

エナメル質形成の細胞生物学

田畑 純

鹿児島大学歯学部口腔解剖学第1講座

Cell Biology of Amelogenesis

Makoto J. Tabata

Department of Oral Anatomy, 1st division,
Kagoshima University Dental School,
8-35-1, Sakuragaoka, Kagoshima, 890-8544, Japan

Abstract

In this review, the basic descriptions and recent topics of amelogenesis were summarized. At the first, special features of enamel are described comparing with dentin, cement and bone. Secondary, enamel formation and ameloblast differentiation are summarized. Enamel formation is classified to 6 stages, and all stages are applied to each staged ameloblast. Tertiary, cell lineage in tooth germ is reviewed. Finally, the roles of growth factors in tooth germ are discussed.

Keywords: amelogenesis, ameloblast differentiation, tooth development, growth factors

I. はじめに

エナメル質形成の研究には、結晶学及び蛋白質化学的にアプローチする「エナメル質の研究」と細胞及び発生生物学的にアプローチする「エナメル芽細胞の研究」という二つの潮流がある。これら二つの潮流はそれぞれで盛んな研究がなされているが、アプローチが違いすぎるためかその一致を見るのがしばしば難しい。また、後者の流れの中においても、「器官レベルでの理解」と「細胞レベルでの理解」が十分に噛み合っていないのが現状でもある。本稿ではこうした状況を踏まえつつ、細胞研究の立場からエナメル質形成を紹介してみたい。

II. エナメル質の特徴

人体を構成する硬組織には、エナメル質、象牙質、セメント質、骨の4つがあり、いずれもハイドロキシアパタイトを主成分とする。しかし、ハイドロキシアパタイトの濃度や含有する蛋白質成分の違い、石灰化の様式の違いなどから硬度に差が出てきて、エナメル質>象牙質>セメント質・骨の順となっている(表1)。すなわち硬組織の中ではエナメル質は最も硬く、その特徴は次のようにまとめることができる¹⁻⁴⁾。

- (1) 一般の硬組織はハイドロキシアパタイトとI型コラーゲンを主成分とするが、エナメル質の場合、ハ

表 1. 硬組織の比較

		エナメル質	象牙質	セメント質	骨
物理性質	モース硬度	6-8° (石英程度)	5° (オパール程度)	4° (螢石・サンゴ程度)	
	比重	2.88	2.16	1.96	
成分	無機質	95-97% (主にハイドロキシアパタイト)	65-70% (主にハイドロキシアパタイト)	60-65% (主にハイドロキシアパタイト)	
	有機質	0.7-1% (主にエナメル蛋白質)	20% (主にI型コラーゲン)	25% (主にI型コラーゲン)	
	水	2%	10-15%	10-15%	
形成細胞		エナメル芽細胞 (上皮)	象牙芽細胞 (間葉)	セメント芽細胞 (間葉)	骨細胞・骨芽細胞 (間葉)
石灰化の細胞構造		トームス突起	象牙細管	セメント細管	骨細管
石灰化の構造単位		エナメル小柱	(球状/層状)	(層状)	ハヴァース系

イドロキシアパタイトとエナメル蛋白質からなる。この含有蛋白成分の違い、つまりI型コラーゲンかエナメル蛋白質かという違いは、一般の硬組織が間葉細胞から、エナメル質が上皮細胞から形成されることと符合している。

- (2) エナメル蛋白質はエナメル質の成熟過程において脱却されることが知られており、最初25-30%であったものが最終的には0.7-1.0%と含有率がきわめて低下する。すなわち、無機質(=ほとんどがハイドロキシアパタイト)の割合がその分増えて最終的に97%ときわめて高濃度になる。また、ハイドロキシアパタイト結晶のサイズは、エナメル質では極端に大きく、個々の結晶同士には配向性も見られる。こうした結果としてエナメル質が体組織中でもっとも高い硬度を持つようになる。
- (3) エナメル質のハイドロキシアパタイト結晶の成長は、骨などで見られる成長様式とは違い“結晶の核”を必要としない。すなわち、超微細形態学的観察でも結晶の核にあたる構造がこれまで報告されておらず、また無細胞系でも結晶成長が始まることが報告されている。結晶の前駆物質としては、いくつか候補があげられているが、オクタカルシウム燐酸(OCP)がその有力候補である³⁾。
- (4) ハイドロキシアパタイト結晶はエナメル小柱と呼ばれる小柱構造を構成するが、これは小柱鞘という鞘構造の中に多数の結晶が配向性を持って集積され

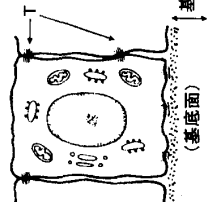
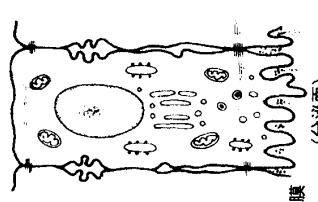
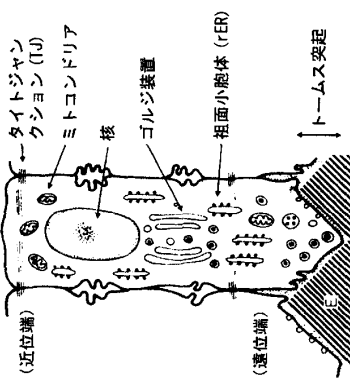
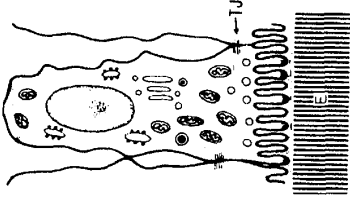
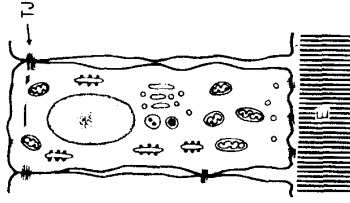
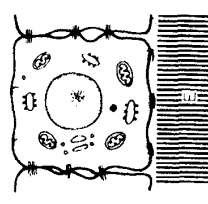
- る結果である。また、多数のエナメル小柱が整然と並んでエナメル質の層を形成するが、その小柱どうしは一定間隔で相互にねじれて並んでおり(=ツイストしている)、研磨切片から作成した印象標本などでハンターシュレーゲル条として観察される。こうした小柱鞘の内部構造や並び方は、歯冠の複雑な凹凸に対応した構造であると考えると理解しやすい。
- (5) エナメル質は、基質形成期のエナメル芽細胞によって細胞外で作られる。エナメル質の蛋白質は、アメロジェニン、エナメルリン、エナメル小柱鞘蛋白、の3つに分類されるが、いずれもエナメル質に固有のもので、エナメル質形成に必要なはたらきを持つものと考えられている⁴⁾。

Ⅲ. エナメル質形成と細胞分化

エナメル質形成の段階は、エナメル質の合成・成熟過程とエナメル芽細胞の増殖・分化段階から総合して次の6段階に分けられる⁵⁾(表2)。

- (1) 細胞増殖期：内エナメル芽細胞が盛んに増殖。
- (2) 細胞分化期：内エナメル芽細胞が分化しはじめる。
- (3) 基質形成期(分泌期)：チーズ状エナメル質が分泌される。
- (4) 移行期：チーズ状エナメル質の分泌が止まり、細胞形態が変わる。

表2. エナメル質形成とエナメル芽細胞の分化の対応表

段階	細胞増殖期	細胞分化期	基質形成期(分泌期)	移行期	成熟期	退縮期
細胞名	内エナメル上皮	前エナメル芽細胞 (分化期エナメル芽細胞)	形成期(分泌期) エナメル芽細胞	移行期 エナメル芽細胞	成熟期 エナメル芽細胞	退縮エナメル上皮
特徴	<p>■形態:背の低い細胞。よく細胞分裂して歯冠の形態を作る。未分化な形態。■段階の別名:(歯冠)形成初期、または形態発生期。</p>	<p>■形態:背が少し高くなる。分裂停止。基底面に複数の陥入が見られるようになり、基底膜の断裂と消化が始まる。核は基底面とは反対側に移動し、基底面側の細胞質では、小胞体やミトコンドリア、ゴルジ装置が多く配置される。こうして細胞の極性が形成され、基底面が分泌面となっていく。■機能:エナメルタンパク質や蛋白分解酵素の合成がはじまる。ただし、石灰化象牙質がないために、エナメルタンパク質が拉散し、エナメル質基質の沈着はまだ見られない。■周辺:中間層細胞との形態の違いがはっきりしはじめる。</p>	<p>■形態:背の高い極性をもった細胞。エナメル質基質の沈着が開始した時点から形成期と定義できる。分泌面(遠位端)には形成面と滑走面からなるトームス突起が現れる。■別分類:形成初期は、トームス突起が不明瞭なため、これを別な時期として分類することもある。■機能:さかんにエナメルダンパク質や、蛋白分解酵素を分泌。Ca, Pなどのミネラルの輸送には、CaATPase や ALPase が関与。■周辺:象牙芽細胞が先行して分化し、象牙質(象牙前質)を形成しはじめる。</p>	<p>■形態:エナメル芽細胞が蛋白合成型から電解質輸送型に大きく形態変化を示す。トームス突起の消失、アポトーシスなど多くのイベントも起こる。■別分類:エナメル質の厚みが決まるまでのステージを形成期とすることが多いので、移行期は形成期に含まれることもある。</p>	<p>■形態:少し背が低くなる。波状縁のあRA (ruffle-ended ameloblast) と波状縁のないSA (smooth-ended ameloblast) という二つの形態を交互にとる(周期的な形態のモジュレーション)。また、タイトジャンクション(TJ)の位置も異なり、RAでは遠位に、SAでは近位にある。GBHA染色(遊離カルシウムの多いところを染める)を行うとRAは陰性、SAは陽性。■機能:RAは、Caの輸送、蛋白分解酵素と酸の分泌、蛋白・水の脱却を行う。一方、SA領域では、中性化しており、このことがCaの結晶成長を促す。こうして、RAとSAを交互に繰り返しながら、エナメル質の硬化と成熟が進む。■齧歯類切歯:成熟期の最後に鉄の沈着を起こす着色期が加わる。</p>	<p>■形態:背の低い細胞。分裂しない。退縮エナメル上皮は、口腔粘膜炎上皮と同じ様な重層扁平上皮様となり、接合上皮に移行する。この接合上皮は歯小皮(ナメス膜)となる。■別名:保護期エナメル芽細胞または縮合エナメル上皮とも呼ぶ。</p>
						

「段階」はエナメル質形成のステージを示し、「細胞名」は内エナメル上皮からエナメル芽細胞への分化段階を示す。細胞の模式図は小澤1987(文献5)を改変。

- (5) 成熟期：エナメル質の硬化・成熟の過程。
- (6) 退縮期：エナメル質が完成し、細胞が退縮。

それぞれの段階に対応する細胞は、内エナメル上皮—前エナメル芽細胞—形成期（分泌期）エナメル芽細胞—移行期エナメル芽細胞—成熟期エナメル芽細胞—退縮エナメル芽細胞と呼ばれ、いずれも内エナメル上皮から分化したひと続きの細胞系列にある。エナメル質は基質形成期に形成されるが、この時期のエナメル質はチーズ状エナメル *cheesy enamel* と呼ばれる柔らかいエナメル質（無機質70%、有機質30%）であり、エナメル質は最初から硬いわけではない。エナメル質の硬化が行われるのは成熟期であり、エナメル蛋白質の自動的な分解と成熟期エナメル芽細胞による水と蛋白分解産物の脱却による。すなわち、有機物や水の再吸収がハイドロキシアパタイトを高濃度化し、結晶化を促すのである。エナメル蛋白質の自動的な分解は、アメリロジェニンやエナメリンの段階的な低分子化によって示されており、基質形成期において、チーズ状エナメル質の中に分泌された蛋白分解酵素の働きによると考えられている。

IV. 歯胚発生と細胞分化

歯胚の分化段階は、開始期—蕾状期—帽状期—鐘状期—歯根形成期と進み、歯胚を構成する細胞群の分化段階もそれに伴って変化する。最初は細胞の種類が少なく単純な構成であったものが、多数の種類からなる複雑な構成を持つようになるのであるが、これを細胞の分化段階に注目してまとめると図1のようになる。また、現在までの主な知見をまとめると次のようになる。

- (1) エナメル芽細胞の細胞系列には幹細胞がある。この細胞はやや分裂活性が低いのだが、分裂活性の高い娘細胞を経て、各種細胞へと分化する。この幹細胞の存在は、マウス切歯の頸係締（マウス切歯では特に *apical loop* と呼ぶ）の唇側部位にあることが発見された⁶⁻⁸⁾。通常の歯胚におけるエナメル上皮幹細胞は、歯冠形成期では頸係締 *cervical loop* に位置してエナメル器に多くの種類の細胞を供給する細胞であり、歯根形成期ではヘルトヴィツヒの上皮鞘となって歯根を形成する細胞となると考えられる（ただし、現時点ではエナメル幹細胞からヘルトヴィツヒの上皮鞘への分化については、直接の実験証拠は

ない）。エナメル幹細胞はマウス切歯においては常に存在し続けているが、このことは、マウス切歯が常生歯（＝常に生え続ける歯）であることを反映していると思われる。また、マウス切歯が無根歯であることを考慮に入れると幹細胞がヘルトヴィツヒの上皮とならず、いつまでも幼若な段階にとどまることが歯根形成の始まらない理由と考えてよいのではないだろうか？

- (2) 最近の幹細胞研究から考えると歯乳頭にも幹細胞があり、それはエナメル上皮幹細胞に近接して存在して、互いに幼若な状態を維持しあう“ニッチェ”を構成している可能性がある⁹⁾。この歯乳頭の幹細胞は実際にはまだ発見されていないが、象牙質形成細胞（歯乳頭細胞—前象牙芽細胞—象牙芽細胞）の起源となる細胞は必ず存在するはずである。
- (3) エナメル質形成に直接関わる細胞群は、内エナメル上皮細胞から始まり、前エナメル芽細胞、形成期エナメル芽細胞、成熟期エナメル芽細胞、退縮期エナメル芽細胞とされている。これらは形態的に明確な区別ができるが（表1）、培養下においては形態が不明確になりやすいのでマーカー分子が必要となる。内エナメル上皮の分化マーカーとして、*c-Met*, *K14*, *En3* などがある¹⁰⁾。
- (4) ヘルトヴィツヒの上皮鞘や、歯小嚢を構成する細胞の分化や由来は、現時点では不明の点が多い。歯根の培養法の確立と細胞マーカーの探索が急務と思われる。
- (5) 細胞分化は歯胚の中で一様に進むわけではない。すなわち部位によって分化の度合いに大きな差がある。例えば歯冠においては、将来の溝の部分では比較的長く細胞増殖が見られ、内エナメル上皮や歯乳頭細胞といった幼若な細胞分化段階のものが主であるが、将来の咬頭になる部分では増殖がいち早く止まって細胞が分化し、形成期エナメル芽細胞や象牙芽細胞が他の部位よりも早い時期から出現して硬組織形成が始まる。

V. さまざまな増殖因子の作用

一般に上皮細胞の細胞培養は難しい。組織から単離し培養してもなかなか増殖せず、分化がどんどん進んで最終分化し死滅していくことが通常だからである。逆に、間葉細胞は培養が容易であり、通常の培養条件下で盛んに増殖するが、その反面、分化が起こりにくいという性質がある。すなわち、単離培養すると上皮細胞は分化を、間葉細胞は増殖を続けようとする性質

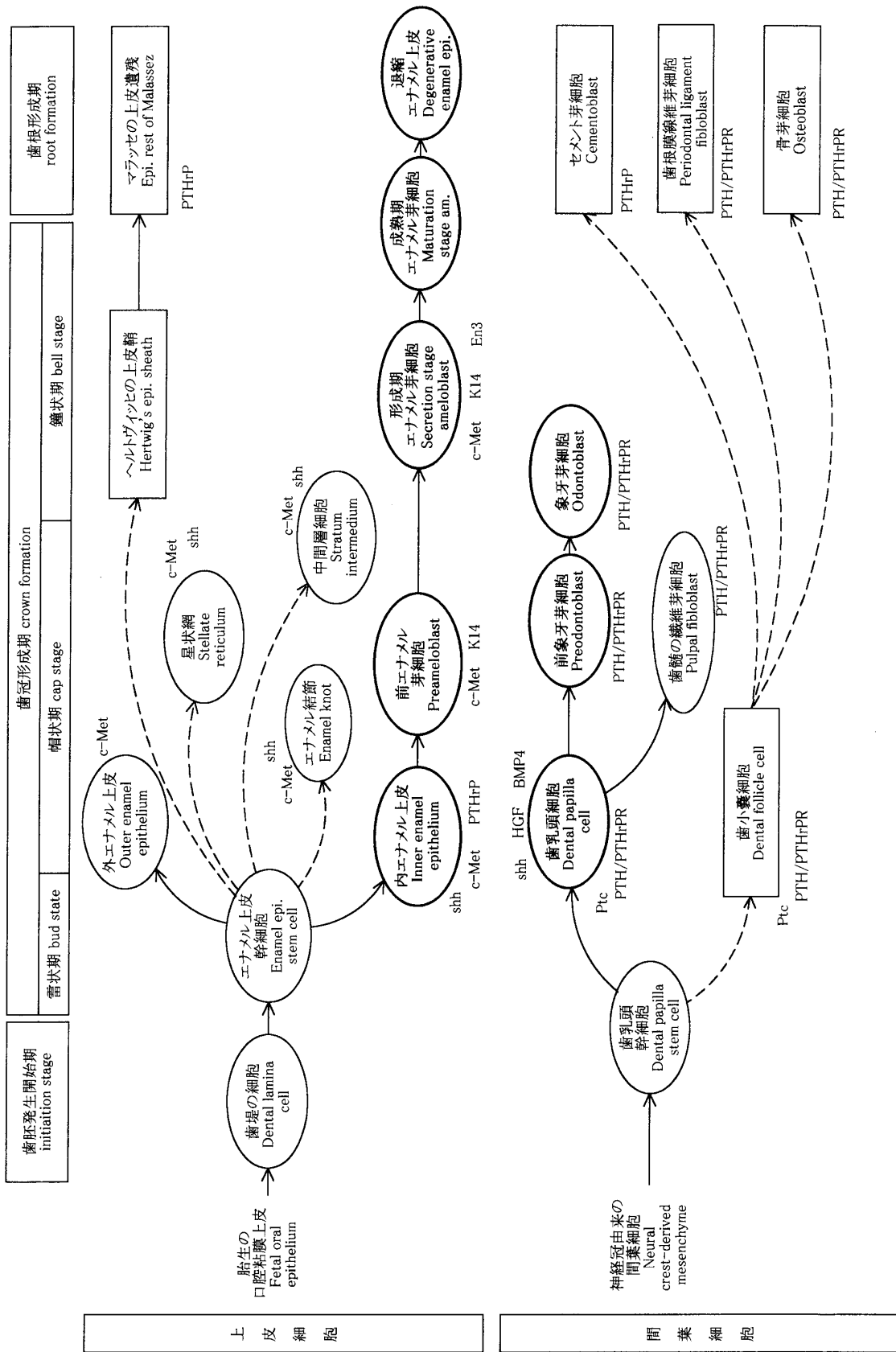


図1. 歯胚を構成する細胞群の細胞系譜 (推定)。楕円で囲んだ細胞のうち、強調表示のものは、上皮細胞がエナメル質を形成する細胞群，間葉細胞が象牙質を形成する細胞群である。四角で囲んだ細胞は、主として歯根形成に関わるものである。楕円や四角の外に本稿で紹介したそれぞれの細胞で発現している増殖因子，そのレセプター，細胞マーカーなどを付記している。破線は推定される系統を示す。

を示し、in vitroでの細胞分化の研究を難しくしている。ところが両者を共培養すると、上皮細胞の分化が抑制され、間葉細胞の増殖が抑制されることが知られている。これは上皮・間葉が近接することで相互作用が生じ、増殖と分化が互いに牽制されるようになることを意味する。歯胚の上皮・間葉においてもこうした傾向は同様であり、そこに介在する制御因子の実体解明こそが大きな課題のひとつとなっている。そこで近年の研究から判明しつつある増殖因子の例をあげてみたい。

(1) 肝細胞増殖因子 (HGF)

肝細胞増殖因子 (Hepatocyte growth factor; HGF) は、ラットやヒトで肝細胞の増殖因子として発見されたが¹¹⁻¹²⁾、その後、HGFは歯乳頭に、レセプターであるc-Metは内エナメル上皮に発現することが報告され、歯胚においても間葉から上皮に働く因子であることが予想された¹³⁾。そして、器官培養下のマウス臼歯歯胚に対してHGFの発現をアンチセンス法で阻害する実験から¹⁴⁾、HGFは歯胚上皮の増殖を促進する因子であることが示された¹⁵⁾。さらにラットのエナメル芽細胞系列の初代細胞培養を行い¹⁶⁻¹⁷⁾、HGFの歯胚上皮細胞に対する効果を調べたところ、細胞遊走活性と増殖活性の増加が見られた¹⁸⁾。歯胚におけるHGFの発現は、初期においては歯乳頭全体で、後にだんだん部位が縮小し、鐘状期以降においては将来の溝の部分にのみ、限局するようになる。この発現部位に隣接する内エナメル上皮の部位は、常に未熟な分化段階の細胞であり、HGFによってその状態が維持されていることが示唆される。エナメル芽細胞系列の細胞群が分裂活性の高い未分化段階に引き止められることは、歯乳頭を覆うに足るだけの十分な細胞数からなる上皮シートを形成することに有用であり、HGFはその増殖を支配する因子であると考えるとよいであろう。

(2) 副甲状腺ホルモン関連蛋白質 (PTHrP)

副甲状腺ホルモン関連蛋白質 (Parathyroid hormone related protein; PTHrP) は、最初、悪性腫瘍における高カルシウム血症の原因物質として血中から同定され¹⁹⁻²⁰⁾、その後の研究で、パラクラインあるいはオートクライン因子として近接した細胞間で働くことや、さまざまな細胞の増殖や分化の調節に関わることが明らかとなってきた。ラット歯胚においては、頸係締を中心としたエナメル器、Malassezの上皮遺残、セメント芽細胞などでPTHrP遺伝子が²¹⁾、PTHrP受容体の

遺伝子発現は、歯胚では歯乳頭や歯小囊、歯胚周囲の歯槽骨表面(=骨芽細胞などに富む)に発現が観察されている²²⁾。すなわち、歯胚発生期においては、PTHrPは歯胚上皮から合成・分泌され、歯乳頭、歯小囊、および歯胚の周囲にある骨組織表面に働く因子であることが予想された。その後のアンチセンス法や破骨細胞の分化阻害剤による実験により、PTHrPは歯小囊周囲の破骨細胞の活性化を促し、歯槽骨など歯胚周囲の骨が歯胚に侵入してくるのを防御するのを支配している因子であることが判明した²³⁻²⁴⁾。歯胚そのものの上皮間葉相互作用に関わる因子ではなく、歯胚の中から外へとはたらく因子と考えるとよい。

(3) 骨形成因子 (BMP4)

骨形成因子 (Bone morphogenetic protein; BMP) は、異所性に骨形成を誘導する因子として発見されたが²⁵⁾、その後、遺伝子がクローニングされ、体軸形成や様々な器官の発生に重要な機能を果たす因子であることが次第に明らかになった。現在までに20種以上の同属遺伝子が発見されており、TGF β スーパーファミリーの中でも最大のサブファミリーを構成している。また、ショウジョウバエのdppのホモログであることから、ShhやWntとの関連も注目されている。歯では、BMP2, 4, 6, 7の発現が報告されているが、特にBMP4は、マウスE11の開始期歯胚の肥厚上皮に発現し、E12に歯胚間葉へと発現が移行することなどから、歯の形成における上皮・間葉相互作用での役割に興味を持たれている²⁶⁻²⁷⁾。一方、受容体IA, IBは内エナメル上皮に持続して発現することが知られている²⁸⁻²⁹⁾。BMP4の歯胚発生における働きについては、E12.0-E13.0では歯種の決定に関与している可能性があり³⁰⁾、E13.0-E13.5では、歯冠の咬頭形成に関与していることが示されている³¹⁾。

VI. おわりに

近年、歯に発現する遺伝子の研究は、ノックアウトマウスの研究や歯の遺伝性疾患の研究と結びつき、歯の発生そのものの研究をさらに進展させるというよい循環を見せている。こうした状況にあって、エナメル質形成の研究の向かう方向としては3つ考えられる。ひとつは、臨床研究との交流による歯の遺伝性疾患のいっそうの解明をめざすことである。現時点では原因遺伝子や疾患のメカニズムが判明している歯の疾患は少なく十分な成果が望める状況にある。ふたつめは、進化研究との交流によるエナメル質形成の進化過程の

解明やエナメル芽細胞の由来の解明であろう。化石動物も含めてさまざまな動物の歯からの記載生物学と、遺伝子、細胞、発生といった実験生物学が合流してダイナミックな進化学が動き始めている。3つめは、他の器官発生との比較研究である。とりわけ、上皮の付属器官である毛や羽根、汗腺、乳腺などとの共通点と相違点を明らかにすることは重要と思われる。本稿がこうした関連分野の方々の興味を少しでもひくことができたなら幸甚である。

謝 辞

本稿執筆にあたり、ハイドロキシアパタイト結晶については朝日大学歯学部理工学講座の飯島まゆみ博士に、エナメル芽細胞の形態分類については新潟大学大学院歯学総合研究科硬組織形態学分野の大島勇人教授に、細胞系譜や幹細胞については九州歯科大学口腔解剖学第2講座の原田英光助教授に、歯根形成期については岩手医科大歯学部口腔解剖学第2講座の藤原尚樹博士に助言や示唆をいただきました。心から感謝いたします。

文 献

- 1) 森脇豊：エナメル質の結晶化学；エナメル質，その形成，構造，組成と進化。須賀昭一編，2-13，クインテッセンス出版，東京，1987
- 2) 須賀昭一：エナメル質形成過程のあらまし；エナメル質，その形成，構造，組成と進化。須賀昭一編，46-49，クインテッセンス出版，東京，1987
- 3) 飯島まゆみ，森脇豊：エナメル質アパタイト結晶の形成機構—オクタカルシウムリン酸（OCP）の結晶成長に及ぼす有機基質の影響について。日本結晶成長学会誌，26，175-183，1999
- 4) Uchida, T., Tanabe, T., Fukae, M., Shimizu, M., Yamada, M., Miake, K. & Kobayashi, S.: Immunochemical and immunohistochemical studies, using antisera against porcine 25 kDa amelogenin, 89 kDa enamelin and the 13-17 kDa nonamelogenins, on immature enamel of the pig and rat. *Histochemistry*, 96, 129-138, 1991
- 5) 小澤英浩：エナメル芽細胞の微細構造学的特徴と機能；エナメル質，その形成，構造，組成と進化。須賀昭一編，50-75，クインテッセンス出版，東京，1987
- 6) Harada, H., Kettunen, P., Jung, H.S., Mustonen, T., Wang, Y.A. & Thesleff, I.: Localization of putative stem cells in dental epithelium and their association with Notch and FGF signaling. *J Cell Biol.*, 147, 105-120, 1999
- 7) Harada, H., Toyono, T., Toyoshima, K., Yamasaki, M., Itoh, N., Kato, S., Sekine, K. & Ohuchi, H.: FGF10 maintains stem cell compartment in developing mouse incisor. *Development.*, in press
- 8) Harada, H., Mitsuyasu, T., Toyono, T. & Toyoshima, K.: Epithelial stem cells in tooth. *Odontology*, in press
- 9) Watt, F.M., Hogan, B.L.M. Out of eden: Stem cells and their niches. *Science*, 287, 1427-1430, 2000
- 10) Tabata, M.J., Matsumura, T., Liu, J.-G., Wakisaka, S. & Kurisu, K.: Expression of cytokeratin 14 in ameloblasts-lineage cells of developing tooth of rat tooth both in vivo and in vitro. *Arch. Oral Biol.* 41, 1019-1027, 1996
- 11) Nakamura, T., Nawa, K. & Ichihara, A.: A purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 122, 1450-1459, 1984
- 12) Gohda, E., Tsubouchi, H., Nakayama, H., Hirono, S., Takahashi, K., Koura, M., Hashimoto, S., Daikuhara, Y., Human hepatocyte growth factor in plasma from patients with fulminant hepatic failure. *Exp Cell Res.*, 166, 139-150, 1986
- 13) Sonnenberg, E., Weidner, K.M. & Birchmeier, C.: Scatter factor/hepatocyte growth factor and its receptor, the c-met tyrosine kinase, can mediate a signal exchange between mesenchyme and epithelia during mouse development. *J. Cell Biol.* 123, 223-235, 1993
- 14) 田畑 純，栗栖浩二郎：アンチセンス法と器官培養法による歯胚発生の研究へのアプローチ。Arch. Comp. Biol. Tooth Enamel, 6, 19 - 33, 1999
- 15) Tabata, M. J., Kim, K., Liu, J.-G., Yamashita, K., Matsumura, T., Kato, J., Iwamoto, M., Wakisaka, S., Matsumoto, K., Nakamura, T., Kumegawa, M. & Kurisu, K.: Hepatocyte growth factor is involved in the morphogenesis of tooth germ in murine molars. *Development* 122, 1243-1251, 1996
- 16) Kukita, A., Harada, H., Kukita, T., Inai, T., Matsushashi, S. & Kurisu, K.: Primary and secondary culture of rat ameloblasts in serum-free medium. *Calcif. Tissue Intn.*, 51, 393-398, 1992

- 17) 田畑 純, 松村達志, 栗栖浩二郎: エナメル芽細胞の初代培養法. *Arch. Comp. Biol. Tooth Enamel*, 7, 23-32, 2000
- 18) Matsumura, T., Tabata, M.J., Wakisaka, S., Sakuda, M. & Kurisu, K.: Ameloblast-lineage cells of rat tooth germs proliferate and scatter in response to hepatocyte growth factor in culture. *Intn. J. Develop. Biol.* 42, 1137-1142, 1998
- 19) Moseley, J. M., Kubota, M., Diefenbach-Jagger, H., Wettenhall, R. E., Kemp, B.E., Suva, L.J., Rodda, C. P., Ebeling, P. R., Hudson, P. J., Zajac, J. D., et al.: Parathyroid hormone-related protein purified from a human lung cancer cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 84, 5048-5052, 1987
- 20) Suva, L. J., Winslow, G. A., Wettenhall, R. E., Hammonds, R. G., Moseley, J.M., Diefenbach-Jagger, H., Rodda, C. P., Kemp, B. E., Rodriguez, H., Chen, E. Y., Hudson, P. J., Martin, T. J. & Wood, W. I.: A parathyroid hormone-related protein in malignant hypercalcemia: cloning and expression. *Science* 237, 893-896, 1987
- 21) Beck, F., Tucci, J., Russell, A., Senior, P. V. & Ferguson, M. W. J.: The expression of the gene coding for parathyroid hormone-related protein (PTHrP) during tooth development in the rat. *Cell Tissue Res.* 280, 283-290, 1995
- 22) Lee, K., Deeds, J. D. & Segre, G. V.: Expression of parathyroid hormone-related peptide and its receptor messenger ribonucleic acids during fetal development of rats. *Endocrinology* 136, 453-463, 1995
- 23) Liu, J. -G., Tabata, M. J., Yamashita, K., Matsumura, T., Iwamoto, M. & Kurisu, K.: Developmental role of PTHrP in murine molars. *Eur. J. Oral Sci.* 106 (s1), 143-146, 1998
- 24) Liu, J. -G., Tabata, M. J., Fujii, T., Ohmori, T., Abe, M., Ohsaki, Y., Wakisaka, S., Iwamoto, M. & Kurisu, K.: Parathyroid hormone-related peptide is involved in protection against invasion of tooth germs by bone via promoting the differentiation of osteoclasts during tooth development. *Mech. Develop.* 95, 189 - 200, 2000
- 25) Urist, M. R.: Bone: formation by autoinduction. *Science* 150, 893-899, 1965
- 26) Vainio, S., Karavanova, I., Jowett, A. & Thesleff, I.: Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development. *Cell* 75, 45-58, 1993
- 27) Vaahtokari, A., Aberg, T., Jernvall, J., Keranen, S. & Thesleff, I.: The enamel knot as a signaling center in the developing mouse tooth. *Mech. Develop.* 54, 39-43, 1996
- 28) Iseki, S., Osumi-Yamashita, N., Miyazono, K., Franzen, P., Ichijo, H., Ohtani, H., Hayashi, Y. & Eto, K.: Localization of transforming growth factor- β type I and type II receptors in mouse development. *Exp. Cell Res.* 219, 339-347, 1995
- 29) Ikeda, T., Takahashi, H., Suzuki, A., Ueno, N., Yokose, S., Yamaguchi, A. & Yoshiki, S.: Cloning of rat type I receptor cDNA for bone morphogenetic protein-2 and bone morphogenetic protein-4, and the localization compared with that of the ligands. *Develeop. Dynamics* 206, 318-329, 1996
- 30) Tucker, A.S., Matthews, K.L. & Sharpe, P.T.: Transformation of tooth type induced by inhibition of BMP signaling. *Science* 282, 1136-1138, 1998
- 31) Tabata, M. J., Fujii, T., Liu, J. -G., Ohmori, T., Abe, M., Wakisaka, S., Iwamoto, M. & Kurisu, K.: Bone morphogenetic protein 4 is involved in cusp formation in molar tooth germ of mice. *Eur. J. Oral Sci.*, in press