					+		+	
GFR alpha-2 (mRNA)					+			
heparansulfat (Protein)	+		+		+	+	+	+
HGF (mRNA)					+			
integrin beta 5 (mRNA)	+	+	+	+	+	+	+	
laminin (Protein)								+
laminin 5 alpha 3 (mRNA)	+			+				
laminin 5 alpha 3 (Protein)				+				
laminin 5 beta 3 (Protein)				+				
laminin 5 beta 3 (mRNA)	+			+				
laminin 5 gamma 2 (Protein)				+				
laminin 5 gamma 2 (mRNA)	+			+				
laminin alpha 1 (mRNA)					+	+		
laminin alpha 2 (Protein)								+
laminin alpha 2 (mRNA)						+	+	
laminin alpha 5 (mRNA)	+	+	+	+				
laminin alpha 5 (Protein)								+
Lhx6 (mRNA)					+			
Lhx7 (mRNA)					+			
MK (mRNA)			+	+	+		+	
MK (Protein)			+	+	+		+	+
Msx1 (mRNA)					+	+	+	
Msx2 (mRNA)	+	+	+		+		+	
Notch-1 (mRNA)			+					
Notch-2 (mRNA)	+	+	+		+			
Notch-3 (mRNA)			+		+			
Odc (Protein, mRNA)		+	+	+	+			
P-cadherin (Protein)				+				
p21(WAF1/CIP1) (mRNA)				+			+	
p21(WAF1/CIP1) (Protein)				+			+	

	Äußeres Schmelzepithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Prä-ameloblasten	Zahnpapille	Zahnsack	Odontoblasten	Basalmembran
plakoglobin (Protein)	+	+	+	+	?	?	?	?
procollagen typ III (alpha1) (mRNA)					+	+	+	
Raf1 (Protein)							+	
RARalpha (mRNA)	+	+	+		+	+	+	
RARbeta (mRNA)	+					+	+	
RARgamma (mRNA)	+				+		+	
RXRalpha (mRNA)	+		+	+			+	
RXRbeta (mRNA)	+			+			+	
RXRgamma (mRNA)					+	+		
Sox9 (mRNA)			+		+			
syndecan 1 (mRNA)	+	+	+	+	+	+		
syndecan 1 (Protein)	?	+	+	+	+			
Tabby (mRNA)	+							
tenascin-C (mRNA)		+			+			
Tgf beta-1 (mRNA)							+	
Tgf beta-1 (Protein)		+						
Tgf beta-2 (mRNA)					+		+	
Tgf beta-3 (mRNA)					+		+	
Timp (mRNA)					+		+	
Timp-1 (mRNA)							+	
tuftelin (Protein)							+	

Nach [www.bite-it.helsinki.fi](http://www.bite-it.helsinki.fi) (2002)

## 5. Genexpression während des Sekretionsstadiums

	Äußeres Schmelz-epithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Ameloblasten	Schmelzmatrix	Zahnpapille	Zahnsack	Odontoblasten	Prä-dentin	Dentin
alkaline phosphatase (Protein)		+	+			+				
ameloblastin (mRNA)				+						
amelogenin (Protein)				+	+					
amelogenin (mRNA)				+						
basement membrane proteoglycan (Protein)									+	
Bmp2 (mRNA)				+				+		
Bmp3 (mRNA)							+			
Bmp4 (mRNA)				+				+		
Bmp5 (mRNA)				+						
Bmp7 (mRNA)				+				+		
Bmp7 (Protein)			+	+	+			+	+	+
bone sialoprotein (mRNA)								+		
Cbfa1 (mRNA)				+			+			
clusterin (mRNA)				+						
collagen typ I (alpha1) (mRNA)						+	+	+		
collagen typ III (alpha1) (Protein)						+	+	+	+	
collagen typ IV (Protein)									+	
dentin phosphoprotein (Protein)								+	+	+
dentin sialophosphoprotein (mRNA)								+		

	Äußeres Schmelz-epithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Ameloblasten	Schmelz-matrix	Zahn-papille	Zahn-sack	Odonto-blasten	Prä-dentin	Dentin
dentin sialoprotein (mRNA, Protein)								+	+	+
E-cadherin (Protein)	+	+	+	+						
Egr-1 (mRNA)				+			+	+		
enamelysin (mRNA)				+				+		
Fgf1 (Protein)			+	+					+	
Fgf2 (Protein)	+	?	+	+						
FGFR1(IIIb) (mRNA)	?	?	?	+		+	?	+		
FGFR1(IIIc) (mRNA)				+		+		+		
FGFR2(IIIb) (mRNA)	+	+								
FGFR2(IIIc) (mRNA)		+					+			
FGFR3(IIIb) (mRNA)						+				
FGFR3(IIIc) (mRNA)							+			
fibronectin (Protein)		+				+	+		+	
GDNF (mRNA)						+		+		
gelatinase A (mRNA)						+	+	+		
GFR alpha-1 (mRNA)						+		+		
GFR alpha-2 (mRNA)						+				
IGF-1 (mRNA)	?	+	+	?		?	?	?		
laminin (Protein)				+						
laminin 5 alpha 3 (mRNA)				+						
laminin 5 alpha 3 (Protein)				+	+					
laminin 5 beta 3 (Protein)				+	+					

	Äußeres Schmelz-epithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Ameloblasten	Schmelzmatrix	Zahn-papille	Zahn-sack	Odonto-blasten	Prä-dentin	Dentin
laminin 5 beta 3 (Protein)				+						
laminin 5 gamma 2 (Protein)				+	+					
laminin 5 gamma 2 (mRNA)				+						
laminin alpha 1 (mRNA)								+		
laminin alpha 5 (mRNA)	+	+	+							
laminin alpha 5 (Protein)									+	
MK (Protein)									+	
Msx1 (mRNA)						+	+	+		
Notch-1 (mRNA)			+							
Notch-2 (mRNA)	+	+	+			+				
Notch-3 (mRNA)			+			+	+			
P-cadherin (Protein)				+						
PTHrP (mRNA)	+	+								
RARalpha (mRNA)	+		+			+	+	+		
RARbeta (mRNA)	+						+	+		
RARgamma (mRNA)	+			+		+		+		
Ret (mRNA)						+				
RXRalpha (mRNA)	+		+	+				+		
RXRbeta (mRNA)	+			+				+		
RXRgamma (mRNA)						+	+			
syndecan 1 (mRNA)	+		+				+			

	Äußeres Schmelz-epithel	Stellate reticulum	Stratum intermedium	Ameloblasten	Schmelzmatrix	Zahnpapille	Zahnsack	Odontoblasten	Prä-dentin	Dentin
syndecan 1 (Protein)	+	+	+				+			
tenascin (Protein)						+		+		
Tenascin-C (mRNA)		+				+				
Tgf beta-1 (mRNA)				+				+		
Tgf beta-1 (Protein)		+				+				
Timp-1 (mRNA)								+		
Timp-2 (mRNA)		+				+		+		
Timp-3 (mRNA)	+	+	+				+			
tuftelin (Protein)			+	+	+			+		
type I PTH/PTHrP Rezeptor (mRNA)						+	+			

Nach [www.bite-it.helsinki.fi](http://www.bite-it.helsinki.fi) (2002)

## 6. Genexpression während der Wurzelbildung

	Zahn- papille	Odonto- blasten	Prädentin	Dentin	Zement	Zemento- blasten	Periodontales Ligament
Bmp7 (Protein)		+	+			+	
bone sialoprotein (Protein)					+	+	
bone sialoprotein (mRNA)						+	
Cbfa1 (mRNA)							+
collagen typ I (alpha1) (mRNA)		+					+
dentin sialoprotein (Protein, mRNA)		+	+	+			
E-cadherin (Protein)						+	+
osteocalcin (mRNA)		+				+	
osteopontin (mRNA)						+	
Timp-1 (mRNA)		+					

Nach [www.bite-it.helsinki.fi](http://www.bite-it.helsinki.fi) (2002)

## LITERATURVERZEICHNIS

Abel O (1935)

Zähne

In „Handwörterbuch der Naturwissenschaften“ Bd. 10, 2. Aufl., S. 731-747

Fischer, Jena

Aberg T, Wozney J, Thesleff I (1997)

Expression patterns of bone morphogenetic proteins (bmps) in the developing mouse tooth suggest poles in morphogenesis and cell differentiation

Dev Dyn 210:383-396

Acampora D, Merlo GR, Paleari L, Zerega B, Postiglione MP, Mantero S, Bober E,

Barbieri O, Simeone A, Levi G (1999)

Craniofacial, vestibular and bone defects in mice lacking the Distal-less-related gene Dlx5

Development 126:3795-3809

Adams AE (1924)

An experimental study of the development of the mouth in the amphibian embryo

J Exp Zool 40:311-380

Adloff P (1899)

Über den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnis von den Dentitionen

Dt Monatsschr Zahnheilkd, Berlin 17:457-464

Adloff P (1916)

Die Entwicklung des Zahnsystems der Säugetiere und des Menschen. Eine Kritik  
der Dimertheorie von Bolk

Meusser, Berlin

Alberch P (1980)

Ontogenesis and morphological diversification

Am Zool 20:653-667

Alberch P, Gould SJ, Oster GF, Wake DB (1979)

Size and shape in ontogeny and phylogeny

Paleobiology 5:296-315

Amendt BA, Semina EV, Alward WLM (2000)

Rieger syndrome: A clinical, molecular and biochemical analysis

Cell Mol Life Sci 57:1652-1666

Andujar MB, Couble P, Couble ML, Magloire H (1991)

Differential expression of type I and type III collagen genes during tooth development

Development 3:691-698

Arechaga J (1995)

The tooth as a model in organogenesis

Int J Dev Biol 39:13-23

Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ (1999)

Notch signaling: Cell fate control and signal integration in development

Science 284:770-776

Atchley WR, Hall BK (1991)

A model for development and evolution of complex morphological structures

Biol Rev Camb Philos Soc 66:101-157

Attisano L, Wrana JL, Cheifetz S, Massague J (1992)

Novel activin receptors: distinct genes and alternative mRNA splicing generate a repertoire of serine/threonine kinase receptors

Cell 68:97-108

Aubin JE, Bellows CG, Turksen K, Liu F, Heersche J (1992)

In "Chemistry and Biology of Mineralized Tissues", Eds. Slavkin, Price  
Elsevier Science, Amsterdam, pp. 267-276

Avery JK (1986)

Pulp

In "Orban's Oral Histology and Embryology" Tenth ed. (Ed Bhasker),  
Mosby Co., St. Louis, pp. 135-174

Aza-Blanc P, Ramirez-Weber FA, Laget MP, Schwartz C, Kornberg TB (1997)

Proteolysis that is inhibited by hedgehog targets Cubitus interruptus protein to the  
nucleus and converts it to a repressor

Cell 89:1043-1053

Baird A, Esch F, Mormede P, Ueno N, Ling N, Bohlen P, Ying SY, Wehrenberg WB,  
Guillemin R (1986)

Molecular characterization of fibroblast growth factor: distribution and biological  
activities in various tissues

Recent Prog Horm Res 42:143

Balogh K, Boros S (1957)

Experimentelle Untersuchungen über die Lymphzirkulation der Pulpa

Österr Z Stomat, Wien 54:393-408

Bascom CC, Sipes NJ, Coffey RJ, Moses HL (1989)

Regulation of epithelial cell proliferation by transforming growth factors

J Cell Biochem 39:25-32

Beasley WL, Holland GR (1978)

A quantitative analysis of the innervation of the pulpa of the cat's canine tooth

J Comp Neurol 178:487-494

Bègue-Kirn C, Smith AJ, Ruch JV, Wozney JM, Purchio A, Hartmann D, Lesot H (1992)

Effects of dentin proteins, transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) and bone morphogenetic protein 2 (BMP2) on the differentiation of odontoblasts in vitro

Int J Dev Biol 36:491-503

Bei M, Maas R (1998)

FGFs and BMP4 induce both Msx1-independent and Msx1-dependent signaling pathway in early tooth development

Development 125:4325-4333

Bellone C, Barni T, Pagni L, Balboni GC, Vannelli GB (1990)

Growth factors in human tooth development

Boll Soc Ital Biol Sper 66:231-238

Bellusci S, Furuta Y, Rush MG, Henderson R, Winnier G, Hogan BL (1997)

Involvement of Sonic hedgehog (Shh) in mouse embryonic lung growth and morphogenesis

Development 124:53-63

Berkovitz BK (1967)

An account of the enamel cord in *Setonix brachyurus* (Marsupialia) and on the presence of an enamel knot in *Trichosurus vulpecula*

Arch Oral Biol 12:49-59

Berkovitz BK (1977)

The order of tooth development and eruption in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*)

J Exp Zool 201:221-226

Berkovitz BK, Sloan P (1979)

Attachment tissues of the teeth in *Calman sclerops* (Crocodilia)

J Zool 187:179-194

Bevelander G, Johnson PL (1946)

The histochemical localization of glycogen in the developing tooth

J Cell Comp Physiol 28:129-137

Bevelander G, Johnson PL (1949)

Alkaline phosphatase in amlogenesis

Anat Rec 104-125-135

Bevelander G, Johnson PL (1955)

The localization of polysaccharides in developing teeth

J Dent Res 34:122

Bhanot P, Brink M, Samos CH, Hsieh JC, Wang Y (1996)

A new member of the frizzled family from Drosophila functions as a Wingless receptor

Nature 382:225-230

Bitgood MJ, McMahon AP (1995)

Hedgehog and Bmp genes are coexpressed at many diverse sites of cell-cell interaction in the mouse embryo

Dev Biol 172:126-138

Blecher SR (1986)

Anhidrosis and absence of sweat glands in mice hemizygous for the Tabby gene: supportive evidence for the hypothesis of homology between Tabby and human anhidrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia (Christ-Siemens-Touraine-Syndrome)

J Invest Dermatol 87:720-722

Blum WF, Jenne EW, Reppin F, Kietzmann K, Ranke MB, Bierich JR (1989)

Insulin-like growth factor I (IGF-I)-binding protein complex is a better mitogen than free IGF-1.

Endocrinology 125(2):766-772

Blundell TL, Bedarker S, Humbel RE (1983)

Tertiary structures, receptor binding, and antigenicity of insulinlike growth factors

Fed Proc 42:2592-2596

Böhn A (1963)

Dental anomalies in harelip and cleft palate

Acta Odontol Scand 21 (Suppl. 38):16-109

Bolt JR, De Mar R (1975)

An explanatory model of the evolution of multiple rows of teeth in *Captorhinus aguti*

J Paleontol 49:814-832

Bosshardt DD, Schröder HE (1991)

Initiation of acellular extrinsic fiber cementum on human teeth

Cell Tissue Res 263:311-324

Bosshardt DD, Schröder HE (1992)

Initial formation of cellular intrinsic fiber cementum in developing human teeth

Calcif Tissue Res 267:321-335

Bosshardt DD, Schröder HE (1996)

Cementogenesis reviewed: a comparison between human premolars and rodent molars

Anat Rec 245:267-292

Brownell AG, Rovero LJ (1980)

DNA synthesis of anamel organ epithelium in vitro is enhanced by co-cultivation with non viable mesenchyme cells

J Dent Res 59:1075-1080

Bradley RS, Brown AM (1990)

The proto-oncogene int-1 encodes a secreted protein associated with the extracellurlar matrix

EMBO J 9:1569-1575

Bradshaw RA, Blundell TL, Lapatto R, McDonald NQ, Murray-Rust J (1993)

Nerve growth factor revisited

Trends Biochem Sci 18:48-52

Branzi A (1953)

Vorkommen und Bedeutung der Plasmazellen in der gesunden menschlichen  
Zahnpulpa  
Österr Z Stomatol 50:225-232

Brown KS (1983)

Evolution and development of the dentition  
Birth Defects 19:29-66

Bulfone A, Kim HJ, Puelles L, Porteus MH, Grippo JF, Rubenstein JL (1993)

The mouse Dlx-2 (Tes-1) gene is expressed in spatially restricted domains of the  
forbrain, face and limbs in midgestation mouse embryos  
Mech Dev 40:129-140

Bures H, Svejda J (1974)

Dentinosklovinna hranice v ruznych oblastech zubni korunky  
Ceskoslov, Stomatol, Praha 162-166

Burgess A (1995)

Growth Factors  
In "Molekular biology and biotechnology",  
Ed Meyers, VCH Publischer Inc., New York, pp. 392-397

Burgess WH, Maciag T (1989)

The heparin-binding fibroblast growth factor family of proteins

Annu Rev Biochem 58:575

Burke AC, Nelson CE, Morgan BA, Tabin C (1995)

Hox genes and the evolution of vertebrate axial morphology

Development 121:333-346

Butler PM (1939)

Studies of the mammalian dentition. Differentiation of the postcanine dentition

Proc Zool Soc Lond 109B:329-356

Butler PM (1956)

The ontogeny of molar pattern

Biol Rev 31:30-71

Butler PM (1967)

The prenatal growth of the human first upper permanent molar

Arch Oral Biol

Butler PM (1972)

Some functional aspects of molar evolution

Evolution 26:474-483

Butler PM (1995)

Ontogenetic aspects of dental evolution

Int J Dev Biol 39:25-34

Cam Y, Neumann MR, Ruch JV (1990)

Immunolocalization of transforming growth factor beta 1 and epidermal growth factor receptor epitopes in mouse incisors and molars with a demonstration of in vitro production of transforming activity

Arch Oral Biol 35:813-822

Cam Y, Neumann MR, Oliver L, Raulais D, Janet T, Ruch JV (1992)

Immunolocalization of acidic and basic fibroblast growth factors during mouse Odontogenesis

Intl J Dev Biol 36:381-389

Caron C, Xue J, Sun X, Simmer JP, Bartlett JD (2001)

Gelatinase A (MMP-2) in developing tooth tissues and amelogenin hydrolysis

J Dent Res 80(7):1660-1664

Carpenter G, Wahl MI (1991)

In „Peptide Growth Factors and Their Receptors I“, Eds. Sporn, Robert

Springer Verlag, New York, pp. 69-171 m

Centrella M, McCarthy TL, Canalis E (1987)

Mitogenesis in fetal rat bone cells simultaneously exposed to type beta transforming growth factor and other growth regulators

FASEB J 1:312-317

Chai Y, Mah A, Crohin C, Groff S, Bringas P Jr, Le T, Santos V, Slavkin HC (1994)

Specific transforming growth factor- subtypes regulate embryonic mouse Meckel's cartilage and tooth development

Dev Biol 162:85-103

Chang DT, Lopez A, von Kessler DP, Chiang C, Simandl BK, Zhao R, Seldin MF, Fallon JF, Beachy PA (1994)

Products, genetic linkage and limb patterning activity of a murine hedgehog Gene

Development 120(11):3339-53

Chase SW (1929)

Additional evidence of the keratinous nature of the enamel matrix

J Dent Res 9:288

Chazaud C, Oulad-Abdelghani M, Bouillet P, Décimo D, Chambon P, Dollé P (1996)

AP-2.2, a novell gene related to AP-2, is expressed in the forebrain, limbs and face during mouse embryogenesis

Mech Dev 54:83-94

Chen Y, Bei M, Woo I (1996)

Msx1 controls inductive signalling in mammalian tooth morphogenesis

Development 122:3035-3044

Chiang VG, Morley M, Aguilar F, Massimi A, Kucherlapati R, Childs G (1999)

Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function

Nature 383:407-413

Chibon P (1966)

Analyse expérimentale de la régionalisation et des capacités morphogénétiques de la crete l'amphibien rodéle *Pleurodeles waltlii*

Michah Mém Soc Zool Fr 36:1-107

Cho MI, Garant PR (1988)

Ultrastructural evidence of directed cell migration during initial cementoblast differentiation in root formation

J Periodontal Res 23:268-276

Christiansen JH, Dennis CL, Wicking CA, Monkley SJ, Wilkinson DG, Wainwright BJ  
(1995)

Murine Wnt-11 and Wnt-12 have temporally and spatially restricted expression  
patterns during embryonic development

Mech Dev 51:341-350

Chuong CM (1998)

Molecular Basis of Epithelial Appendage Morphogenesis

Landes Company, Austin, Texas

Clemen G, Greven H (1977)

Morphologische Untersuchungen an der Mundhöhle von Urodelen. III.

Munddachbezahnung von *Ambystoma mexicanum* Cope (Ambystomatidae,  
Amphibia)

Zool Jb Anat 98: 95-136

Clemen G, Greven H (1979)

Morphologische Untersuchungen an der Mundhöhle von Urodelen. V. Die

Munddachbezahnung von *Triturus vulgaris* (L.) (Salamandridae, Amphibia)

Zool Jb Anat 102:170-188

Coburne MT, Hardcastle Z, Sharpe PT (2001)

Sonic hedgehog regulates epithelial proliferation and cell survival in the developing tooth germ

J Dent Res 80:1974-1979

Coffey RJ Jr, Sipes NJ, Bascom CC, Graves-Deal R, Pennington CY, Weissmann BE, Moses HL (1988)

Growth modulation of mouse keratinocytes by transforming growth factors

Cancer Res 48:1596

Clemmons DR (1989)

Structural and functional analysis of insulin-like growth factors

Br Med Bull 45(2):465-480

Cohen S (1965)

The stimulation of epidermal proliferation by a specific protein (EGF)

Dev Biol 12:394-407

Cohn SA (1957)

Development of the molar teeth in the albino mouse

Am J Anat 101:295-320

Colvin JS, Feldman B, Nadeau JH, Goldfarb M, Ornitz DM (1999)

Genomic organization and embryonic expression of the mouse fibroblast growth factor 9 gene

Dev Dyn 216:72-88

Colvin JS, Green RP, Schmahl J, Capel B, Ornitz DM (2001)

Male-to-female sex reversal in mice lacking fibroblast growth factor 9

Cell 104:875-889

Cope ED (1883)

Note on the trituberculate type of superior molar and origin of the quadrituberculate

Am Nat 17:407-408

Cristoff K (1927)

Schmelzrand am Zement und seine Beziehung zur Halscaries

Dt Monatsschr Zahnheilkd 45:596-618

Crompton AW, Luo Z (1993)

Relationship of the Liassic mammals Sinoconodon, Morganucodon oehleri, and Dinnetherium

In "Mammal Phylogeny", Vol. 1, Eds. Szalay, Novacek, McKenna, pp. 30-40,

Springer Verlag, Berlin

Cserjesi P, Lilly B, Bryson L, Wang Y, Sassoon DA, Olson EN (1992)

MHox: a mesodermally restricted homeodomain protein that binds an essential site in the muscle creatine kinase enhancer

Development 115:1087-1101

Currie PD, Ingham PW (1996)

Induction of a specific muscle cell type by a hedgehog-like protein in zebrafish

Nature 382:492-495

Czermak J (1850)

Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der menschlichen Zähne

Z Wiss Zool 2:297-322

Dahl E, Koseki H, Balling R (1997)

Pax genes and organogenesis

Bioessays 19:755-765

Dassule HR, McMahon AP (1998)

Analysis of epithelial-mesenchymal interactions in the initial morphogenesis of the mammalian tooth

Dev Biol 202:215-227

Dassule HR, Lewis P, Bei M, Maas R, McMahon AP (2000)

Sonic hedgehog regulates growth and morphogenesis of the tooth

Development 127:4775-4785

Daughaday WH, Rotwein P (1989)

Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations

Endocr Rev 10:68-91

Davideau JL, Sahlberg C, Thesleff I, Berdal A (1995)

EGF receptor expression in mineralized tissues: An in situ hybridization and immunocytochemical investigation in rat and human mandibles

Connect Tissue Res 32:47-53

De Beer GR (1940)

Embryos and ancestors

Clarendon Press, Oxford

De Moerlooze L, Spencer-Dene B, Revest J, Hajihosseini M, Rosewell I, Dickson C (2000)

An important role for the IIIb isoform of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) in mesenchymal-epithelial signaling during mouse organogenesis

Development 127:483-492

Deng C, Zhang P, Harper JW, Elledge SJ, Leder P (1995)

Mice lacking p21 CIP1/WAF1 undergo normal development, but are defective in G1 checkpoint control  
Cell 82:675-684

Depew MJ, Liu JK, Long JE, Presley R, Meneses JJ, Pedersen RA, Rubenstein JL (1999)

Dlx5 regulates regional development of the branchial arches and sensory capsules  
Development 126:3831-3846

D'Ercole AJ, Stiles AD, Unterwood LE (1984)

Tissue concentrations of somatomedin C: Further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action  
Proc Natl Acad Sci U S A 81:935-939

Derynck R, Jarrett JA, Chen EY, Goeddel DV (1986)

The murine transforming growth factor-beta precursor  
J Biol Chem 261:4377-4379

DeTerra (1911)

Vergleichende Anatomie des menschlichen Gebisses und der Zähne der Vertebraten  
Fischer, Jena

Detzel BI (1965)

Histochemische Untersuchung der Zahnentwicklung bei der weißen Maus

Inaug.-Diss., München, Inst. für Histologie und experimentelle Biologie

Ding M, Robel L, James AJ, Eisenstat DD, Leckman JF, Rubenstein JL, Vaccarino FM  
(1997)

Dlx-2 homeobox gene controls neuronal differentiation in primary cultures of  
developing basal ganglia

J Mol Neurosci 8:93-113

Dixon MJ, Garner J, Ferguson MW (1991)

Immunolocalization of epidermal growth factor (EGF), EGF receptor and  
transforming growth factor alpha (TGF alpha) during murine palatogenesis in vivo  
and in vitro

Anat Embryol 184:83-91

Doi T, Striker LJ, Elliot SJ, Conti FG, Striker GE (1989)

Insulinlike growth factor-1 is a progression factor for human mesangial cells

Am J Pathol 134:395-404

Dolle P, Price M, Duboule D (1992)

Expression of the murine Dlx-1 homeobox gene during facial, ocular and limb development

Differentiation 49:93-99

Dominguez M, Hafen E (1997)

Hedgehog directly controls initiation and propagation of retinal differentiation in the Drosophila eye

Genes Dev 11:3254-3264

D'Souza RN, Happonen RP, Ritter NM, Butler WT (1990)

Temporal and spatial patterns of transforming growth factor-beta 1 expression in developing rat molars

Arch Oral Biol 35:957-965

D'Souza RN, Litz M (1995)

Analysis of tooth development in mice bearing a TGF-1 null mutation

Connect Tissue Res 32:41-46

D'Souza RN, Aberg T, Gaikwad J, Cavender A, Owen M, Karsenty G, Thesleff I (1999)

Cbfa 1 is required for epithelial-mesenchymal interactions regulating tooth development in mice

Development 126:2911-2920

Duboule D (1994)

Guidebook to the Homeobox Genes

Oxford University Press

Duboule D, Dolle P (1989)

The structural and functional organization of the murine HOX gene family resembles that of Drosophila homeotic genes

EMBO J 8:1497-1505

Dudley AT, Robertson EJ (1997)

Overlapping expression domains of bone morphogenetic protein family members potentially account for limited tissue defects in BMP7 deficient embryos

Dev Dyn 208:349-362

Dzwillo M, Kaiser P, Ladiges W, Remmert H, Röhrs M, Mohr E (1973)

In "Das neue Tierreich nach Brehm"

Verlagsgruppe Bertelsmann GmbH, Gütersloh, Berlin, München, Wien

von Ebner V (1890)

Strittige Fragen über den Bau des Zahnschmelzes

Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl.3; 99:57-104

von Ebner V (1891)

„Histologie der Zähne mit Einschluss der Histogenese“

Handbuch der Zahnheilkunde, Bd. I, Wien

von Ebner V (1902)

In Köllikers „Handbuch der Gewebelehre des Menschen“

Bd. 3, 6. Aufl., 74-126, W. Engelmann, Leipzig

Echelard Y, Epstein DJ, St-Jaques B, Shen L, Mohler J, McMahon JA, McMahon AP  
(1993)

Sonic Hedgehog, a member of a family of putative signalling molecules, is  
implicated in the regulation of CNS polarity

Cell 75:1417-1430

Edmund AG (1960)

Tooth replacement phenomena in the lower vertebrates

Contr Life Sci Div R Ont Mus 52:1-190

Edmund AG (1969)

Dentition

In “Biology of the Reptilia. Vol. I”, Eds. Gans, Bellair, Parsons

Academic Press, London, pp. 117-200

Eisen JS, Weston JA (1993)

Development of the neural crest in the zebrafish

Dev Biol 159:50-59

Ekker SC, McGrew LL, Lai CJ, Lee JJ, von Kessler DP, Moon RT, Beachy PA (1995)

Distinct expression and shared activities of members of the hedgehog gene family of *Xenopus laevis*

Development 121:2337-47

Ericson J, Morton S, Kawakami A, Roelink H, Jessell TM (1996)

Two critical periods of Sonic Hedgehog signalling required for the specification of motor neuron identity

Cell 87:661-73

Euler H (1921)

Metaplasie der Pulpa

Vjschrift Zahnheilkd, Berlin 37:303

Falconer DS (1952)

A totally sex-linked gene in the house mouse

Nature 169:664-665

Feldman B, Poueymirou W, Papiroannou VE, DeChiara TM, Goldfarb M (1995)

Requirement of FGF-4 for postimplantation mouse development

Science 267:246-249

Ferguson MWJ (1990)

The dentition through life

In "The Dentition and Dental Care", Ed. Elderton, pp. 1-29, Oxford: Heinemann

Ferguson BM, Brockdorff N, Formstone E, Ngyuen T, Kronmiller JE, Zonana J (1997)

Cloning of tabby, the murine homolog of the human eda gene - evidence for a membrane-associated protein with a short collagenous domain

Hum Mol Genet 6:1589-1594

Ferguson CA, Tucker AS, Christensen L, Lau AL, Matzuk MM, Sharpe PT (1998)

Activin is an essential early mesenchymal signal in tooth development that is required for patterning of the murine dentition

Genes Dev 12:2636-2649

Ferguson CA, Tucker AS, Sharpe PT (2000)

Temporalspatial cell interactions regulating mandibular and maxillary arch patterning

Development 127:403-412

Ferguson CA, Tucker AS, Heikinheimo K, Nomura M, Oh P, Li E, Sharpe PT (2001)

The role of effectors of the activin signalling pathway, activin receptors IIA and IIB, and Smad2, in patterning of tooth development

Development 128:4605-4613

Fong CD, Slaby I, Hammarström L (1996)

Amelin: an enamel-related protein, transcribed in the cells of epithelial root sheath

J Bone Miner Res 11:892-898

Fortelius M (1985)

Ungulate cheek teeth: developmental, functional and evolutionary interrelations

Acta Zool Fennica 180:1-76

Fosse G (1968)

V. Prism density and pattern on the outer and inner surface of the enamel mantle of canines

A quantitative analysis of the numerical density and the distributional pattern of prisms and ameloblasts in dental enamel and tooth germs

Acta Odontol Scand 26:501-543

Fosse G, Risnes S (1972)

Development of the teeth in a pouch-young specimen of *Isoodon obesulus* and one of *Perameles gunii* (Peramelidae: Marsupialia)

Arch Oral Biol 17:829-838

Freeman E, Ten Cate AR (1971)

Development of the periodontium: an electron microscopic study

J Periodontol 42:387-395

Fromme HG, Höhling HJ, Riedel H (1971)

Elektronenmikroskopische Studien über die Dentinbildung

1. Mitt.: Lokalisation von Calcium und alkalischer Phosphatase

Dt zahnärztl Z 359-364

Fromme HG, Höhling HJ, Riedel H (1972)

Elektronenmikroskopische Studien über die Dentinbildung

2. Mitt.: Autoradiographische Untersuchungen zur Funktion der Odontoblasten

Dt zahnärztl Z 27:6-13

Fukiishi Y, Morriss-Kay GM (1992)

Migration of cranial neural crest cells to the pharyngeal arches and heart in rat embryos

Cell Tissue Res 268:1-8

Fullmer HM, Alpher N (1958)

Histochemical polysaccharide reactions in human developing teeth

Lab Invest 7:163-170

Gaunt WA (1959)

The development of the deciduous cheek teeth of the cat

Acta Anat 38:187-212

Gaunt WA (1964)

The development of the teeth and jaw of the albino mouse

Acta Anat 57:115-151

Gaunt SJ, Miller JR, Powell DJ, Duboule D (1986)

Homeobox Gene Expression in mouse embryos varies with position by the primitive streak stage

Nature 324:662-664

Gaunt SJ, Blum M, De Robertis EM (1993)

Expression of the mouse goosecoid gene during mid-embryogenesis may mark mesenchymal cell lineages in the developing head, limbs and body wall

Development 117:769-778

Gebhardt G (1923)

Vergleichende Untersuchungen über die Zahl der Dentinkanälchen am  
bleibenden menschlichen Gebiss

Med. Diss., Frankfurt a. M.

Gehring WJ, Muller M, Affolter M, Percival-Smith A, Billeter A, Qian YQ, Otting G,  
Wuthrich K (1990)

The structure of the homeodomain and its functional implications

Trends Genet 6:323-329

Geiser AG, Letterio JJ, Kulkarni AB, Karlsson S, Roberts AB, Sporn MB (1993)

Transforming growth factor beta 1 (TGF-beta 1) controls expression of major  
histocompatibility genes in the postnatal mouse: aberrant histocompatibility

antigen expression in the pathogenesis of the TGF-beta 1 null mouse phenotype

Proc Natl Acad Sci U S A 90:9944-9948

Glasstone S (1963)

Regulative changes in Tooth Germ Grown in Tissue Culture

J Dent Res 42:1364

Globus RK, Patterson-Buckendahl P, Gospodarowicz D (1988)

Regulation of bovine bone cell proliferation by fibroblast growth factor and  
transforming growth factor

Endocrinology 123:98-105

Goodrich LV, Johnson RL, Milenkovic L, McMahon JA, Scott MP (1996)

Conservation of the hedgehog/patched signaling pathway from flies to mice:  
induction of a mouse patched gene by Hedgehog  
Genes Dev 10:301-12

Gottlieb B (1921a)

Der Epithelansatz am Zahne

Dt Monatsschr Zahnheilkd 39:142-147

Gottlieb B (1921b)

Ätiologie und Prophylaxe der Zahncaries

Osterr Z Stomatol 19:129-152

Gould SJ (1977)

Ontogeny and Phylogeny

Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts

Gould SJ (1992)

Ontogeny and phylogeny revisited an reunited

Bioessays 14:275-279

Graham A, Papalopulu N, Krumlauf R (1989)

The murine and Drosophila homeobox gene complexes have common features of organization and expression

Cell 57:367-378

Graham A, Francis-West P, Brickell P, Lumsden A (1994)

The signalling molecule BMP4 mediates apoptosis in the rhombencephalic neural crest

Nature 372:684-686

Grassé PP, Dekeyser PL (1955)

Ordre des rongeurs

In "Traté de Zoologie", XVII-Mammifères (Ed. Grassé),

Masson et Cie Éditeurs, Paris, pp. 1321-1525

Green PD, Hjalt TA, Kirk DE, Sutherland LB, Thomas BL, Sharpe PT, Snead ML, Murray JC, Russo AF, Amendt BA (2001)

Antagonistic regulation of Dlx2 expression by Pitx2 and Msx2: implications for tooth development

Gene Expr 9:265-281

Gregory WK (1922)

The origin and evolution of the human dentition

Williams & Wilkins, Baltimore

Gregory WK (1926)

Paläontology of the human dentition: Ten structural stages in the evolution of the cheek teeth

Am J Phys Anthropol 9:401-426

Gregory WK (1934)

A half-century of trituberculy. The Cope-Osborn theory of dental evolution, with a revised summary of molar evolution from fish to man

Proc Am Philos Soc 73:169-317

Grigoriou M, Tucker AS, Sharpe PT, Pachnis V (1998)

Expression and regulation of Lhx6 and Lhx7, a novel subfamily of LIM homeodomain encoding genes, suggests a role in mammalian head development

Development 125:2063-2074

Grindley JC, Bellusci S, Perkins D, Hogan BL (1997)

Evidence for the involvement of the Gli gene family in embryonic mouse lung development

Dev Biol 188:337-348

Gritli-Linde A, Lewis P, McMahon AP, Linde A (2001)

The whereabouts of a morphogen: Direct evidence for short- and graded long-range activity of Hedgehog signaling peptides

Dev Biol 236:364-386

Grüneberg H (1965)

Genes and genotypes affecting the teeth of the mouse

J Embryol Exp Morph 14:137-159

Grüneberg H (1966)

The molars of the tabby mouse, and a test of the 'single-active X-chromosome'  
hypothesis

J Embryol Exp Morph 15(2):223-244

Grüneberg H (1971)

The glandular aspects of the tabby syndrome in the mouse

J Embryol Exp Morph 25(1):1-19

Gwinnett AJ (1973)

Human prismless enamel and its influence on sealant penetration

Arch Oral Biol 18:441-444

Hall BK (1984)

Developmental mechanisms underlying the formation of atavisms

Biol Rev Camb Philos Soc 59:89-124

Halstead BL (1987)

Evolutionary aspects of neural crest-derived skeletogenic cells in the earliest vertebrates

In "Development and Evolutionary Aspects of the Neural Crest "

Ed. P.F.A. Maderson

John Wiley, New York, pp. 339-357

Han SS, Avery JK, Hale LE (1965)

The fine structure of intercellular substance and rounded cells in the incisor pulp of the guinea pig

Anat Rec 151:41-57

Hansson HA, Billig H, Isgaard J (1989)

Insulin-like growth factor I in the developing and mature rat testis:

Immunohistochemical aspects

Biol Reprod 40:1321-1328

Harada H, Kettunen P, Jung HS, Mustonen T, Wang YA, Thesleff I (1999)

Localization of putative stem cells in dental epithelium and their association with Notch and FGF signaling

J Cell Biol 147:105-120

Harada H, Toyono T, Toyoshima K, Yamasaki M, Itoh N, Kato S, Sekine K, Ohuchi H  
(2002)

FGF10 maintains stem cell compartment in developing mouse incisor

Development 129:1533-1541

Hardcastle Z, Mo R, Hui CC, Sharpe PT (1998)

The shh signalling pathway in tooth development - defects in gli2 and gli3  
mutants

Development 125:2803-2811

Hardcastle Z, Hui C, Sharpe PT (1999)

The Shh signalling pathway in early tooth development

Cell Mol Biol 45:567-578

Hassal AH (1852)

Mikroskopische Anatomie des menschlichen Körpers im gesunden und kranken  
Zustande

Schäfer, Leipzig

Hata R, Bessem C, Bringas P Jr, Hsu MY, Slavkin HC (1990)

Epidermal growth factor regulates Gene Expression of both epithelial and  
mesenchymal cells in mouse molar tooth organs in culture

Cell Biol Int Rep 14:509-519

Hattasy D (1964)

Observations on the nerves of the human dental pulp

Electron Microsc, ed. by Titibach, Vol. B. 425-426, Publ. House Czechosl.

Hayashi S (1932)

Untersuchungen über die arterielle Blutversorgung des Periodontiums

Dt Monatsschr Zahnheilkd 50:145-179

Headon DJ, Overbeek PA (1999)

Involvement of a novel TNF receptor homolog in hair follicle development

Nat Genet 22:370-374

Hees H, Sinowatz F (2000)

Zähne

In „Histologie, Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie“

Deutscher Ärzteverlag, Köln

Heikinheimo K, Happonen RP, Miettinen PJ, Ritvos O (1993a)

Transforming growth factor beta 2 in epithelial differentiation of developing teeth  
and odontogenetic tumors

J Clin Invest 91:1019-1027

Heikinheimo K, Voutilainen R, Happonen RP, Miettinen PJ (1993b)

EGF receptor and its ligands, EGF and TGF-alpha, in developing and neoplastic human odontogenetic tissues

Int J Dev Biol 37:387-396

Heikinheimo K, Bègue-Kirn C, Ritvos O, Tuuri T, Ruch JV (1998)

Activin and bone morphogenetic protein (BMP) signalling during tooth development

Eur J Oral Sci 106(Suppl 1):167-173

Heine U, Munoz EF, Flanders KC, Ellingsworth LR, Lam HY, Thompson NL, Roberts AB, Sporn MB (1987)

Role of transforming growth factor-beta in the development of the mouse embryo  
J Cell Biol 105:2861-2876

Helder MN (1994)

The bone morphogenetic proteins 3 and 7 (BMP-3 and BMP-7) in developing bones and teeth. Thesis.

Free University Press, Amsterdam

Helder MN, Karg H, Bervoets TJ, Vukicevic S, Burger EH, D'Souza RN, Woltgens JH,  
Karsenty G, Bronckers AL (1998)

Bone morphogenetic protein-7 (osteogenic protein-1, OP-1) and tooth  
development

J Dent Res 77:545-554

Henzen W (1957)

Transplantationen zur entwicklungsphysiologischen Analyse der lavalen  
Mundorgane bei Bombinator und Triton

W Roux Arc Entw Mech Org 149:387-442

Hermann R (1956)

Das Verhalten der Nukleinsäure im Laufe der Zahnentwicklung

Z Zellforschg 45:176-194

Hertwig O (1874)

Über das Zahnsystem der Amphibien und seine Bedeutung für die Genese des  
Skeletts der Mundhöhle

Arch Mikrok Anat 11 (Suppl.1)

Hill RE, Jones PF, Rees AR, Sime CM, Justice MJ, Copeland NG, Jenkins NA,  
Graham E, Davidson DR (1989)

A new family of mouse homeo box-containing genes: molecular structure,  
chromosomal location, and developmental expression of Hox-7.1  
Genes Dev. 3:26-37

Hirschfeld Z, Weinreb MM, Michaeli Y (1973)

Incisors of the rabbit: morphology, histology and development  
J Dent Res 52:377-384

Hjalt TA, Murray JC (1999)

The human BARX2 gene : genomic structure, chromosomal localization, and  
single nucleotide polymorphisms  
Genomics 62:456-459

Hoang BH, Thomas JT, Abdul-Karim FW, Vorreia KM, Conlon RA, Luyten FP (1998)

Expression pattern of two Fizzled-related genes, Frzb-1 and Sfrp-1, during mouse  
embryogenesis suggests a role for modulating action of Wnt family members  
Dev Dyn 212:364-372

Hoffman RL (1960)

Formation of periodontal tissues around subcutaneously transplanted hamster  
Molars  
J Dent Res 39:781-798

Hogan BL (1996a)

Bone morphogenetic proteins in development

Curr Opin Genet Dev 6:432-438

Hogan BL (1996b)

Bone morphogenetic proteins: multifunctional regulators of vertebrate development

Genes Dev 10:1580-1594

Holland GR (1980)

Non-myelinated nerve fibres and their terminals in the sub-odontoblastic plexus of the feline dental pulp

J Anat 130:457-467

Hooper JE, Scott MP (1989)

The Drosophila patched gene encodes a putative membrane protein required for segmental patterning

Cell 59:751-765

Hopewell-Smith A (1923)

Some observations on the histology, physiology and pathology of the dental pulp

Proc R Soc Med Sect Odont 16:58-71

Horowitz NH (1942)

Histochemical study of phosphatase and glycogen in foetal heads

J Dent Res 21:519-527

Hotta M, Baird A (1986)

Differential effects of transforming growth factor type  $\beta$  on the growth and function of adrenocortical cells in vitro

Proc Natl Acad Sci U S A 83:7795

Hu CC, Sakakura Y, Sasano Y, Shum L, Bringas P Jr, Werb Z, Slavkin HC (1992)

Endogenous epidermal growth factor regulates the timing and pattern of embryonic mouse molar tooth morphogenesis

Int J Dev Biol 36:505-516

Hu G, Vastardis H, Bendall AJ, Wang Z, Logan M, Zhang H, Nelson C, Stein S, Greenfield N, Seidman CE, Seidmann JG, Abate-Shen C (1998)

Haploinsufficiency of MSX1: a mechanism for selective tooth agenesis

Mol Cell Biol 18:6044-6051

Huber O, Korn R, McLoughlin J, Ohsugi M, Herrmann BG, Kemler R (1996)

Nuclear localization of beta-catenin by interaction with transcription factor

LEF-1

Mech Dev 59:3-10

Hui CC, Slusarski D, Platt KA, Holmgren R, Joyner AL (1994)

Expression of three mouse homologs of the *Drosophila* segment polarity gene *cubitus interruptus*, *Gli*, *Gli-2*, and *Gli-3*, in ectoderm- and mesoderm, derived tissues suggests multiple roles during postimplantation development

Dev Biol 162:402-413

Hunt P, Gulisano M, Cook M, Sham MH, Faiella A, Wilkinson D, Boncinelli E, Krumlauf R (1991)

A distinct Hox code for the branchial region of the vertebrate head

Nature 353:861-864

Hunt P, Krumlauf R (1991)

Deciphering the Hox code: clues to patterning branchial regions of the head

Cell 66:1075-1078

Hunter J (1771)

The natural history of the human teeth

Johnson, London

Hunter JP, Jernvall J (1995)

The hypocone as a key innovation in mammalian evolution

Proc Natl Acad Sci U S A 92:10718-10722

Ignotz RA, Massague J (1986)

Transforming growth factor-beta stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix

J Biol Chem 261:4337

Imai H, Osumi-Yamashita N, Ninomiya Y, Eto K (1996)

Contribution of early-emigrating midbrain crest cells to the dental mesenchyme of mandibular molar teeth in rat embryos

Dev Biol 176:151-165

Ingham PW (1995)

Signalling by hedgehog family proteins in Drosophila and vertebrate development

Curr Opin Genet Dev 5:492-498

Isaksson OGP, Lindahl A, Nilsson A, Isgaard J (1988)

Action of growth hormone: Current views

Acta Paediatr, Scand (Suppl) 343:12-18

Iso T, Sartorelli V, Poizat C, Iezzi S, Wu HY, Chung G, Kedes L, Hamamori Y (2001)

HERP, a novel heterodimer partner of HES/E(spl) in Notch signaling

Mol Cell Biol 21:6080-6089

Iso T, Kedes L, Hamamori Y (2003)

HES and HERP families : multiple effectors of the Notch signaling pathway

J Cell Physiol 194:237-255

Isokawa S (1960)

Über das Lymphsystem des Zahnes

Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie, Berlin (W),

Abt. A. 52, 140-149

Isokawa S, Kosakai T, Kajiyama S (1963)

Interglobulardentine in the deciduous tooth

J Dent Res 42:831-834

Janis CM, Fortelius M (1988)

On the means whereby mammals achieve increased functional durability of their dentitions, with special reference to limiting factors

Biol Rev 63:197-230

Jarvik E (1944)

On the dermal bones, sensory canals and pit lines of the skull in Eusthenopteron foordiWsh iteaves, with some remarks on Eusthenopteron sävesöderberghi

Jarvik Kung Sv Vet AkadHandl Ser 3 21:1-48

Jasswain GW, Mechteis JA (1933)

Beiträge zur Biologie der Zahnpulpa. I. Über die Elemente des reticulo-  
endothelialen Systems im Zahne (und in dessen Nachbargewebe)

Dt Monatsschr Zahnheilkd, Berlin 31:118-130

Jernvall J (1995)

Mammalian molar cusp patterns: developmental mechanisms of diversity

Acta Zool Fennica 198:1-61

Jernvall J, Kettunen P, Karavanova I, Martin LB, Thesleff I (1994)

Evidence for the role of the enamel knot as a control center in mammalian  
tooth cusp formation: non-dividing cells express growth stimulating Fgf-4 gene

Int J Dev Biol 38:463-469

Jernvall J, Hunter JP, Fortelius M (1996)

Molar tooth diversity, disparity and ecology in Cenozoic ungulate  
radiations

Science 274:1489-1492

Jernvall J, Aberg T, Kettunen P, Keränen S, Thesleff I (1998)

The life history of an embryonic signalling center: BMP-4 induces p21 and is  
associated with apoptosis in the mouse tooth enamel knot

Development 125:161-169

Jernvall J, Thesleff I (2000)

Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis

Mech Dev 92:19-29

Jernvall J, Hunter JP, Fortelius M (2000)

Trends in the evolution of molar crown types in ungulates mammals: evidence from the northern hemisphere

In "Development, function, and evolution of teeth"

Cambridge University Press 2000, Eds Teaford, Smith, Ferguson, 269-281

Johnston DR (1967)

Extra-toes: a new mutant gene causing multiple abnormalities in the mouse

J Embryol Exp Morph 17:543-581

Johnson PL, Bevelander G (1954)

The localization and interrelation of nucleic acids and alkaline phosphates in the developing tooth

J Dent Res 33:128-135

Johnston MC, Bronsky PT (1995)

Prenatal craniofacial development: new insights on normal and abnormal mechanisms

Crit Rev Oral Biol Med 6: 25-79

Johnston MC, Hazelton RD (1972)

Embryonic origins of facial structures related to oral sensory and motor function

The third symposium on oral sensation and perception. The Mouth of the Infant.

Thomas, Springfield, Ill 76-97

Jones SJ (1981)

Cement

In "Dental Anat Embryol"

Ed Osborn, Seiten 193-205 und 286-294

Blackwell Scientific, Oxford

Joseph BK, Savage NW, Daley TJ, Young WG (1996)

In situ hybridization evidence for a paracrine/autocrine role of insulin-like growth factor-I in tooth development

Growth Factors 13(1-2):11-17

Jowett AK, Vainio S, Ferguson MW, Sharpe PT, Thesleff I (1993)

Epithelial-mesenchymal interactions are required for msx1 and msx2 Gene

Expression in the developing murine molar tooth

Development 117(2):461-470

Jung HS, Francis-West PH, Widelitz RB, Jiang TX, Ting-Berreth S, Tickle C, Wolpert L, Chuong CM (1998)

Local inhibitory action of BMPs and their relationships with activators in feather formation: implications for periodic patterning

Dev Biol 196:11-23

Kalderon D (1997)

Ci complex cuts and clasps

Curr Biol 7:R759-R762

Kappen C, Schughart K, Ruddle FH (1993)

Early evolutionary origin of major homeodomain sequence classes

Genomics 18:54-70

Karg H, Burger EH, Lyaruu DM, Bronckers AL, Wöltgens JH (1997)

Spatiotemporal expression of the homeobox gene S8 during mouse tooth development

Arch Oral Biol 42: 625-631

Keil A (1942)

Grundzüge der Zahnforschung

Bornträger, Berlin (1942)

Keil A (1966)

Grundzüge der Odontologie. Allgemeine und vergleichende Zahnkunde als  
Organwissenschaft  
Bornträger, Berlin

Keller JR, Mantel C, Sing GK, Ellingsworth LR, Ruscetti SK, Ruscetti FW (1988)

Transforming growth factor- $\beta$ 1 selectively regulates early murine hematopoietic  
progenitors and inhibits the growth of IL-3 dependent myeloid leukemia cell lines  
J Exp Med 168:737

Kemp A (1979)

The histology of tooth formation in the Australian lungfish, *Neoceradotus forsteri*  
Krefft  
Zool J Linn Soc 66:251-287

Kemp TS (1982)

Mammal-like Reptiles and the Origin of Mammals  
Academic Press, London

Keränen SV, Aberg T, Kettunen P, Thesleff I, Jernvall J (1998)

Association of developmental regulatory genes with the development of different  
molar tooth shapes in two species of rodents  
Dev Genes Evol 208:477-486

Keränen SV, Aberg T, Kettunen P, Thesleff I, Jernvall J (1999)

Gene Expression patterns associated with suppression of odontogenesis in mouse and vole diastema regions

Dev Genes Evol 209:495-506

Kere J, Srivasta AK, Montonen O, Zonana J, Thomas N, Ferguson B, Munoz F, Morgan D, Clarke A, Baybayan P, Chen EY, Ezer S, Saarialho-Kere U, de la Chapelle A, Schlessinger D (1996)

X-linked anhidrotic (hypohidrotic) ectodermals dysplasia is caused by a mutation in a novel transmembrane protein

Nat Genet 13:409-416

Kern MJ, Witte DP, Valerius MT, Aronow BJ, Potter SS (1992)

A novel murine homeobox gene isolated by a tissue specific PCR cloning strategy

Nucleic Acids Res 20:5189-5195

Kerr T (1960)

Development and structure of some actinopterygian and urodele teeth

Proc Zool Soc Lond 133: 401-422

Ketterl W (1961)

Studie über das Dentin der permanenten Zähne des Menschen

Stoma, Heidelberg 14:79-96 und 148-163

Kettunen P, Karavanova I, Thesleff I (1998)

Responsiveness of developing dental tissues to fibroblast growth factors:  
expression of splicing alternatives of FGFR-1, -2, -3, and of FGFR4; and  
stimulation of cell proliferation by FGF-2, -4, -8 and -9  
Dev Genet 22:374-385

Kettunen P, Thesleff I (1998)

Expression and function of FGFs-4, -8, and -9 suggest functional redundancy and  
repetitive use as epithelial signals during tooth morphogenesis  
Dev Dyn 211:256-268

Kettunen P, Laurikkala J, Itäranta P, Vainio S, Itoh N, Thesleff I (2000)

Associations of FGF-3 and FGF-10 with signaling networks regulating tooth  
morphogenesis  
Dev Dyn 219:322-332

Kiefer MC, Stephans JC, Crawford K, Okino K, Barr PJ (1990)

Ligand-affinity cloning and structure of a cell surface heparin sulfate proteoglycan  
that binds basic fibroblast growth factor  
Proc Natl Acad Sci U S A 87:6985

Kihara T (1956)

Das extravaskuläre Saftbahnsystem

Okajimas Folia Anat Jap 28:601-621

Kingsley DM (1994)

The TGF- $\beta$  superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms

Genes Dev 8:133-146

Kingsley DM, Bland AE, Grubber JM, Marker PC, Russell LB, Copeland NG, Jenkins NA (1992)

The mouse short ear skeletal morphogenesis locus is associated with defects in a bone morphogenetics member of the TGF superfamily

Cell 71:399-410

Kispert A, Vainio S, Shen L, Rowich DH, McMahon AP (1996)

Proteoglycans are required for maintenance of Wnt-11 expression in the ureter tips

Development 122:3627-3637

Kitanaka J, Takemura M, Matsumoto K, Mori T, Wanaka A (1998)

Structure and chromosomal localisation of a murine lim/homeobox gene,

Lhx-8

Genomics 49:307-309

Knippers R (1997)

Molekulare Genetik

E. Habers, Stuttgart, Thieme Verlag

von Kölliker A (1867)

Zähne

In „Handbuch der Gewebelehre“

Engelmann, Leipzig, 5. Aufl.

Köntges G, Lumsden A (1996)

Rhombencephalic neural crest segmentation is preserved throughout  
craniofacial ontogeny

Development 122:3229-3242

Kollar EJ, Baird GR (1969)

The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in  
embryonic mouse tooth germ

J Embryol Exp Morph 21:131-148

Kollar EJ, Baird GR (1970)

Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. The inductive role of the  
dental papilla

J Embryol Exp Morph 24:173-186

Kollar EJ, Fisher C (1980)

Tooth induction in chick epithelium: expression of quiescent genes for enamel synthesis

Science 207:993-995

Kondo S, Kuwahara Y, Kondo M, Naruse K, Mitani H, Wakamatsu Y, Ozato K, Asakawa S, Shimizu N, Shima A (2001)

The medaka rs-3 locus required for scale development encodes ectodysplasin-A receptor

Curr Biol 11:1202-1206

Kongsuwan K, Webb E, Housiaux P, Adams JM (1988)

Expression of multiple homeobox genes within diverse mammalian homeopietic lineages

EMBO J 7:2131-2138

Koolman J, Röhm KH (1998)

Rolle der Entwicklungskontrollgene

In "Taschenatlas der Biochemie", Thieme Verlag, Stuttgart, S. 384

Koyama E, Yamaai T, Iseki S, Ohuchi H, Nohno T, Yoshioka H et al. (1996)

Polarizing activity, Sonic hedgehog, and tooth development in embryonic and postnatal mouse

Dev Dyn 206:59-72

Kramer IR (1960)

The vascular architecture of the human dental pulp

Arch Oral Biol 2:177-189

Kratochwil K, Dull M, Farinas I, Galceran J, Grosschedl R (1996)

Lef1 expression is activated by BMP-4 and regulates inductive tissue interactions  
in tooth and hair development

Genes Dev 10:1382-1394

Kronmiller JE, Upholt WB, Kollar EJ (1991a)

Expression of epidermal growth factor mRNA in the developing mouse  
mandibular process

Arch Oral Biol 36:405-410

Kronmiller JE, Upholt WB, Kollar EJ (1991b)

EGF antisense oligodeoxynucleotides block murine odontogenesis in vitro

Dev Biol 147:485-488

Kronmiller JE, Upholt WB, Kollar EJ (1992)

Alteration of murine odontogenic patterning

Arch Oral Biol 37:129

Krumlauf R, Gould A (1992)

Homeobox cooperativity

Trends Genet 9:287-300

Kükenthal W (1892)

Über den Ursprung und die Entwicklung der Säugetierzähne

Jen Zschr Naturwiss 26:469-489

Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, Geiser A, Lyght M, Flanders KC, Roberts AB, Sporn MB, Ward JM, Karlsson S (1993)

Transforming growth factor-beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death

Proc Natl Acad Sci U S A 90:770-774

Laudet V, Stehelin D, Clevers H (1993)

Ancestry and diversity of the HMG box superfamily

Nucleic Acids Res 21:2493-2501

Laughon A, Scott MP (1984)

Sequence of a Drosophila segmentation gene: protein structure homology with DNA-binding proteins

Nature 310:25-31

Laurikkala J, Mikkola M, Mustonen T, Aberg T, Kappinen P, Pispala J, Nieminen P, Galceran J, Grosschedl R, Thesleff I (2001)

TNF signaling via the ligand-receptor pair ectodysplasin and edar controls the function of epithelial signaling centers and is regulated by Wnt and activin during tooth organogenesis

Dev Biol 229:443-455

Lawrence PA, Struhl G (1996)

Morphogens, compartments, and pattern: lesson from *Drosophila*?

Cell 85:951-961

Lawson R, Wake DB, Beck NT (1971)

Tooth replacement in the redbacked salamander, *Plethodon cinereus*

J Morphol 134:259-270

Leche W (1896)

Zur Dentitionsfrage

Anat Anz 11:270-276

Lee B, Thirunavukkarasu K, Zhou L, Pastore L, Baldini A, Hecht J, Geoffroy V, Ducy P, Karsenty G (1997)

Missense mutations abolishing DNA binding of the osteoblast-specific transcription factor OSF2/CBFA 1 in cleidocranial dysplasia

Nat Genet 16:307-310

von Leeuwenhoek A (1722)

Opera omnia seu Arcana naturae

Lugd Bat

LeGuiner CL, Plet A, Galiana D, Gesnel MC, Gatto-Konzak F, Breathnach R (2001)

Polypyrimidine tract-binding protein repress splicing of a fibroblast growth factor receptor-2 gene alternative exon through exon sequences

J Biol Chem 276:43677-43687

Lehner J, Plenk H (1936)

Die Zähne

In" W. v. Möllendorffs Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen"

Bd. 5, T.3, S. 449-708, Springer, Berlin

Lehnert SA, Akhurst RJ (1988)

Embryonic expression pattern of TGF beta type-1 RNA suggest both paracrine and autocrine mechanisms of action

Development 104:263-273

LeMouellic H, Lallemand Y, Brûlet P (1992)

Homeosis in the mouse induced by a null mutation in the Hox-3.1 gene

Cell 69:251-264

LeRoith D, Adamo M, Roberts CT Jr (1990)

Regulation of insulin-like growth factor-I gene expression

In "Growth Factors", Eds. Sara, Hall, Löw, Raven Press, New York

pp. 11-24

Lesot H, Peterkova R, Viriot L, Vonesch JL, Tureckova J, Peterka M, Ruch JV (1998)

Early stages of tooth morphogenesis in mouse analyzed by 3D-reconstructions

Eur J Oral Sci 106 (Suppl 1):64-70

Lester KS (1969)

The incorporation of epithelial cells by cementum

J Ultrastruct Res 27:63-87

Lester KS, Boyde A (1970)

Scanning electron microscopy of developing roots of molar teeth of the laboratory rat

J Ultrastruct Res 33: 80-94

Leussink B, Brouwer A, Khattabi M, Poelmann RE, Gittenberger-de Groot AC, Meijlink F (1995)

Expression patterns of the paired-related homeobox genes Mhox/Prx1 and s8/Prx2 suggest roles in development of the heart and the forebrain

Mech Dev 52:51-64

Leyns L, Bouwmeester T, Kim SH, Piccolo S, De Robertis EM (1997)

Frzb-1 is a secreted antagonist of Wnt signaling expressed in Spemann organizer

Cell 88:747-756

Lézot F, Thomas B, Hotton D, Forest N, Orestes-Cardoso S, Robert B, Sharpe PT,

Berdal A (2000a)

Biom mineralization, life-time of odontogenic cells and differential expression of the two homeobox genes Msx-1 and Dlx-2 in transgenic mice

J Bone Miner Res 15:430-441

Lézot F, Davideau JL, Thomas B, Sharpe PT, Forest N, Berdal A (2000b)

Epithelial Dlx-2 homeoGene Expression and cementogenesis

J Histochem Cytochem 48:277-283

Lison L (1954)

Les dents

In "Traité de Zoologie. Tome XII" (Ed. P-p. Grassé)

Masson, Paris, pp. 741-853

Listgarten MA, Kamin A (1969)

The development of a cementum layer over the enamel surface rabbit molars – a light and electron microscopic study

Arch Oral Biol 14:961-85

Liu YH, Ma L, Wu LY, Luo W, Kundu R, Sangiorgi F, Snead NL, Maxson R (1994)

Regulation of the Msx2 homeobox gene during mouse embryogenesis: a transgene with 439 bp of 5' flanking sequence is expressed exclusively in the apical ectodermal ridge of the developing limb

Mech Dev 48:187-197

Lough J, Barron M, Brogley M, Sugi Y, Bolender DL, Zhu X (1996)

Combined BMP-2 and FGF-4, but neither factor alone, induces cardiogenesis in non-precardiac embryonic mesoderm

Dev Biol 178:198-202

Lu MF, Cheng HT, Kern MJ, Potter SS, Tran B, Diekwisch TG, Martin JF (1999)

prx-1 functions cooperatively with another paired-related homeobox gene, prx-2, to maintain cell fates within the craniofacial mesenchym

Development 126:395-504

Lucas WP, Darvell BW, Lee PK, Yuen TD, Choong MF (1995)

The toughness of plant cell walls

Philos Trans R Soc Lond Series B, 348:363-372

Luckett WP (1985)

Superordinal and intraordinal affinities of rodents: developmental evidence  
from the dentition and placentation

In "Evolutionary Relationships among Rodents" (Eds. Luckett, Hartenberger)

Plenum Press, New York, London, pp. 227-276

Lumsden AG (1979)

Pattern formation in the molar dentition of the mouse

J Biol Buccale 7:77-103

Lumsden AG (1984)

Tooth morphogenesis: contribution of the cranial neural crest in mammals

Tooth Morphogenesis and Differentiation. (Eds. Belcourt, Ruch)

Colloque INSERM 125. INSERM, Paris 19-27

Lumsden AG (1988)

Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the  
initiation of the mammalian tooth germ

Development 103:155-169

Lumsden AG, Buchanan JA (1986)

An experimental study of timing and topography of early tooth development in the  
mouse embryo with an analysis of the role of innervation

Arch Oral Biol 31:301-311

Lund R, Bartholomew P, Kemp A (1992)

The composition of the dental hard tissues of fishes

In "Structure, Function and Evolution of Teeth" (Ed. P. Smith and E. Tchernov)

Freund Publ. House Ltd., London, pp. 35-71

Maas R, Bei M (1997)

The genetic control of early tooth development

Crit Rev Oral Biol Med 8:4-39

Maas R, Chen YP, Bei M, Woo I, Satokata I (1996)

The role of Msx genes in mammalian development

Ann N Y Acad Sci 785:171-181

MacKenzie A, Leeming GL, Jowett AK, Ferguson MW, Sharpe PT (1991a)

The homeobox gene Hox 7.1 has specific regional and temporal expression patterns during early murine craniofacial embryogenesis, especially tooth development in vivo and in vitro

Development 111:269-285

MacKenzie A, Ferguson MW, Sharpe PT (1991b)

Hox-7 expression during murine craniofacial development

Development 113:601-611

Mackenzie A, Ferguson MW, Sharpe PT (1992)

Expression patterns of the homeobox gene, Hox-8, in the mouse embryo suggest a role in specifying tooth initiation and shape

Development 115:403-420

Madri JA, Pratt BM, Tucker AM (1988)

Phenotypic modulation of endothelial cells by transforming growth factor- $\beta$  depends upon the composition and organization of the extracellular matrix

J Cell Biol 106:1375

Magnusson B (1968)

Tissue changes during molar tooth eruption

Trans. Roy. Schools Dent., Stockholm, Nr.13

Publ of the Umea Research Library

Mailleux AA, Tefft D, Ndiaye D, Itoh N, Thirey JP, Warburton D, Bellusci S (2001)

Evidence that Sprouty2 function as an inhibitor of mouse embryonic lung growth and morphogenesis

Mech Dev 102:81-94

Maisey JG (1988)

Phylogeny of early vertebrates skeletal induction and ossification patterns

Evol Biol 22:1-36

Marigo V, Davey RA, Zuo Y, Cunningham JM, Tabin CJ (1996)

Biochemical evidence that patched is the Hedgehog receptor

Nature 384:176-179

Martin GR (1998)

The role of FGFs in the early development of vertebrate limbs

Genes Dev 12:1571-1586

Massagué J (1990)

The transforming growth factor-beta family

Annu Rev Cell Biol 6:597-641

Massagué J (1996)

TGF $\beta$  signalling: receptors, transducers, and mad proteins

Cell 85:947-950

Massagué J und Chen YG (2000)

Controlling TGF-beta signalling

Genes Dev 14:627-44

Matthiessen ME (1965)

Nucleic acid and protein histochemical studies on prenatal development of human deciduous teeth

Acta Anat 60:220-238

Matthiessen ME (1966)

Enzyme histochemistry of the prenatal development of human deciduous teeth

Acta Anat 63:523-544

Matzuk MM, Kumar TR, Vassalli A, Bickenbach JR, Roop DR, Jaenisch R, Bradley A

(1995a)

Functional analysis of activins during mammalian development

Nature 374:354-356

Matzuk MM, Kumar TR, Bradley A (1995b)

Different phenotypes for mice deficient in either activins or activin receptor

typ II

Nature 374:356-360

McCarthy TL, Centrella M, Canalis E (1989)

Regulatory effects of insulin-like growth factors I and II on bone collagen

synthesis in rat calvarial cultures

Endocrinology 124:301-309

McCollum MA, Sharpe PT (2001a)

Dev Genet and early hominid craniodental evolution

Bioessays 23:481-493

McCollum M, Sharpe PT (2001b)

Evolution and development of teeth

J Anat 199:153-159

McGinnis W, Krumlauf R (1992)

Homeobox genes and axial patterning

Cell 68:283-302

McMahon AP (2000)

More surprises in the Hedgehog signaling pathway

Cell 100:185-188

Meckel AH, Griebstein WJ, Neal RJ (1965)

Structure of mature human dental enamel as observed by electron microscopy

Arch Oral Biol 10:775-784

Meyer W (1951)

Normale Histologie und Entwicklung der Zähne des Menschen

3. Auflage, C. Hanser, München

Meyers EN, Lewandowski M, Martin GR (1998)

An Fgf8 mutant allelic series generated by Cre- and Flp-mediated recombination

Nat Genet 18:136-141

Mikkola ML, Pispá J, Pekkanen M, Paulin L, Nieminen P, Kere J, Thesleff I (1999)

Ectodysplasin, a protein required for epithelial morphogenesis, is a novel TNF homologue and promotes cell-matrix adhesion

Mech Dev 88:133-146

Millan FA, Denhez F, Kondaiah P, Akhurst RJ (1991)

Embryonic Gene Expression patterns of TGF beta 1, beta 2 and beta 3 suggest different developmental functions in vivo

Development 111:131-143

Miller WA (1969)

Inductive changes in early tooth development. A study of mouse tooth development on the chick chorioallantois

J Dent Res 48:719-725

Miller WA (1978)

The dentitions of tabby and crinkled mice (an upset in mesodermal: ectodermal interaction)

In "Development, Function and Evolution of Teeth", pp. 99-109

Eds. Butler, Joysey; Academic Press, London, New York, San Francisco

Mills AA, Zheng B, Wang XJ, Vogel H, Roop DR, Bradley A (1999)

p63 is a p53 homolog required for limb and epidermal morphogenesis

Nature 398:708-713

Mina M, Kollar EJ (1987)

The induction of odontogenesis in non-dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium

Arch Oral Biol 32:123-127

Mitsiadis TA, Muramatsu T, Muramatsu H, Thesleff I (1995a)

Midkine (MK), a heparin-binding growth/differentiation factor, is regulated by retinoic acid and epithelial-mesenchymal interactions in the developing mouse tooth, and affects cell proliferation and morphogenesis

J Cell Biol 129:267-281

Mitsiadis TA, Lardelli M, Lendahl U, Thesleff I (1995b)

Expression of Notch 1, 2 and 3 is regulated by epithelial-mesenchymal interactions and retinoic acid in the developing mouse tooth and associated with determination of ameloblast cell fate

J Cell Biol 130:407-418

Mitsiadis TA, Salmivirta M, Muramatsu T, Muramatsu H, Rauvala H, Lehtonen E, Jalkanen M, Thesleff I (1995c)

Expression of the heparin-binding cytokines, midkine (MK) and HB-GAM (pleiotrophin) is associated with epithelial-mesenchymal interactions during fetal development and organogenesis

Development 121:37-51

Mitsiadis TA, Henrique D, Thesleff I, Lendahl U (1997)

Mouse Serrate-1 (Jagged-1): Expression in the developing tooth is regulated by epithelial-mesenchymal interactions and fibroblast growth factor-4

Development 124:1473-1483

Mitsiadis TA, Mucchielli ML, Raffo S, Proust JP, Koopman P, Goridis C (1998)

Expression of the transcription factors Otx2, Barx1 and Sox9 during mouse Odontogenesis

Eur J Oral Sci 106 (Suppl 1):112-116

Miyazono K, Ichijo H, Heldin CH (1993a)

Transforming growth factor-beta: latent forms, binding proteins and receptors

Growth Factors 8:11-22

Miyazono K, Ichijo H, Heldin CH (1993b)

Enhanced bFGF expression in response to transforming growth factor- $\beta$  stimulation of AkR-23 cells

Growth Factors 8:11-22

Mo R et al., (1997)

Specific and redundant functions of Gli2 and Gli3 zinc finger genes in skeletal patterning and development

Development 124:113-123

Monkley SJ, Delaney SJ, Pennisi DJ, Christiansen JH, Wainwright B (1996)

Targeted disruption of the Wnt2 gene results in placentation defects

Development 122:3343-3353

Moore KL, Persaud TVN (1996)

Zähne

In "Embryologie"

Schattauer Verlag, Stuttgart

Mori M, Rokada K, Okamoto J (1962)

Histochemical studies on the localization and activity of acid phosphatase in  
calcifying tissues

Histochemistry 2:427-434

Moscatelli D (1987)

High and low affinity binding sites for basic fibroblast growth factor on cultured  
cells

J Cell Physiol 131:123

Mosimann W, Kohler T (1996)

Zähne

In „Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere“

Parey Verlag, Berlin, Hamburg

Moss-Salentijn L (1978)

Vestigial Teeth in the Rabbit, Rat and Mouse; their Relationship to the Problem of Lacteal Dentitions

In „Development, Function and Evolution of Teeth“, pp. 13-29

Eds. Butler, Joysey, Academic Press, London, New York, San Francisco

Motoyama J, Takabatake T, Takeshima K, Hui C (1998)

Ptch2, a second mouse Patched gene is co-expressed with Sonic hedgehog

National Genetics 18:104-106

Mucchielli ML, Martinez S, Pattyn A, Goridis C, Brunet JF (1996)

Otlx2, an Otx-related homeobox gene expressed in the pituitary gland and in a restricted pattern in the forebrain

Mol Cell Neurosci 8:258-271

Mucchielli ML, Mitsiadis TA, Raffo S, Brunet JF, Proust JP, Goridis C (1997)

Mouse Otlx2/RIEG expression in the odontogenic epithelium precedes

Tooth initiation and requires mesenchyme-derived signals for its maintenance

Dev Biol 189:275-84

Mustoe TA, Pierce GF, Thomason A, Gramates P, Sporn MB, Deuel TF (1987)

Transforming growth factor type beta induces accelerated healing of incisional wounds in rats

Science 237:1333

Mustonen T, Tummeres M, Mikami T, Itoh N, Zhang N, Gridley T, Thesleff I (2002)

Lunatic Fringe regulates the Notch-pathway during tooth morphogenesis with FGFs and BMPs

Dev Biol 248:281-293

Naaman EP, Chatelain P, Saez JM, Durand P (1989)

In vitro effect of insulin and insulin-like growth factor-I on cell multiplication and adrenocorticotropin responsiveness of fetal adreanal cells

Biol Reprod 40:570-577

Nakano Y, Guerrero I, Hidalgo A, Taylor A, Whittle JR, Ingham PW (1989)

A protein with several possible membrane-spanning domains encoded by the Drosophila segment polarity gene patched

Nature 341:508-513

Nasmyth H (1839)

Researches on the development, structure and diseases of the teeth

Churchill, London

Naujoks R (1956)

Histotopochemische Untersuchungen am Zahnorgan. (Die Wirkung alkalischer und saurer Phosphatasen und das Vorkommen reduzierender Verbindungen bei der Mineralisation der Zahnsbstanzen, bei der Milchzahnresorption und der Zahnkaries)

Dt Zahn-, Mund- und Kieferheilkd 24:265-312

Nelson GJ (1970)

Pharyngeal denticles (placoid scales) of sharks, with notes on the dermal skeleton of vertebrates

Am Mus Novit 2415:1-26

Neubüser A, Peters H, Balling R, Martin GR (1997)

Antagonistic interactions between FGF and BMP signaling pathways: a mechanism for positioning the sites of tooth formation

Cell 90:247-255

Newberry EP, Boudreaux JM, Towler DA (1997)

Stimulus-selective inhibition of rat osteocalcin promoter induction and protein DNA interactions by homeodomain repressor Msx-2

J Biol Chem 272:29607-29613

Nichols DH (1981)

Neural crest formation in the head of the mouse embryo as observed using a new histological technique

J Embryol Exp Morph 64:105-120

Nickel R, Schummer A, Seiferle E (1995)

Zähne und Gebiß

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band II

Nicolas V, Nefussi JR, Collin P, Forest N (1990)

Effects of acidic fibroblast growth factor and epidermal growth factor on subconfluent fetal rat calvaria cell cultures: DNA synthesis and alkaline phosphatase activity

Bone Miner 1990:145-156

Nilsson AJ, Isgaard J, Lindahl A, Dahlström A, Skottner A, Isaksson OGP (1986)

Regulation by growth hormone of number of chondrocytes containing IGF 1 in rat growth plate

Science 233:571-574

Niswander L, Martin GR (1993)

FGF-4 and BMP-2 have opposite effects on limb growth

Nature 361:68-71

Noden DM (1983)

The role of the neural crest in patterning of avian cranial skeletal, connective and muscle tissues

Dev Biol 96:144-164

Noden DM (1988)

Interactions and fates of avian craniofacial mesenchyme

Development 103 (Suppl):121-140

Nso M, Senger B, Ruch JV (1992)

Scoring mitotic activity in longitudinal sections of mouse embryonic incisors: significant differences exist for labial and lingual inner dental epithelia

Craniofac Genet Dev Biol 12:159-66

Nüsslein-Volhard C, Wieschaus E (1980)

Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*

Nature 287:795-801

Nüsslein-Volhard C (1996)

Gradients that organize embryo development

Sci Am 275:54-61

Nuki K, Bonting SL (1961)

Quantitative Histochemie des sich entwickelnden Hamsterzahnes: Alkalische  
Phosphatase und Milchsäuredehydrogenase  
Histochem Cytochem 9:117-125

Nusse R (1996)

Patching up hedgehog  
Nature 384:119-120

Nusse R, Varmus HE (1992)

Wnt genes  
Cell 69:1073-1087

Nybelin O (1968)

The dentition in the mouth cavity of Elops  
In „Current Problems of Lower Vertebrate Phylogeny“  
Ed Orvig

Ohbayashi N, Hoshikawa M, Kimura S, Yamasaki M, Fukui S, Itoh N (1998)

Structure and expression of the mRNA encoding a novel fibroblast growth  
factor, FGF-18  
J Biol Chem 273:18161-18164

Ojeda SR, Urbanski HF, Costa ME, Hill DF, Moholt-Siebert M (1990)

Involvement of transforming growth factor alpha in the release of luteinizing hormone-releasing hormone from the developing female hypothalamus  
Proc Natl Acad Sci U S A 87:9698

Oksanen J, Hormia M (2002)

An organotypic in vitro model that mimics the dento-epithelial junction  
J Periodontol 73:86-93

Oliver G, Sosa-Pineda B, Geisendorf S, Spana EP, Doe CQ, Gruss P (1993)

Prox1, a prospero-related homeobox gene expressed during mouse development  
Mech Dev 44:3-16

Ooe T (1957)

On the early development of human dental lamina  
Okajimas Folia Anat Jap 30:197-210

Oosterwegel M, Van de Wetering M, Timmerman J, Kruisbeek A, Destree O, Meijlink F, Clevers H (1993)

Differential expression of the HMG box factors TCF-1 and LEF1 during murine embryogenesis  
Development 118:439-448

Opstelten DJ, Vogels R, Robert B, Kalkhoven E, Zwartkruis F, de Laaf L, Destrée OH, Deschamps J, Lawson KA, Meijlink F (1991)

The mouse homeobox gene, S8, is expressed during embryogenesis predominantly in mesenchyme

Mech Dev 34:29-41

Orenic TV, Slusarski DC, Kroll KL, Holmgren RA (1990)

Cloning and characterization of the segment polarity gene cubitus interruptus dominant of Drosophila

Genes Dev 4:1053-1067

Orr-Urtreger A, Bedford MT, Burakova T, Arman E, Zimmer Y, Yayon A, Givol D, Lonai P (1993)

Developmental localization of the splicing alternatives of fibroblast growth factor receptor-2 %FGFR2

Dev Biol 158:475-486

Orvig T (1967)

Phylogeny of tooth tissues: evolution of some calcified tissues in early vertebrates

In "Structural and Chemical Organization of Teeth. Vol. I" (Ed. A.E.W. Miles)

Academic Press, New York, pp. 45-110

Osborn HF (1897)

Trituberculy

Am Nat 31:993-1016

Osborn HF (1907)

The evolution of mammalian molar teeth to and from triangular type

MacMillan, New York

Osborn JW (1973)

The evolution of dentitions

Am Sci 61:548-559

Osborn JW (1977)

The interpretation of patterns in dentitions

Biol J Linn Soc Lond 9:217-229

Osborn JW (1978)

Morphogenetic gradients: fields versus clones

In "Development, Function and Evolution of Teeth" from Butler and Joysey

Academic Press, New York, pp. 171-201

Osborn JW (1984)

From the reptile to the mammal: evolutionary considerations of the dentition with emphasis on tooth attachment

Symp Zool Soc, London 52:549-574

Osborn JW, Price DG (1988)

An autoradiographic study of periodontal development in the mouse

J Dent Res 67:455-461

Oschinsky L (1921)

Vergleichende Untersuchungen über die Weite der Dentinkanälchen im permanenten menschlichen Gebiß

Med. Diss., Frankfurt a. M.

Osumi-Yamashita N, Ninomiya Y, Doi H, Eto K (1994)

The contribution of both forebrain and midbrain crest cells to the mesenchyme in the frontonasal mass of mouse embryos

Dev Biol 164:409-419

Otto F, Thornell AP, Crompton T, Denzel A, Gilmour KC, Rosewell IR, Stamp GW, Beddington RS, Mundlos S, Olsen BR, Selby PB, Owen MJ (1997)

Cbfa 1, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development

Cell 89:765-771

Oulad-Abdelghani M, Bouillet P, Chazaud C, Dolle P, Chambon P (1996)

AP-2.2: a novel AP-2-related transcription factor induced by retinoic acid during differentiation of P19 embryonal carcinoma cells

Exp Cell Res 225:338-347

Owen R (1840-1845)

Odontography

Hippolyte Balliere, London

Owens PDA (1978)

Ultrastructure of Hertwig's epithelial root sheath during early root development in premolar teeth in dogs

Arch Oral Biol 23:91-104

Owens PDA (1979)

A light and electron microscopic study of the early stages of root surface formation in molar teeth in the rat

Arch Oral Biol 24:901-907

Pakkala T, Virtanen I, Oksanen J, Jones JC, Hormia M (2002)

Function of laminins and laminin-binding integrins in gingival epithelial cell adhesion

J Periodontol 73:709-719

Palmer RM, Lumsden AG (1987)

Development of periodontal ligament and alveolar bone in homografted recombinations of enamel organs and papillary pulpal and follicular mesenchyme in the mouse

Arch Oral Biol 32:281-289

Parker SB, Eichele G, Zhang P, Rawls A, Sands AT, Bradley A, Olson EN, Harper JW, Elledge SJ (1995)

p53-independent expression of p21 Cip 1 in muscle and other terminally differentiating cells

Science 267:1024-1027

Parr BA, Shea MJ, Vassilera G, McMahon AP (1993)

Mouse Wnt genes exhibit discrete domains of expression in the early embryonic CNS and limb buds

Development 119:247-261

Partanen AM, Thesleff I (1985)

Control of kidney differentiation by soluble factors secreted by the embryonic liver and the yolk sac

Dev Biol 111:84-94

Partanen AM, Thesleff I (1987)

Localization and quantitation of <sup>125</sup>I-epidermal growth factor binding in mouse embryonic tooth and other embryonic tissues at different developmental stages  
Dev Biol 120:186-197

Patterson B (1956)

Early Cretaceous mammals and the evolution of mammalian molar teeth  
Fieldiana, Geology 13:1-105

Pautard FGE (1963)

Mineralisation von Keratin und ihr Vergleich mit der Schmelzmatrix  
Nature 199:531-535

Pelton RW, Dickinson ME, Moses HL, Hogan BL (1990)

In situ hybridization analysis of TGF beta 3 RNA expression during mouse development: comparative studies with TGF beta 1 and beta 2  
Development 110:609-620

Peterková R, Peterka M, Vonesch JL, Ruch JV (1993)

Multiple developmental origin of the upper incisor in mouse: histological and computerassisted 3-D reconstruction studies  
Int J Dev Biol 37:581-588

Peterková R, Peterka M, Vonesch JL, Ruch JV (1995)

Contribution of 3-D computer-assisted reconstructions to the study of the initial steps of mouse odontogenesis

Int J Dev Biol 39:239-247

Peters H, Neubüser A, Kratochwil K, Balling R (1998)

Pax9-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit craniofacial and limb abnormalities

Genes Dev 12:2735-2747

Peyer B (1963)

Die Zähne

Springer Verlag OHG, Berlin, Göttingen, Heidelberg

Peyer B (1968)

Comparative Odontology

University of Chicago Press, Chicago and London

Pilz W (1963)

Grundlage der Biologie, Biomorphose und allgemeine Entzündungslehre für die Vitalerhaltung der Pulpa

Dt Stomatol, Berlin 33:589-607

Pischinger A, Stockinger L (1968)

Die Nerven der menschlichen Zahnpulpa

Z Zellforsch, Berlin (W), Abt. A., 89:44-61

Pispa J, Jung HS, Jernvall J, Kettunen P, Mustonen T, Tabata MJ, Kere J, Thesleff I

(1999)

Cusp patterning defect in Tabby mouse teeth and its partial rescue by FGF

Dev Biol 216:521-534

Plackova A (1958)

Eine histochemische Studie des normalen und kariösen Dentins

Acta Histochem, Jena, 5:167-181

Platt KA, Michaud J, Joyner AL (1997)

Expression of the mouse Gli and Ptc genes is adjacent to embryonic sources of hedgehog signals suggesting a conservation of pathways between flies and mice

Mech Dev 62:121-135

Politzer G, Weizenberg J (1954)

Embryologische Untersuchungen über die Ursache der Agenesie des oberen lateralen Schneidezahnes (Epithelmauer, Zahnleiste, Zwischenkiefer)

Dt Z Zeitschr 23:1329-1343

Portmann A (1965)

Einführung in die vergleichende Morphologie der Wirbeltiere

Schwabe & Co., Basel, Stuttgart, 3. Aufl.

Potts JD, Runyan RB (1989)

Epithelial-mesenchymal cell transformation in the embryonic heart can be mediated, in part, by transforming growth factor beta

Dev Biol 134:392-401

Pourtois M (1961)

Contribution à l'étude des bourgeons dentaires chez la souris. I. Périodes d'induction et de morphodifférenciation

Arch Biol 72:17-95

Pourtois M (1962)

Contribution à l'étude des bourgeons dentaires chez la souris. II. Phase de cytodifférenciation d'élaboration organique et de minéralisation

Arch Biol 73:225-310

Pourtois M (1964)

Comportement en culture in vitro des ébauches dentaires de rongents prélevées aux stades de predifférenciation

J Embryol Exp Morph 12:391-405

Preiswerk G (1895)

Beiträge zur Kenntnis der Schmelzstruktur bei Säugetieren

Inaug.-Diss., Basel

Price M, Lemaistre M, Pischetola M, Di Lauro MR, Duboule D (1991)

A mouse gene related to Distal-less shows a restricted expression in the developing forebrain

Nature 351:748-751

Price JA, Bowden DW, Wright JT, Pettenati MJ, Hart TC (1998)

Identification of a mutation in DLX3 associated with tricho-dento-osseus (TDO) syndrome

Hum Mol Genet 7:563-569

Price JA, Wright JT, Walker SJ, Crawford PJM, Aldred MJ, Hart TC (1999)

Tricho-dento-osseous syndrome and amelogenesis imperfecta with taurodontism are genetically distinct conditions

Clin Genet 56:35

Pritz W (1973)

Neue Untersuchungen zur Gewebestruktur der Wurzelpulpa unter besonderer

Berücksichtigung der regio apicalis

Osterr Z Stomatol 70:210-218

Proetzel G, Pawlowski SA, Wiles WV, Yin M, Boivin GP, Howles PN, Ding J, Ferguson MW, Doetschman T (1995)

Transforming growth factor- $\beta$ 3 is required for secondary palate fusion  
Nat Genet 11:409-414

Proteus MH, Bulfone A, Ciaranello RD, Rubenstein JL (1991)

Isolation and characterization of a novel cDNA clone encoding a homeodomain  
that is developmentally regulated in the ventral forebrain  
Neuron 7:211-229

von Purkinje JJE (1835)

Die Befunde Purkinjes sind enthalten in der unter seiner Leitung angefertigten  
Dissertation: L. Fränkel: De penitiori dentium humanorum structura observationes  
Vratislaviae, Preßburg

Qiu M, Bulfone A, Ghattas I, Meneses JJ, Christensen L, Sharpe PT, Presley R, Pedersen RA, Rubenstein JLR (1997)

Role of the Dlx homeobox genes in proximodistal patterning of the branchial  
arches: mutations of Dlx-1, Dlx-2 and Dlx-1 and -2 alter morphogenesis of  
proximal skeletal and soft tissue structures derived from the first and second  
arches  
Dev Biol 185:165-184

Radlanski RJ, Seidl W, Steding G (1986)

Über das Dimensionsverhalten der Schmelzprismen in verschiedenen Tiefen und  
Regionen des Schmelzes menschlicher permanenter Zähne  
Anat Anz 162:317-324

Raff RA (1992)

Evolution of development decisions and morphogenesis: the view from two  
camps  
Development (Suppl):15-22

Raju K, Tang S, Dubé ID, Kamel-Reid S, Bryce DM, Breitman ML (1993)

Characterization and developmental expression of Tlx-1, the murine homologue  
HOX11  
Mech Dev 44:51-64

Ramirez-Solis R, Zheng H, Whiting I, Krumlauf R, Bradley A (1993)

Hoxb-4 (Hox 2.6) mutant mice show homeotic transformation of a cervical  
vertebra and defects in the closure of the sternal rudiments  
Cell 73:279-294

Randall LE, Hall RC (2002)

Temporospatial expression of matrix metalloproteinases 1, 2, 3 and 9 during early  
tooth development  
Connect Tissue Res 43:205-211

Raschkow I (1835)

Meletemata circa mammalium dentium evolutionem

Inaug.-Diss., Vratislaviae, Preßburg

Rebel HH (1920)

Beitrag zur inneren Zementbildung durch echte Metaplasie

Osterr Z Stomatol 18:335-346

Rebel HH (1958)

Die Biomorphose der Pulpa. Einige allgemeine, grundsätzliche Bemerkungen zur

Biologie, zur Prophylaxe und zur Therapie von Pulpa und Zahnbein

Dt Z Zeitschr 13:551-559 und 681-692

Reif WE (1978)

Types of morphogenesis of the dermal skeleton in fossil sharks

Paläontol Z 52:110-128

Reif WE (1984)

Pattern regulation in shark dentition

In "Pattern Formation. A Primer in Dev Biol "

Ed Malacinski, Bryant

Rensberger JM (2000)

Pathways to functional differentiation in mammalian enamel

In "Development, function, and evolution of teeth"

Cambridge University Press, Eds. Teaford, Smith, Ferguson,

pp. 269-281

Retzius G (1837)

Bemerkungen über den inneren Bau der Zähne mit besonderer Berücksichtigung

auf den im Zahnknochen vorkommenden Röhrenbau

Müllers Arch., Berlin 486-571

Riddle RD, Johnson RL, Laufer E, Tabin C (1993)

Sonic hedgehog mediates the polarizing activity of the ZPA

Cell 75:1401-1416

Rifkin DB, Moscatelli D (1989)

Recent developments, in the of basic fibroblast growth factor

J Cell Biol 109:1

Rijsewijk F, Schuermann M, Wagenaar E, Parren P, Weigel D, Nusse R (1987)

The Drosophila homolog of the mouse mammary oncogene int-1 is identical to

the segment polarity gene wingless

Cell 50:649-657

Rinderknecht E, Humbel RE (1978)

The amino acid sequence of human insuline-like growth factor I and ist structural homology with proinsulin

Biol Chem 253:2769-2774

Rivera-Perez JA, Mallo M, Gendron-Maguire M, Grindley T, Behringer RR (1995)

Goosecoid is not an essential component of the mouse gastrula organiser but is required for craniofacial and rib development

Development 121:3005-3012

Robert B, Sassoon D, Jacq B, Gehring W, Buckingham M (1989)

Hox-7, a mouse homeobox gene with a novell pattern of expression during embryogenesis

EMBO J 8:91-100

Roberts VJ, Sawchenko PE, Vale E (1991)

Expression of inhibin/activin subunit messenger ribonucleic acids during rat embryogenesis

Endocrinology 128:3122-3129

Roberts VJ, Barth SL (1994)

Expression of messenger ribonucleic acids encoding the inhibin/activin system during mid- and late-gestation rat embryogenesis

Endocrinology 128:914-928

Robinson GW, Wray S, Mahon KA (1991)

Spatially restricted expression of a member of a new family of murine Distal-less homeobox genes in the developing forebrain

New Biol 3:1183-1194

Robinson GW, Mahon KA (1994)

Differential and overlapping expression of Dlx-2 and Dlx-3 suggest distinct roles for Distal-less homeobox genes in craniofacial development

Mech Dev 48:199-215

Rodan SB, Wesolowski G, Thomas K, Rodan GA (1987)

Growth stimulation of rat calvaria osteoblastic cells by acidic fibroblast growth factor

Endocrinology 121:1917-1923

Roelink H, Augsburger A, Heemskerk J, Korzh V, Norlin S, Ruiz I, Altaba A, Tanabe Y, Placzek M, Edlund T, Jessell TM et al. (1994)

Floor plate and motor neuron induction by vhh-1, a vertebrate homolog of hedgehog expressed by the notochord

Cell 76:761-775

Römer O (1909)

Atlas der pathologisch-anatomischen Veränderungen der Zahnpulpa nebst  
Beiträgen zur normalen Anatomie von Zahnbein und Pulpa beim Menschen  
Fehsenfeld, Freiburg i. Br.

Röse C (1892)

Beiträge zur Zahnentwicklung der Edentaten  
Anat Anz 7:495-512

Rötter F (1890)

Ueber Entwicklung und Wachsthum der Schneidezähne bei *Mus musculus*  
Morphologisches Jahrbuch, Bd. XV

Rogers HJ (1949)

Concentration and distribution of polysaccharides in human cortical bone and the  
dentine of teeth  
Nature 164:625-626

Rosebury T (1930)

A biochemical study of the protein in dental enamel  
J Dent Res 10:187-213

Ruch JV, Karcher-Djuricic V, Gerber R (1973)

Les Déterminismes de la morphogénèse et des cytodifférenciations des ébauches dentaires de souris

J Biol Buccale 1 :45-56

Ruch JV (1987)

Determinisms of odontogenesis

Universidad del Pais Vasco, E-Bilbao

Springer International, New York

Ruch JV (1995)

Tooth crown morphogenesis and cytodifferentiations: candid questions and critical comments

Connect Tissue Res 32:1-8

Ruddle FH, Bartels JL, Bentley KL, Kappen C, Murtha MT, Pendleton JW (1994)

Evolution of Hox genes

Annu Rev Genet 28:423-442

Ruiz i Altaba A (1997)

Catching a Gli-mpse of Hedgehog

Cell 90:193-196

Russel WE, Coffey RJ Jr, Ouellette AJ, Moses HL (1988)

Type beta transforming growth factor reversibly inhibits the early proliferative response to partial hepatectomy in the rat

Proc Natl Acad Sci U S A 85:5126-5130

Ryoo HM, Hoffmann HM, Beumer T, Frenkel B, Towler DA, Stein GS, Stein JL,  
Van Wijnen AJ, Lian JB (1997)

Stage-specific expression of Dlx-5 during osteoblast differentiation: involvement in regulation of osteocalcin Gene Expression

Mol Endocrinol 11:1681-1690

Rywkind A (1926)

Über Zementablagerung in den Wurzelkanälen und der Pulpakammer

Österr Z Stomatol 24:923-934

Sachse B (1894)

Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung der Schneidezähne bei *Mus musculus*

Inaug.-Diss., Universität Leipzig

Sahlberg C, Aukhil I, Thesleff I (2001)

Tenascin-C in developing mouse teeth: expression of splice variants and stimulation by TGF beta and FGF

Eur J Oral Sci 109:114-124

Sahlberg C, Reponen P, Tryggvason K, Thesleff I (1992)

Association between the expression of murine 72 kDa type IV collagenase by odontoblasts and basement membrane degradation during mouse tooth development

Arch Oral Biol 37:1021-1030

Sahlberg C, Reponen P, Tggvason K, Thesleff I (1999)

Timp-1, -2 and -3 show coexpression with gelatinases A and B during mouse tooth morphogenesis

Eur J Oral Sci 107:121-130

Sarkar L, Sharpe PT (1999)

Expression of wnt signalling pathway genes during tooth development

Mech Dev 85:197-200

Sarkar L, Sharpe PT (2000)

Inhibition of Wnt signaling by exogenous Mfrzb1 protein affects molar tooth size

J Dent Res 79 :920-925

Sarkar L, Cobourne M, Naylor S, Smalley M, Dale T, Sharpe PT (2000)

Wnt/Shh interactions regulate ectodermal boundary formation during mammalian tooth development

Proc Natl Acad Sci U S A 97:4520-4524

Sarran A (1880)

Vaisseaux sanguines des racines dentaires

Gazeta médica, Paris, 636

Sasso WS, Castro NM (1957)

Histochemical study of amelogenesis and dentinogenesis

J Oral Surg 10:1323-1329

Satokata I, Maas R (1994)

Msx1 deficient mice exhibit cleft palate and abnormalities of craniofacial and tooth development

Nat Genet 6:348-356

Schaeffer B (1977)

The dermal skeleton in fishes

In "Problems in Vertebrate Evolution"

Ed SM Andrews, RS Miles, AD Walker

Linn Soc. Symp Ser, 3. Academic Press, London, pp. 25-32

Scherbel H, Schoenlank W (1922)

Histologie der Zähne

H. Meusser Verlag, Berlin

Schimmang T, van der Hoeven F, Ruther U (1993)

Gli3 expression is affected in the morphogenetic mouse mutants and Xt

Prog Clin Biol Res 383A:153-161

Schlorf D (1961)

Beitrag zur Histochemie der Zahnentwicklung

Diss., Hamburg

Schmidt H (1961)

Ein Beitrag zur Morphologie der Interglobularräume im verkalkten Dentin und ihr

Nachweis nach der Entkalkung

Arch Oral Biol (Spec Suppl)4:63-66

Schmidt H (1962)

Feststellung von Strukturunterschieden im entkalkten Dentin bei Anwendung einer  
metachromatischen Färbung

Verhandl. 6. ORCA-Kongr., Pavia 193-198

Schmidt H, Rautenberg J (1973)

Ein histotopochemischer Beitrag zur Verteilung von kohlenhydrathaltigen

Verbindungen und Proteinen im entkalkten menschlichen Zahngewebe

Dt Zahn-, Mund- und Kieferheilkd, Leipzig 60:214-219

Schnorr B (1996)

Zähne

Embryologie der Haustiere, 3. Auflage, Enke Verlag Stuttgart

Schour I (1962)

Oral Histology and Embryology, eighth edition

Philadelphia: Lea & Febiger

Schreger CHT (1936)

Beiträge zur Geschichte der Zähne

Beitr vergl Zergliederungskunst 1 (1800). Zit. nach Lehner und Plenk

Schrewe H, Gendron-Maguire M, Harbison ML, Gridley T (1994)

Mice homozygous for a null mutation of activin  $\beta$ B are viable and fertile

Mech Dev 47:43-51

Schroeder HE, Listgarten MA (1971)

Fine structure of the developing epithelial attachment of human teeth

Monogr Dev Biol 2:1-134

Schuhmacher GH (1990)

Anatomie und Biochemie der Zähne

Fischer, Stuttgart, 4. Auflage

Schwartz JH (1982)

Morphological approach to heterodonty and homology

In "Teeth: Form, Funktion and Evolution"

Ed Kurtén, Columbia Univ. Press, New York, pp. 123-144

Schweitzer G (1907)

Über die Lymphgefäße des Zahnfleisches und der Zähne beim Menschen und bei  
Säugetieren

Arch mikrosk Anat 69:807-906

Schweitzer G (1909)

Über die Lymphgefäße des Zahnfleisches und der Zähne beim Menschen und bei  
Säugetieren

Arch mikrosk Anat 74:927-999

Scott JH (1953)

How teeth erupt

Dent Pract 3:345-349

Sellman S (1946)

Some experiments on the determination of the larval teeth

*Ambystoma mexicanum*.

Odont Tidskr 54:1-128

Selvig KA (1964)

An ultrastructural study of cementum formation

Acta Odontol Scand 22:105-120

Semina EV, Reiter R, Leysens NJ, Alward WL, Small KW, Datson NA, Siegel-Bartelt J,

Bierkenelson D, Bitoun P, Zabel BU, Carey JC, Murray JC (1996)

Cloning and characterization of a novel bicoid-related homeobox transcription factor gene, Rieg, involved in Rieger syndrome

Nat Genet 14:392-399

Seow (1993)

Taurodontism of the mandibular first permanent molar distinguishes between the tricho-dento-osseous (TDO) syndrome and amelogenesis imperfecta

Clin Genet 43:240-246

Serbedzija GN, Bronner-Fraser M, Fraser SE (1992)

Vital dye analysis of cranial neural crest cell migration in the mouse embryo

Development 116:297-307

Sharpe PT (1995)

Homeobox genes and orofacial development

Connect Tissue Res 32:17-25

Sharpe PT (2000)

Homeobox genes in initiation and shape of teeth during development in mammalian embryos

In "Development, function, and evolution of teeth"

Cambridge University Press, Eds Teaford, Smith, Ferguson, pp. 3-12

Sharpe PT (2001)

Hair today, teeth and scales yesterday?

Curr Biol 11:R751-R752

Sharples K, Plowman GD, Rose TM, Twardzik DR, Purchio AF (1987)

Cloning and sequence analysis of simian transforming growth factor- $\beta$  cDNA

DNA 6:239

Shashikant CS, Utset MF, Violette SM, Wise TL, Einat P, Einat M, Pendleton JW,

Schughart K, Ruddle FH (1991)

Homeobox genes in mouse development

Crit Rev Eukaryot Gene Expr 1:207-245

Shimeld SM, McKay IJ, Sharpe PT (1996)

The murine homeobox gene Msx-3 shows highly restricted expression in the developing neural tube

Mech Dev 55:201-210

Shum L, Sakakura Y, Bringas P Jr, Luo W, Snead ML, Mayo M, Crohin C, Millar S, Werb Z, Buckley S (1993)

EGF abrogation-induced fusilli-form dysmorphogenesis of Meckel's cartilage during embryonic mouse mandibular morphogenesis in vitro  
Developmental 118:903-917

Silberstein GB, Daniel CW (1987)

Reversible inhibition of mammary gland growth by transforming growth factor-beta  
Science 237:291-293

Simeone A, Acampora D, Pannese M, D'Esposito M, Stornaiuolo A, Gulisano M, Mallamaci A, Kastury K, Druck T, Huebner K, Boncinelli (1994)

Cloning and characterization of two members of the vertebrate Dlx gene family  
Proc Natl Acad Sci U S A 91:2250-2254

Sinowatz F (1991)

Zähne  
In „Lehrbuch der Embryologie der Haustiere“  
Parey Verlag, Berlin, Hamburg

Slavkin HC (1974)

Embryonic tooth formation. A tool in Dev Biol  
Oral Sci Rev 4:1-36

Slavkin HC, Graham E, Zeichner-David M, Hildemann W (1983)

Enamel-like antigens in hagfish: possible evolutionary significance

Evolution 37:404-412

Smith MM (1977)

The microstructure of the dentition and dermal ornament of three dipnoans from the Devonian of Western Australia: a contribution toward dipnoan inter-relations, and morphogenesis, growth and adaptation of the skeletal tissues

Philos Trans R Soc Lond (Series B) 281:29-72

Smith MM (1991)

Putative skeletal neural crest cells in early Late Ordovician vertebrates from Colorado

Science 251:301-303

Smith MM, Hall BK (1990)

Development and evolutionary origins of vertebrate skeletogenic and odontogenic tissues

Biol Rev Camb Philos Soc 65:277-373

Smith MM, Hall BK (1993)

A developmental model for evolution of the vertebrate exoskeleton and teeth

Evolution Biology 27:387-448

Smith M, Hickman A, Amanze D, Lumsden A, Thorogood P (1994)

Trunk neural crest origin of caudal fin mesenchyme in the zebrafish

Proc R Soc Lond (Series B) 256:137-145

Smith CE, Nanci A (1995)

Overview of morphological changes in enamel organ cells associated with major events in amelogenesis

Intl J Dev Biol 39:153-161

Sofaer JA (1969)

Aspects of the tabby-crinkled-downless syndrome. I. The development of tabby teeth

J Embryol Exp Morph 22:181-205

Solloway MJ, Dudley AT, Bikoff EK, Lyons KM, Hogan BL, Robertson EJ (1998)

Mice lacking Bmp6 function

Dev Genet 22:321-339

Sporn MB, Roberts AB (1990a)

TGF-beta: problems and prospects

Cell Regul 1:875-882

Sporn MB, Roberts AB (1990b)

The transforming growth factor-betas: past, present, and future

Ann N Y Acad Sci 593:1-6

Sporn MB, Roberts AB (1991)

Peptide Growth Factors and Their Receptors

Vols. I und II; Springer Verlag, Berlin, 419

Spreter von Kreudenstein T (1939)

Experimentelle Beiträge zur Pathologie der Zahnhartgewebsentwicklung

H. Meusser, Leipzig

Srivastava AK, Pispas J, Hartung AJ, Du Y, Ezer S, Jenks T, Shimada T, Pekkanen M, Mikkola ML, Ko MS, Thesleff I, Kere J, Schlessinger D (1997)

The Tabby phenotype is caused by mutation in a mouse homologue of the EDA gene that reveals novel mouse and human exons and encodes a protein (ectodysplasin-A) with collagenous domains

Proc Natl Acad Sci U S A 94:13069-13074

St. Amand TR, Zhang Y, Semina EV, Zhao X, Hu Y, Nguyen L, Murray JC, Chen Y (2000)

Antagonistic signals between BMP4 and FGF8 define the expression of Pitx1 and Pitx2 in mouse tooth-forming anlage

Dev Biol 217:323-332

Stock DW, Buchanan AV, Zhao Z, Weiss KM (1996)

Numerous members of the Sox family of HMG box-containing genes are expressed in mouse teeth

Genomics 37:234-237

Stone DM et al. (1996)

The tumor-suppressor gene patched encodes a candidate receptor for Sonic Hedgehog

Nature 384:129-134

Stryer L (1994)

Die Homöo-Box ist ein stets wiederkehrendes Motiv in Genen, die die Entwicklung von Insekten und Wirbeltieren steuern

In "Biochemie", Spektrum Akad. Verlag, Heidelberg, Berlin, S. 879-880

Stylianopoulou F, Efstratiadis A, Herbert J, Pintar J (1988)

Pattern of the insulin-like growth factor II Gene Expression during rat embryogenesis

Development 103(3):497-506

Sulzmann R (1965)

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Gefäß- und Bindegewebsapparat der Zahnpulpa

Habil.-Schr., Greifswald

Summerbell D, Lewis JH, Wolpert L (1973)

Positional information in chick limb morphogenesis

Nature 244:492-496

Sundberg JP (1994)

Handbook of Mouse Mutations with Skin and Hair Abnormalities

CRC Press, Boca Raton, Florida

Symons NBB (1956)

Ribonucleic acid-alkaline Phosphatase diistribution in the developing teeth of the  
rat

J Anat 90:117-122

Symons NBB (1961)

A histochemical study of the intertubular and peritubular matrices in normal  
human dentine

Arch Oral Biol 5:24-250

Symons NBB (1962)

A histochemical study of the odontoblast process

Arch Oral Biol 7:455-462

Taatz H, Stiefel A (1966)

Amelo- und dentinoklastische Vorgänge an einem in einer folliculären Zyste  
gelegenen Zahn

Dt Zahn-, Mund- u. Kieferheilkd 46:13-24

Tan SS, Morriss-Kay GM (1986)

Analysis of cranial neural crest cell migration and early fates in postimplantation  
rat chimaeras

J Embryol Exp Morph 98:21-58

Ten Berge D, Brouwer A, El Bahi S, Guénet J, Robert B, Meijlink F (1998)

Mouse *Alx3*: an aristaless-like homeobox gene expressed during embryogenesis  
in ectomesenchyme and lateral plate mesoderm

Dev Biol 199:11-25

Ten Berge D, Brouwer A, Korving J, Reijnen MJ, van Raaij EJ, Verbeek F, Gaffield W,  
Meijlink F (2001)

*Prx1* and *Prx2* are upstream regulators of sonic hedgehog and control cell  
proliferation during mandibular arch morphogenesis

Development 128:2929-2938

Ten Cate AR (1969)

Development of the periodontium

In "Biology of the Periodontium"

Academic Press, London, 53-89

Ten Cate AR, Mills C, Solomon G (1971)

The development of the periodontium. A transplantation and autoradiographic study

Anat Rec 170:365-380

Ten Cate AR, Mills C (1972)

The development of the periodontium: the origin of alveolar bone

Anat Rec 173:69-79

Ten Cate AR (1995)

The experimental investigation of odontogenesis

Intl J Dev Biol 39:5-11

Terling C, Heymann R, Rozell B, Obrink B, Wroblewsik J (1998)

Dynamic expression of E-cadherin in ameloblasts and cementoblasts in mice

Eur J Oral Sci 106(Suppl 1):137-142

Thesleff I, Jalkanen M, Vainio S, Bernfield M (1988)

Cell surface proteoglycan expression correlates with epithelial-mesenchymal interaction during tooth morphogenesis

Dev Biol 129:565-572

Thesleff I, Vaahtokari A, Partanen AM (1995)

Regulation of organogenesis. Common molecular mechanisms regulating the development of teeth and other organs

Intl J Dev Biol 39:35-50

Thesleff I, Sharpe PT (1997)

Signalling networks regulating dental development

Mech Dev 67:111-123

Thesleff I, Jernvall J (1998)

The enamel knot: a putative signalling detection center regulating tooth development

Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, LXII:257-267

Thesleff I, Mikkola M (2002)

The role of growth factors in tooth development

Int Rev Cytol 217:93-135

Thomas HF, Kollar EJ (1988)

Tissue interactions in normal murine root development

In "The Biological Mechanisms of Tooth Eruption and Root Resorption"

Ed Davidovitch, EBSCO Media, Birmingham, AL, pp. 145-151

Thomas HF (1995)

Root formation

Int J Dev Biol 39:231-237

Thomas BL, Porteus MH, Rubenstein JL, Sharpe PT (1995)

The spatial localisation of Dlx-2 during tooth development

Connect Tissue Res 32:27-34

Thomas BL, Tucker AS, Qui M, Ferguson CA, Hardcastle Z, Rubenstein JL, Sharpe PT  
(1997)

Role of Dlx-1 and Dlx-2 genes in patterning of the murine dentition

Development 124:4811-4818

Thomas BL, Sharpe PT (1998)

Patterning of the murine dentition by homeobox genes

Eur J Oral Sci 106 (Suppl 1):48-54

Thomas BL, Tucker AS, Ferguson CA, Qiu M, Rubenstein Z, Sharpe PT (1998)

Molecular control of odontogenic patterning: positional dependent initiation and morphogenesis

Eur J Oral Sci 106 (Suppl 1):44-47

Thomas BL, Liu JK, Rubenstein JLR, Sharpe PT (2000)

Independent regulation of Dlx2 expression in the epithelium and mesenchym of the first branchial arch

Development 127:217-224

Thompson NL, Flanders KC, Smith JM, Ellingsworth LR, Roberts AB, Sporn MB (1989)

Expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 in specific cells and tissues of adult and neonatal mice

J Cell Biol 108:661

Tissier-Seta JP, Mucchielli ML, Mark M, Mattei MG, Goridis C, Brunet JF (1995)

Barx-1, a new mouse homeodomain transcription factor expressed in craniofacial genesis

Mech Dev 5:3-15

Todd RB, Bowmann WL (1859)

The physiological anatomy and physiology of man

Parker, London

Tomes J (1848)

Lectures on dental physiology and surgery

Parker & Son, London

Topham RT, Chiego DJ Jr, Gattone VH, Hinton DA, Klein RM (1987)

The effect of epidermal growth factor on neonatal incisor differentiation in the mouse

Dev Biol 124:532-543

Trainor PA, Tam PP (1995)

Cranial paraxial mesoderm and neural crest cells of the mouse embryo: co-distribution in the craniofacial mesenchyme but distinct segregation in branchial arches

Development 121:2569-2582

Trippel SB (1988)

Growth plate regulation: The somatomedins

Pathol Immunopathol Res 7:43-47

Trumpp A, Depew MJ, Rubenstein JL, Bishop JM, Martin GR (1999)

Cre-mediated gene inactivation demonstrates that FGF8 is required for cell survival and patterning of the first branchial arch

Genes Dev 13:3136-3148

Tucker AS, Khamis A, Sharpe PT (1998a)

Interactions between Bmp-4 and Msx-1 act to restrict Gene Expression to  
odontogenic mesenchyme

Dev Dyn 212:533-539

Tucker AS, Matthews KL, Sharpe PT (1998b)

Transformation of tooth type induced by inhibition of BMP signaling

Science 282:1136-1138

Tucker AS, Sharpe PT (1999)

Molecular genetics of tooth morphogenesis and patterning: The right shape in the  
right place

J Dent Res 78 :826-834

Tucker AS, Matthews KL, Sharpe PT (1999)

Transforming of tooth type induced by inhibition of BMP signaling

Science 282:1136-1138

Tucker AS, Headon DJ, Schneider P, Ferguson BM, Overbeek P, Tschopp J,  
Sharpe PT (2000)

Edar/eda interactions regulate enamel knot formation in tooth morphogenesis

Development 127:4691-4700

Underwood LE, D'Ercole AJ, Clemmons DR, van Wyk JJ (1986)

Paracrine functions of somatomedins

Clin Endocrinol Metab 15:59-77

Vaahokari A, Aberg T, Jernvall J, Keränen S, Thesleff I (1996a)

The enamel knot as a signaling center in the developing mouse tooth

Mech Dev 54:39-43

Vaahokari A, Aberg T, Thesleff I (1996b)

Apoptosis in the developing tooth: association with an embryonic signaling center  
and suppression by EGF and FGF-4

Development 122:121-126

Vainio S, Jalkanen M, Thesleff I (1989)

Syndecan and tenascin expression is induced by epithelial-mesenchymal  
interactions in embryonic tooth mesenchyme

J Cell Biol 108:1945-1953

Vainio S, Thesleff I (1992)

Sequential induction of syndecan, tenascin and cell proliferation associated with  
mesenchymal cell condensation during early tooth development

Differentiation 50:97-105

Vainio S, Karavanova I, Jowett A, Thesleff I (1993)

Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during tooth development

Cell 75:45-58

Vale WW, Hseuh A, Rivier C, Yu J (1990)

The inhibin/activin family of hormones and growth factors

In "Peptide growth factors and their receptors II" erschienen im Springer-Verlag, Berlin, 211-248

Van der Bruggen W, Janvier P (1993)

Denticles in thelodonts

Nature 364:107

Van Genderen C, Okamura RM, Farinas I, Quo RG, Parslow TG, Bruhn L, Grosschedl R (1994)

Development of several organs that require inductive epithelial-mesenchymal interactions is impaired in LEF-1-deficient mice

Genes Dev 15:2691-2703

Van Valen L (1970)

An analysis of developmental fields

Dev Biol 23:456-477

Van Wyk (1984)

In "Hormonal Proteins, and Peptides", Ed. Le  
Academic Press, New York, pp.82-125

Vastardis H, Karimbux N, Guthua SW, Seidman JG, Seidmann CE (1996)

A human MSX1 homedomain missense mutation causes selective tooth agenesis  
Nat Genet 13:417-421

Viret J (1955)

Rodentia fossiles. La denture des rongeurs actuels et fossiles  
In "Traité de Zoologie", XVII-Mammiferes (Ed. Grassé),  
Masson et Cie Éditeurs, paris, pp. 1526-1573

Vortkamp A, Gessler M, Grzeschik KH (1991)

Gli3 zinc-finger gene interrupted by translocations in Greig syndrome families  
Nature 352:539-540

Vortkamp A, Franz T, Gessler M, Grzeschik KH (1992)

Deletion of Gli3 supports the homology of the human Greig  
cephalopolysyndactyly syndrome (GCPS) and the mouse mutant extra toes (Xt)  
Mamm Genome 3:461-463

Wagner G (1955)

Chimaerische Zahnanlagen aus Trinton-Schmelzorgan und Bombinator-Papilla

J Embryol Exp Morph 3:160-188

Wahlgren J, Väänänen A, Teronen O, Sorsa T, Pirilä E, Hietanen J, Maisi P, Tjäderhane

L, Salo T (2003)

Laminin-5 gamma 2 chain is colocalized with gelatinase-A (MMP-2) and

sollagenase-3 (MMP-13) in odontogenic keratocysts

J Oral Pathol Med 32:100

Waldeyer G (1865)

Untersuchungen über die Entwicklung der Zähne

2. Abt. Z. rat. Med., Leipzig, 3. Reihe 24:169

Waldeyer W (1871)

Bau und Entwicklung der Zähne

In "Handbuch der Lehre von den Geweben des Menschen und der Thiere"

Stricker, Bd. 1, 333-354, Engelmann, Leipzig

Wanaka A, Matsumoto K, Kashihara Y, Furuyama T, Tanaka T, Mori T, Tanno Y,

Yokoya S, Kitanaka J, Takemura M, Tohyama M (1997)

LIM-home domain gene family in neural development

Dev Neurosci 19:97-100

Wang W, Chen X, Xu H, Lufkin T (1996)

Msx3: a novel murine homologue of the Drosophila msh homeobox gene  
restricted to the dorsal embryonic central nervous system  
Mech Dev 58:203-215

Wannenmacher E (1927)

Ein Beitrag zur pathologischen Histologie der Pulpa  
Dt Monatsschr Zahnheilkd 45:12-38

Weil LA (1888)

Zur Histologie der Zahnpulpa  
Dt Monatsschr Zahnheilkd 6:10-21

Weiss KM, Bollekens J, Takashita K, Ruddle FH (1994)

Distal-less and other homeobox genes in the development of the dentition  
J Expl Zool 270:273-284

Weiss KM, Ruddle FH, Bollekens J (1995)

Dlx and other homeobox genes in the morphological development of the dentition  
Connect Tissue Res 32:35-40

Weiss K, Stock D, Zhao Z, Buchanan A, Ruddle F, Shashikant C (1998)

Perspectives on genetic aspects of dental patterning  
Eur J Oral Sci 106 (Suppl 1):55-63

Westergaard B, Ferguson MW (1987)

Development of the dentition in *Alligator mississippiensis*. Later development in the lower jaws of embryos, hatchlings and young juveniles

J Zool 212:191-222

Wiedersheim R (1909)

Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere

Gustav Fischer Verlag, Jena, 7. Aufl.

Wilde CE (1955)

The urodele neuroepithelium. The differentiation in vitro of the cranial neural crest

J Exp Zool 130:573-591

Winnier G, Blessing M, Labosky PA, Hogan BL (1995)

Bone morphogenetic protein-4 is required for mesoderm formation and patterning in the mouse

Genes Dev 9:2105-2116

Wislocki GB, Sognnaes RF (1950)

Histochemical reactions of normal teeth

Am J Anat 87:239-276

Wislocki GB, Singer M, Waldo CM (1948)

Some histochemical reactions of mucopolysaccharides, glycogen, lipids and other substances in the teeth

Anat Rec 101:487-514

Wood AE (1962)

The early tertiary rodents of the family Paramyidae

Trans Am Philos Soc NS 52:1-261

Wozney JM (1998)

The bone morphogenetic protein family: multifunctional cellular regulators in the embryo and the adult

Euro J Oral Sci (Suppl 1)106:160-166

Wright JT, Roberts MW, Wilson AR, Kudhail R (1994)

Tricho-dento-osseous syndrome. Features of the hair and teeth

Oral Surg Oral Med Oral Pathol 77:487-493

Wright E, Hargrave MR, Christiansen J, Cooper L, Kun J, Evans T, Ganggadharan U, Greenfield A, Koopman P (1995)

The Sry-related gene Sox9 is expressed during chondrogenesis in mouse embryos

Nat Genet 9:15-20

Wu JY, Rao Y (1999)

Fringe:Defining borders by regulating the notch pathway

Curr Opin Neurobiol 9:537-543

Yamada G, Mansouri A, Torres M, Stuart ET, Blum M, Schultz M, DeRobertis EM,

Gruss P (1995)

Targeted mutation of the murine goosecoid gene results in cranifacial defects and neonatal death

Development 121:2917-2922

Yamada S, Yamada KM, Brown KE (1994)

Integrin regulatory switching in development: oscillation of beta 5 integrin mRNA expression during epithelial-mesenchymal interactions in tooth development

Int J Dev Biol 38:553-556

Yamaguchi TP, Rossant J (1995)

Fibroblast growth factors in mammalian development

Curr Opin Genet Dev 5:485-491

Yamamoto T, Wakita M (1991)

The development and structure of principal fibers and cellular cementum in rat molars

J Periodontal Res 26:129-137

Yang A, Schweitzer R, Sun D, Kaghad M, Walker N, Bronson RT, Tabin C, Sharpe PT, Caput D, Crum C, McKeon F (1999)

p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development

Nature 398:714-718

Yang-Snyder J, Miller JR, Brown JD, Lai CJ, Moon RT (1996)

A frizzled homolog functions in a vertebrate Wnt signaling pathway

Curr Biol 6:1302-1306

Yayon A, Klangbrun M, Esko JD, Leder P, Ornizt DM (1991)

Cell surface, heparin-like molecules are required for binding of basic fibroblast growth factor to its high affinity receptor

Cell 64:841

Yokouchi Y, Sakiyama J, Kameda T, Iba H, Suzuki A, Ueno N, Kuroiwa A (1996)

BMP-2/4 mediate programmed cell death in chicken limb buds

Development 122:3725-3734

Yoshida K., Yoshida N, Aberdam D, Meneguzzi G, Perrin-Schmitt F, Stoetzel C, Ruch JV, Lesot H (1998)

Expression and localization of laminin-5 subunits during mouse tooth development

Dev Dyn 211:164-176

Yoshikawa DK, Kollar EJ (1981)

Recombination experiments on the odontogenic roles of mouse dental papilla and dental sac tissues in ocular grafts

Arch Oral Biol 26:303-307

Young WG, Ruch JV, Stevens MR, Bègue-Kirn C, Zhang CZ, Lesot H, Waters MJ (1995)

Comparison of the effects of growth hormone, insulin-like growth factor-I and fetal calf serum on mouse molar odontogenesis in vitro

Arch Oral Biol 40:789-799

Youson (1981)

The alimentary canal

In "The Biology of Lampreys, Vol. 3" (Ed. M.W. Hardisty, I.C. Potter)

Academic Press, London, pp. 95-189

Zecca M, Basler K, Struhl G (1996)

Direct and long-range action of a wingless morphogen gradient

Cell 87:833-844

Zeichner-David M, Diekwisch T, Fincham A, Lau E, MacDougall M, Moradian-Oldak J, Simmer J, Snead M, Slavkin HC (1995)

Control of ameloblast differentiation

Int J Dev Biol 39:69-92

Zhang H, Bradley A (1996)

Mice deficient for BMP2 are nonviable and have defects in amnion/chorion and cardiac development

Development 122:2977-2986

Zhang HY, Timpl R, Sasaki T, Chu ML, Ekblom P (1996)

Fibulin-1 and fibulin-2 expression during organogenesis in the developing mouse

Dev Dyn 205:348-364

Zhao Z, Weiss KM, Stock DW (2000)

Development and evolution of dentition patterns and their genetic basis

In "Development, function, and evolution of teeth"

Cambridge University Press, Eds. Teaford, Smith, Ferguson, pp. 3-12

Zhou P, Byrne C, Jacobs J, Fuchs E (1995)

Lymphoid enhancer factor 1 directs hair follicle patterning and epithelial fate

Genes Dev 9:570-583

Ziegler AC (1971)

A theory of the evolution of therian dental formulas and replacement patterns

Q Rev Biol 46:226-249

Zimmerman CM, Mathews LS (1996)

Activin receptors: cellular signalling by receptor serine kinases

Biochem Soc Symp 62:25-38

Zimmerman LD, De Jesus-Escobar JM, Harland RM (1996)

The Spemann organiser signal noggin binds and inactivates bone morphogenetic protein 4

Cell 86:599-606

Zou H, Niswander L (1996)

Requirement for BMP signaling in interdigital apoptosis and scale formation

Science 272:738-741

Zou P, Zou K, Muramatsu H, Ichihara-Tanaka K, Habuchi O, Ohtal, Ikematsu S, Sakuma S, Muramatsu T (2003)

Glycosaminoglycan structures required for strong binding to midkine, a heparin-binding growth factor

Glycobiology 13:35-42

Zuckerkindl E (1902)

Makroskopische Anatomie der Zähne

In „Handbuch der Zahnheilkunde, hrsg. Scheff. Bd. 1, 2. Aufl., 1-224;

Hölder, Wien

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Ilse Schroll  
Geboren am: 05.09.1965  
Staatsangehörigk.: Deutsch  
Familienstand: Ledig

### Schulbildung

1971 – 75	Grundschule Töging
1975 – 80	Hauptschule Töging - Qualifizierter Hauptschulabschluß
1980 – 81	Berufsgrundschuljahr - Schwerpunkt Bürowirtschaft
1981 – 82	Berufsgrundschuljahr - Schwerpunkt Absatzwirtschaft und Kundenberatung
1982 – 84	Berufsschule - Dienstleistungsfachkraft im Postbetrieb
12/1994	Begabtenabitur - Allgemeine Hochschulreife

### Beruflicher Werdegang

1982 – 84	Ausbildung zur Dienstleistungsfachkraft im Postbetrieb
1984 – 87	Bundespost - Einfacher Dienst und Sekretärin des Amtsvorstehers
03/87 – 03/88	Ausbildung zum Aufstieg in den Mittleren Postdienst
08/88 – 01/89	Sekretärin bei Art Company (Werbeagentur)
02/89 – 01/90	Sekretärin/Assistentin des Geschäftsführers der Autovermittlung Holiday Autos
02/90 – 03/92	Redaktionsassistentin in der Redaktion CHIP
04/92 – 10/92	PR-Assistentin in der EDV-PR Agentur Beiersdorff GmbH
11/92 – 10/96	Sekretärin der Verlagsleitung in der Verlagsgruppe Bauer
10/96 – 03/03	Studium der Tiermedizin an der LMU München
03/02 – 04/03	Assistentztierarzt in der Kleintierklinik Dr. Kandlbinder
seit 05/03	Praktischer Tierarzt in eigener Kleintierpraxis

Ich bedanke mich recht herzlich bei Prof. Sinowatz für die Überlassung des Themas und für die stets freundliche und zügige Hilfestellung.

Mein aufrichtigster Dank gilt auch Bernd Jamin, der stets die Lösungen zu allen aufgetretenen computertechnischen Problemen wusste, und der die zündende Idee für die Umsetzung der Grafiken hatte.

Vielen Dank auch an Ann-Katrin Maier, Prof. Klaus Jamin, Mr. Dawsen und Kristine Witt.