

Ensemble des gènes connus comme impliqués dans le développement cranio-facial

Yohann SIMON^{a,c*}, Claude CHABRE^b, Alain LAUTROU^c, Ariane BERDAL^{a,b}

^a Faculté de chirurgie dentaire, Université Paris V, 1 rue Maurice Arnoux, 92120 Montrouge, France

^b Faculté de chirurgie dentaire, Université Paris VII, 5 rue Garancière, 75006 Paris, France

^c Laboratoire de biologie oro-faciale et pathologie, INSERM U 714, Université Paris VII, Institut biomédical des Cordeliers, 15–21 rue de l'École de Médecine, 75270 Paris Cedex 06, France

RÉSUMÉ – De nombreux gènes intervenant au niveau du développement, de la morphogenèse et de la croissance cranio-faciale ont été identifiés, essentiellement par l'utilisation de souris mutées. Il est possible de distinguer deux familles : les facteurs de signalisation et les facteurs de transcription. Ces derniers interagissent avec l'ADN pour activer ou inhiber l'expression d'autres gènes. Une partie des facteurs de transcription sont appelés homéoprotéines parce qu'ils interagissent avec l'ADN via une séquence d'acides aminés très conservée au cours de l'évolution et appelée homéodomaine. Ces différents facteurs interagissent entre eux et des cascades de signalisation ont été décrites. Les voies de recherche actuelles portent sur l'implication exacte de chacun de ces gènes dans la croissance cranio-faciale et sur une meilleure connaissance des interactions entre ces différents gènes.

MOTS CLÉS – Croissance cranio-faciale / Morphogenèse / Facteurs de signalisation / Facteurs de transcription

ABSTRACT – Many genes intervening in development, morphogenesis and craniofacial growth have been identified, primarily by the use of mice mutants. We can distinguish two families: the signalling factors and the transcription factors. The latter interact with DNA to activate or to inhibit the expression of other genes. Some of the transcription factors are called homeogenes because they interact with DNA by a sequence of amino acids known as homeobox that has been carefully conserved throughout the course of evolution. Those factors interact, and signalling cascades have been described. Current research projects seek to discern the exact role of each of these genes in craniofacial growth and to develop a better understanding of the interactions between them.

KEYWORDS – Craniofacial growth / Morphogenesis / Signalling factors / Transcription factors

1. Introduction

Le développement facial est un processus dynamique comprenant plusieurs étapes. Il débute avec la formation des cellules des crêtes neurales au niveau du cerveau en développement. Ces cellules migrent pour former, avec les cellules mésodermiques, l'ectomésenchyme. Puis ce tissu va se différencier en ostéoblastes, chondroblastes et cellules odontogènes à l'origine de la plupart des tissus minéralisés cranio-faciaux. Des signalisations coordonnent la croissance de la face primitive.

Les molécules qui participent à cette édification ont été identifiées grâce à l'utilisation de souris mutées, de données provenant de syndromes

cranio-faciaux chez l'homme et d'études expérimentales sur les molécules de signalisation pendant le développement de la face.

En ce qui concerne les mutants, chez les souris transgéniques, il s'agit soit :

- de knock-out pour le gène étudié (suppression du gène),
- de l'inactivation d'un seul allèle du gène,
- du remplacement du gène à étudier, en partie ou complètement, par un gène bactérien, entre autres celui de la β Galactosidase. Cela permet l'inactivation fonctionnelle du gène et, grâce à un réactif, de visualiser son expression. L'application d'un réactif entraîne une réaction enzymatique avec la β Galactosidase. Partout où le gène étudié s'exprime normalement va apparaître une

* Auteur pour correspondance : yohann.simon2@libertysurf.fr

coloration bleue. Cela permet d'obtenir une cartographie de l'expression du gène.

Cependant, la façon dont ces molécules contrôlent les interactions épithélio-mésenchymateuses, qui permettent la croissance faciale et la morphogénèse, reste obscure.

Les structures faciales dérivent de la face primitive constituée à l'origine d'un ensemble de petits bourgeons entourant la cavité orale primitive.

Ces bourgeons sont formés en profondeur d'un ectomésenchyme, qui dérive de l'interaction de cellules des crêtes neurales qui ont migré au sein d'un tissu mésenchymateux, et en surface d'une couche épithéliale d'ectoderme et d'endoderme.

Les structures squelettiques dérivent des crêtes neurales alors que le mésoderme donne naissance aux myoblastes et aux angioblastes [18,87-90].

La mâchoire inférieure est formée par les deux bourgeons mandibulaires tandis que les maxillaires dérivent des masses fronto-nasales, des processus nasaux latéraux et des maxillaires primitifs.

La croissance et la morphogénèse des différentes structures osseuses primitives doivent être intimement coordonnées pour obtenir un squelette facial normal et fonctionnel.

Wedden [133] a montré que la croissance de la face primitive requiert des interactions épithélio-mésenchymateuses comme cela avait été montré au niveau des membres.

Les développements du cerveau et du crâne sont liés directement par des interactions inductives ou indirectement par des effets secondaires dus aux changements de formes du cerveau et du crâne [18, 19, 92].

Dans ce développement interviennent des facteurs de signalisation et des facteurs de transcription.

2. Les facteurs de signalisation impliqués dans le développement cranio-facial (Tab. 1)

Un facteur de signalisation est une molécule qui active, via un récepteur spécifique, une cascade d'activation ou d'inhibition moléculaire.

Ces facteurs sont classés en familles :

- famille des « Fibroblast Growth Factor » (FGF),
- famille des « Transforming Growth Factor β » (TGF β),

- famille « Hedgehog » (hh),
- famille de « Wingless » (Wnt),
- molécules de signalisation comme l'endothéline 1 (ET-1), « Platelet-derived Growth Factor » (PDGF α) [15, 57, 61, 70, 79, 94, 95, 114, 134], l'« Epithelial Growth Factor » (EGF), TGF α .

Certains de ces facteurs sont exprimés à plusieurs stades du développement et il n'est donc pas toujours facile de savoir lequel est atteint par la mutation d'un gène.

2.1. La famille des FGF

Elle contient 18 membres. Ce sont des facteurs prolifératifs.

Au moins six membres des FGF sont exprimés lors du développement de la face primitive. Il s'agit des FGF 1, 2, 4, 5, 8 et 12.

Chez l'homme, de nombreux syndromes cranio-faciaux sont associés à des mutations des récepteurs aux FGF [81, 135, 136, 142]. Par exemple, le syndrome de Crouzon et l'achondroplasie sont dus respectivement à une activation constitutive des FGFR2 et FGFR3 [47,73,104]. Le syndrome d'Apert est dû à une mutation non sens du gène FGFR2 [16] (Fig. 1).

2.2. La superfamille des TGF

Cette famille comprend :

- les molécules TGF 1, 2 et 3,
- les « Bone Morphogenetic Protein » (BMP),
- les « Growth and Differentiation Factors » (GDFs),
- la famille des activines/inhibines.

2.2.1. Les molécules TGF 1, 2 et 3

Nombreux sont les membres de cette famille qui sont exprimés au niveau de la face primitive [23, 107].

Pendant le développement, ces molécules sont impliquées dans le patron génétique, les interactions épithélio-mésenchymateuses, la prolifération cellulaire, l'apoptose et la chondrogenèse [44, 56, 80].

Le knock-out de *Tgf 2* entraîne des défauts au niveau du développement du maxillaire et de la mandibule et de façon occasionnelle une fente palatine [110].

Le knock-out de *Tgf 3* entraîne toujours une fente palatine par absence de fusion des processus palatins [53,101]. D'ailleurs, *Tgf 3* est fortement exprimé

Tableau 1
Liste des gènes dont les mutations ou les knock-out entraînent des anomalies faciales, d'après Francis-West [31].

	Facteurs de signalisation	Homéogènes	Autres facteurs de transcription
Cellules des crêtes neurales en migration	Wnt-5a	En protein	AP-2 ^a
		Dlx -1 ^a , -2 ^a	Gli-2 ^a et 3 ^a
		Msx -1 ^{a,b} , -2 ^b	twist ^{a,b}
		Otx-2 ^a	
		Pax 3 ^{a,b} et 7 ^a	
Face primitive	Activin β ^a	Barx 1 et 2	AP-2 ^a
	Bmp-2,4 ^a ,5 ^a et 7 ^a	Dlx 1-6 (1 ^{a,2})	Gli-1, 2 ^a et 3 ^a
	EGF	En-2	Pax-1 ^a
	ET-1 ^a	GH-6	twist ^{a,b}
	FGF 1,2,4,5,8 et 12	Gsc-1 ^a	
	PDGF- α	Mhox ^a (Prx-1)	
	Jagged 1 ^b et 2 ^a	Msx -1 ^{a,b} , -2 ^b	
	Shh ^{a,b}	Otx-2 ^a	
	TGF α	Pax 3 ^{a,b} , 6 ^{a,b} et 7 ^a	
	TGF β 1,2 ^a et 3 ^a	Ptx-1	
	Wnt-5a, 10a,10b,11	Reig ^b	
		S8	
		Tlx-1 (Hox 11)	
		Uncx-4.1	

^a Mutation ou perte de fonction par knock-out qui entraîne chez la souris des anomalies faciales.

^b Il existe un syndrome humain associé à la mutation de ces gènes.

au niveau de ces processus palatins. Sun, *et al.* [120] ont provoqué *in vitro* une fusion des processus palatins d'un poulet en présence de Tgf 3 alors que, normalement, dans cette espèce, ces processus ne fusionnent pas.

2.2.2. Les BMP

Lors du développement précoce, BMP 4 est exprimé dans des régions spécifiques de l'épithélium qui correspondent aux zones d'expression de BMP 2, BMP 7, Msx1 et Msx2 au sein du mésenchyme sous-jacent [6].

Une application ectopique de BMP 2 ou BMP 4 peut activer l'expression de Msx1 ou Msx2 [6]. De plus, une application ectopique de BMP 2 peut entraîner une augmentation de la prolifération de la mandibule primitive [6].

2.2.3. Les Growth and Differentiation Factors (GDFs)

Nous avons peu de données sur cette famille.

2.2.4. La famille des activines/inhibines

Activine β A, un autre membre de la famille TGF β , est exprimé dans le mésenchyme des faces de souris et de rat [28, 105]. Son knock-out entraîne chez la souris une fente palatine et une perte des incisives inférieures [72].

La mutation nulle de la follistatine (c'est-à-dire la suppression des 2 allèles du gène *follistatine*) entraîne des anomalies du palais dur similaires à celles obtenues sur knock-out de l'activine β A, ce qui suggère que la follistatine est un agoniste de l'activine [72]. La follistatine agit comme un antagoniste des BMP 2 et BMP 4 *in vitro*.

Le knock-out du récepteur de l'activine de type 2 entraîne aussi des défauts cranio-faciaux incluant une hypoplasie de la mandibule et des fentes palatines dans un petit pourcentage d'animaux [72].

2.3. La famille Hedgehog

Trois membres de cette famille ont été identifiés chez l'homme, le poulet et la souris. Il s'agit de

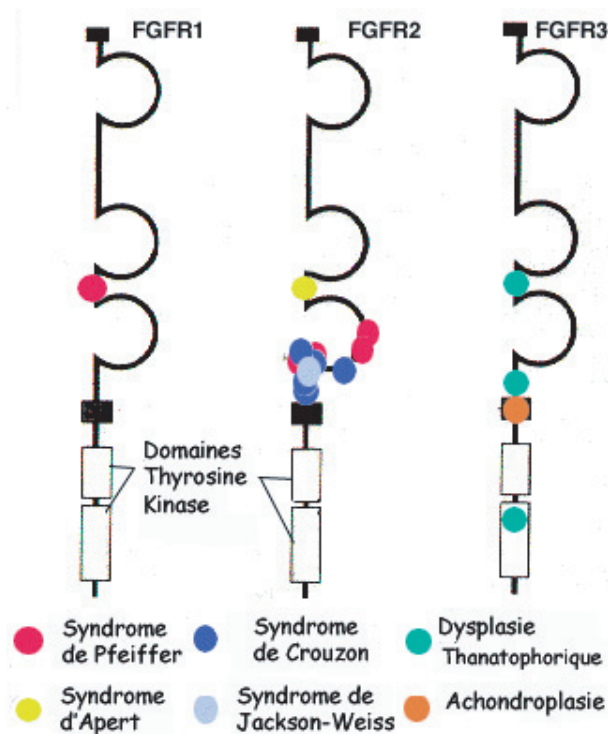


Figure 1

Les différentes mutations sur les récepteurs des facteurs de croissance des fibroblastes (*Fibroblast Growth Factors Receptors*) et leur phénotype respectif. Le rectangle noir représente le domaine transmembranaire. Les boucles représentent les domaines « immunoglobulin-like » (qui sont stabilisés par des ponts disulfures) [142].

Shh : « Sonic Hedgehog », Ihh : « Indian Hedgehog » et Dhh : « Desert Hedgehog » [38].

Chez la souris et le poulet en développement, Shh est exprimé au niveau de la face primitive [6, 39, 69, 129].

Le knock-out de *Shh* chez la souris et la mutation du gène *SHH* chez l'homme entraînent une holoprosencéphalie caractérisée par un développement anormal de la face et de la partie antérieure du cerveau [8, 12, 108].

Comme toute perturbation du développement du cerveau entraîne des anomalies du développement du crâne, nous ne savons pas si SHH a directement un effet sur le développement du crâne.

Des mutations au niveau de la voie de transduction Hedgehog peuvent aussi entraîner des anomalies cranio-faciales.

Chez l'homme, l'haplo-insuffisance des PTC (récepteur transmembranaire Patched) est à l'origine du syndrome de Gorlin qui est caractérisé par une fente

palatine et des kystes odontogéniques à la mandibule [33, 36, 37, 50, 100].

D'autres molécules de la voie de transduction Hedgehog chez les vertébrés ont pour nom Gli, Gli-2 et Gli-3 [109].

Le knock-out de *Gli 2* entraîne une absence de la partie distale du maxillaire et de la mandibule, une absence des incisives et une fente due à la perte de l'os préphénoïde, des processus maxillaires et palatins [76].

La mutation de *Gli 3* entraîne un élargissement de la région maxillaire, les processus nasaux externes sont plus petits et une fente survient.

Le double knock-out des *Gli 2* et *Gli 3* chez la souris a des effets plus sévères sur le développement mandibulaire, avec de nombreux os hypoplasiques. Mo, *et al.* [76] suggèrent alors qu'il doit y avoir une redondance entre *Gli 2* et *Gli 3* au niveau de certaines régions de la face en développement.

Chez l'homme, la perte partielle de la fonction de GLI 3 par délétion ou translocation au niveau d'une copie de *GLI 3* entraîne le syndrome de Grizz qui est habituellement caractérisé par un front large [128].

Le syndrome de Pallister-Hall, associé à une mutation de *GLI 3*, aboutit à une protéine tronquée [54].

Ce syndrome associe un éventail d'anomalies : une polydactylie, une épiglotte bifide, un hamartoblastome hypothalamique et une division des voies aériennes supérieures (larynx et trachée) avec un décès néonatal. L'hamartoblastome est une formation tissulaire pseudo-tumorale définie comme un mélange anormal de cellules normalement présentes dans l'organe où elles se développent. Parfois, le syndrome se manifeste uniquement par une polydactylie ou un tableau d'insuffisance surrénalienne néo-natale parfois mortelle.

2.4. La famille de Wingless (Wnt)

Elle comprend 15 membres qui jouent un rôle dans :

- l'organisation du système nerveux central,
- la modulation de la différenciation des chondrocytes,
- l'adhésion cellulaire, la prolifération et les communications intercellulaires [10, 24, 43, 77, 125]. Ces dernières s'effectuent par des jonctions intercellulaires appelées GAP junction.

Wnt 5a, 10a, 10b et 11 sont exprimées au sein de la face primitive de la souris alors que Wnt 1 et 2 n'ont pas été détectées dans des études similaires [13, 30, 45, 99, 131]. Leur rôle n'est pas encore connu.

2.5. Jagged

Jagged 1 et 2 sont des ligands membranaires des récepteurs de la famille Notch. Chez la souris, Jagged 1 est exprimé au sein des maxillaires et de la mandibule primitifs [75].

Chez l'homme, l'haplo-insuffisance de *JAGGED 1* entraîne le syndrome d'Algille caractérisé par une face de forme triangulaire due à des défauts de formation de la mandibule, du nez et du front [3, 4, 62, 91].

Jagged 2 est exprimé au sein de l'épithélium du premier arc branchial chez les embryons de souris de neuf jours. Il est détectable au niveau des autres arcs branchiaux à partir du 10^e jour [49, 115, 126].

Le knock-out complet de *Jagged 2* entraîne des défauts faciaux caractérisés principalement par un défaut de développement des processifs palatins qui vont alors fusionner avec la langue en développement [49].

2.6. Autres molécules de signalisation

2.6.1. L'endothéline 1 (ET-1)

ET-1 est un petit polypeptide de 21 acides aminés qui est activé par une enzyme : l'ECE-1 : endothelin-converting enzyme (enzyme de conversion de l'angiotensine).

Les deux sont exprimés dans l'épithélium et le mésenchyme para-axial des 1^{er} et 2^e arcs branchiaux en développement. Un récepteur de ET-1, ET-A est exprimé au niveau du mésenchyme dérivé des crêtes neurales [7, 14, 59, 66].

Les knock-out de Et 1, Ece 1 et Et A ont des phénotypes très semblables avec des structures osseuses dérivées des 1^{er} et 2^e arcs branchiaux et des fentes palatines [14, 59, 143].

Ces défauts sont proches du syndrome humain appelé Catch 22 qui présente aussi des problèmes cardiaques associés. Clouthier, *et al.* [14] ont proposé que la mutation d'un composant de la voie de signalisation d'ET 1 puisse être à l'origine du syndrome de Catch 22. Les défauts cranio-faciaux seraient en rapport avec une diminution de la prolifération des cellules des crêtes neurales [60, 119].

2.6.2. PDGF

Le récepteur de PDGF α est exprimé au niveau des cellules des crêtes neurales en migration et du mésenchyme facial alors que son ligand PDGF α est exprimé dans l'épithélium des arcs branchiaux [79, 95, 111].

Le knock-out de PDGF α entraîne des défauts au niveau de la ligne médiane, un hypodéveloppement de la face et la perte de pièces osseuses [116].

3. Les facteurs de transcription impliqués dans le développement cranio-facial

Un facteur de transcription est une protéine requise pour initier ou contrôler la transcription d'un gène.

Certains gènes sont qualifiés d'« homéogènes » ou gènes à homéoboîte. Ils codent pour des facteurs de transcription qui interagissent avec l'ADN via une séquence très conservée au cours de l'évolution appelée homéodomaine. Ces facteurs de transcription activent ou inhibent l'expression de gènes-cibles. L'expression de ces homéogènes est elle-même régulée par des cascades de signalisations où interviennent, entre autres, les facteurs de croissance.

Les études par knock-out ont montré que les gènes à homéoboîte contrôlent le développement et l'organisation de la face. Il s'agit de gènes non hox plus ou moins divergents des homéogènes initialement identifiés : les homéogènes de type Hox.

Les gènes Hox sont les gènes à homéoboîte qui contrôlent le développement du squelette axial et appendiculaire, la segmentation du corps selon l'axe antéro-postérieur. Cependant, ils ne sont pas exprimés au niveau de la face primitive [58].

Les gènes non hox sont Msx1 et 2, Mhox, Dlx1-6, Barx 1 et 2, Otx 2, GH6, les homologues bicoides tels que Gsc 1, Ptx 1 et Reig (appelés aussi Brx 1 et Otlx 2), les gènes « paired » tels que Pax, S8 et Uncx 41 [51, 68, 93, 117, 123, 140]. Ils sont dispersés dans le génome. Un grand nombre de ces gènes sont exprimés au sein du mésenchyme dérivé des crêtes neurales au niveau de la face primitive en développement. Ils définissent ainsi des régions spécifiques au niveau de la face. Le knock-out de ces gènes entraîne des défauts du développement facial qui témoignent de leur implication dans la croissance et la morphogénèse faciale. La morphogénèse faciale

semble déterminée par l'expression combinatoire de ces gènes.

3.1. Les gènes à homéoboîte

3.1.1. Les gènes *Msx* : *Msx1* et *Msx2* (Muscle Segment Homeobox)

Ils sont les homologues des gènes *Msh* (*Muscle Segment homeobox Gene*) chez la drosophile. Ils sont exprimés au niveau des cellules des crêtes neurales en migration et après migration ainsi qu'au niveau de nombreux organes. Ils sont particulièrement présents et actifs au niveau des sites où ont lieu des interactions épithélio-mésenchymateuses [42,64,65,74,105,121].

Msx1 et *Msx2* sont fortement exprimés au niveau des régions cranio-faciales en développement et souvent d'une manière concomitante et superposée. Cela semble leur conférer un rôle déterminant et redondant dans le développement cranio-facial.

3.1.1.1. *MSX1*

Voir l'article de B. Vi-Fane.

3.1.1.2. *MSX2*

MSX2 est un gène du développement précoce codant pour une protéine qui est un facteur de transcription *MSX2*.

Ce dernier va interagir, d'une part, avec l'ADN pour activer d'autres gènes et, d'autre part, avec d'autres protéines, facteurs de transcription elles aussi, pour les activer ou les inhiber [98,127].

Jabs, *et al.* [48] ont tenté de démontrer l'implication du gène *MSX2* dans la craniosynostose de Boston.

Les craniosynostoses sont des fusions prématurées des sutures cranio-faciales à l'origine de dysmorphies crâniennes. Elles concernent une naissance sur 3000 et surviennent dans toutes les ethnies. Quatre-vingt-dix syndromes présentent des craniosynostoses et plus de 50 ont une origine génétique. Souvent, les patients touchés présentent d'autres anomalies au niveau des oreilles, des membres ainsi que des malformations cardio-vasculaires. Des interventions chirurgicales sont requises dans de nombreux cas pour éviter les surpressions intracrâniennes et leurs conséquences sur le développement crânien et cérébral.

Ces syndromes sont le plus souvent monogéniques et à transmission autosomique dominant.

Jabs, *et al.* [48] ont prouvé, chez la souris, que *Msx2* s'exprimait au niveau des sutures crâniennes lors de la morphogenèse crânienne. Un signal était visible au niveau des bords des os de la calvaria dans la région des sutures sur des souris nouveau-nés.

MSX2 est situé sur le chromosome 5 entre les régions q34 et q35, près du locus responsable de la craniosynostose de Boston. Warman, *et al.* [132] et Müller, *et al.* [82] ont montré que cette craniosynostose se transmettait selon un mode autosomique dominant avec une forte pénétrance et une expressivité variable au niveau de la morphologie crânienne.

Les patients atteints de craniosynostose de Boston présentaient une mutation au niveau du nucléotide 64 de l'exon 2, en position 7 de l'homéodomaine : un A était remplacé par un C. Cela entraînait la traduction d'une proline (CCC) à la place d'une histidine (CAC) (mutation notée P148H). Il faut noter que l'histidine en position 7 de l'homéodomaine a été très conservée au cours de l'évolution depuis la drosophile jusqu'à l'homme en passant par la souris.

Liu, *et al.* [63] ont reproduit l'anomalie génétique de *Msx2* substituant une His à une Proline en position 7 (Pro7His). Ils obtiennent une craniosynostose par surexpression de cette forme mutée chez la souris transgénique.

Ainsi, chez l'homme et la souris, la mutation *Msx2* Pro7His est dominante et entraîne un gain de fonction. Cette mutation pourrait stabiliser la protéine *Msx2* entraînant sa surexpression ou une expression ectopique. Elle pourrait aussi augmenter son activité régulatrice ce qui serait à l'origine de la craniosynostose de Boston.

Par ailleurs, des mutations de *Msx2* peuvent être à l'origine d'une diminution de la capacité de liaison avec l'ADN.

L'inactivation de *Msx2* chez la souris entraîne un retard d'ossification du crâne notable dès le 18^e jour du développement embryonnaire. Les souris adultes *Msx2* *-/-* ont une atteinte crânienne avec présence d'un unique foramen médian sur l'os frontal. Il est décrit, en pathologie humaine, des déficits médians de l'os frontal (crâne bifide héréditaire) dans les familles de foramens pariétaux.

L'haplo-insuffisance fonctionnelle du gène à homéoboîte *MSX2*, c'est-à-dire l'annulation d'un seul des deux allèles de ce gène, entraîne des défauts

d'ossification crâniens. L'élargissement des foramina pariétaux (PFM) est un défaut d'ossification crânien à l'origine de la persistance de foramina pariétaux de part et d'autre de la suture sagittale jusqu'à l'âge adulte [141]. Normalement, ces foramina se ferment au 5^e mois de la vie foetale [20]. Les PFM sont généralement asymptomatiques mais peuvent être associés à des maux de tête, des défauts du cuir chevelu et à des malformations structurales ou vasculaires du cerveau. Le mode de transmission est souvent autosomique dominant. Wilkie, *et al.* [137] retrouvent une mutation du gène à homéoboîte *MSX2*, localisé en 5q 34-q35 chez trois familles avec des PFM.

Dans la première famille, il s'agit d'une délétion d'à peu près 206 kilo bases (kb) incluant l'intégralité du gène.

Pour les autres, ont été retrouvées des mutations intragéniques de l'homéodomaine qui pourraient être à l'origine d'une perte d'affinité entre la protéine et l'ADN.

La protéine *Msx2* murine avec une mutation au niveau de l'homéodomaine présentait une diminution de plus de 85 % de son affinité avec l'ADN.

Il s'agit du phénomène inverse qui se produit pour la mutation de *MSX2* que l'on retrouve dans la craniosynostose de Boston, qui augmente au contraire l'affinité de l'homéodomaine pour l'ADN.

Cela démontre que la concentration en *MSX2* est essentielle dans le développement du crâne humain et que l'élargissement des foramina pariétaux et les craniosynostoses sont dus respectivement à une perte et à un gain de fonction de *MSX2*.

MSX2 semble donc avoir une action régulatrice sur la chronologie de la fermeture des sutures.

Le double mutant *Msx1* et *Msx2* montre un phénotype facial plus sévère, avec une disparition presque complète des structures cranio-faciales et dentaires, suggérant une redondance de ces 2 gènes.

3.1.2. La famille *Dlx*

Elle présente six membres chez la souris [83, 118]. Ce sont des homologues de *Distal-less* de la drosophile, gène nécessaire à la formation de la partie distale des jambes, de la bouche et des antennes [17]. *Dlx 1* et *2* sont exprimés au niveau des domaines se superposant dans la mandibule primitive en développement [11, 26, 103, 106, 144].

Le knock-out de *Dlx1* affecte le développement des os palatins, des os ptérygoïdes et provoque des formations d'ossicules ectopiques [102].

Le knock-out de *Dlx2* affecte aussi le développement de ces deux os mais aussi celui des maxillaires, des os jugaux et du squamosal [102, 103].

Le knock-out de *Dlx5* entraîne une absence de formation du processus coronoïde de la mandibule [2].

Le double mutant *Dlx5* et *Dlx6* présente une transformation de la mandibule en maxillaire [22].

Le double mutant *Dlx1* et *Dlx2* ne présente pas d'autre structure squelettique atteinte. Cependant, chez ces doubles mutants, les molaires ne se forment pas ; ceci implique une redondance fonctionnelle entre *Dlx 1* et *Dlx 2* dans la formation de ces dents.

3.1.3. *Otx 2*

Otx 2 est exprimé au niveau des cellules des crêtes neurales du mésenchyme du premier arc et de la masse fronto-nasale chez la souris [5, 97]. Le mutant homozygote présente une absence complète de la partie rostrale de la tête présumée, ce qui montre que *Otx 2* est essentiel au développement de la tête [1].

3.1.4. Les homologues bicoïdes : *Gsc-1*, *Rieg* et *Mhox*

Il a été réalisé des knock-out de deux homologues bicoïdes *Goosecoid Gsc-1* et *Mhox*.

Ces gènes sont exprimés au niveau de la face primitive mais pas pendant les étapes précoces du développement facial. Ils semblent être importants lors des phases tardives du développement facial, en particulier dans le contrôle des interactions épithélio-mésenchymateuses.

Chez l'homme, le syndrome de Rieger, qui présente des déformations cranio-faciales moyennes, incluant des anomalies odontogéniques, est dû à la mutation d'un autre gène à homéoboîte bicoïde *Rieg*.

3.1.5. Les gènes *Paired*

Il s'agit d'une famille de gènes codant pour des facteurs de transcription avec un motif protéique conservé : la boîte *Paired* et, à part *Pax 1* et *9*, un homéodomaine au moins partiel [21]. La boîte *Paired* est un sous domaine de 128 acides aminés qui va permettre l'interaction avec l'ADN.

Au moins cinq membres de cette famille (Pax 1, 3, 6, 7 et 9) sont exprimés au niveau de la face primitive [25, 34, 35, 52, 67, 85, 86, 130].

À ce jour, quatre mutants Pax ont été générés.

Pax 3 et 7 sont exprimés au niveau de régions du tube neural du cerveau en développement.

La mutation de *Pax 1* (« undulated ») entraîne une diminution de la taille des structures faciales (maxillaire, mandibule, os prémaxillaire et os nasal) et une augmentation de l'angle entre les mâchoires supérieure et inférieure [25].

La souris homozygote mutante *Pax 3*, « sploch », n'a pas de défaut facial, vraisemblablement du fait d'une possible compensation par d'autres membres de cette famille qui sont exprimés dans les mêmes régions [78].

Hendersow, *et al.* [40] ont émis l'hypothèse que Pax 3 puisse agir sur le développement facial en modulant la migration des cellules des crêtes neurales. En effet, Pax 3 et une protéoglycane chondroïtine sulfate, le versican, ont des expressions complémentaires comme si Pax 3 inhibait l'expression du versican. Or, le versican inhibe la migration des cellules des crêtes neurales.

Le mutant *Pax 6*, appelé « small eye » (Sey) [41, 71] présente des anomalies au niveau des yeux, du nez et une barre de cartilage ectopique qui se substitue à la capsule nasale latérale [55, 96]. Ces défauts seraient liés à une anomalie de migration des crêtes neurales.

Le knock-out de *Pax 7* entraîne un développement anormal du septum et de la capsule nasale et l'os maxillaire a une taille réduite [67].

Chez l'homme, l'haplo-insuffisance de *PAX 6* entraîne une aniridie et une absence partielle ou complète de l'iris [84, 124].

L'haplo-insuffisance de *PAX 3* chez l'homme, due à une mutation non-sens ou une délétion, entraîne le syndrome de Waardenburg de type 1 qui touche principalement les dérivés des crêtes neurales. Il est caractérisé par une surdité et des anomalies cranio-faciales [122] telle une dystopie canthale (déplacement exagéré des angles internes des yeux).

Hoth, *et al.* [46] ont montré qu'une mutation remplaçant une asparagine par une histidine entraîne le syndrome de Waardenburg de type 3.

Une mutation de *PAX 9* aboutissant à un codon stop a été récemment rapportée dans une famille et se transmet sur un mode dominant. Elle

entraîne une forme d'hypodontie avec absence de la plupart des molaires définitives maxillaires et mandibulaires. Parfois, les incisives et les prémolaires sont également absentes.

3.2. Les autres facteurs de transcription

Ces facteurs ne présentent pas d'homéoboîte. Il s'agit de : Twist, AP-2, Ski et Glis.

3.2.1. Twist

Twist est un facteur de transcription contenant un motif hélice-boucle-hélice qui est exprimé au niveau du mésenchyme de la face de souris en développement avec un taux d'expression élevé dans le premier arc branchial [29, 31, 139].

Chez l'homme, le syndrome de Saethre-Chotzen est caractérisé par une fente palatine, une formation du septum nasal anormale, une hypoplasie du maxillaire et une craniosynostose. Il est dû à la mutation d'une copie du gène *TWIST* [27].

3.2.2. AP-2

AP-2 (Activating Protein 2) est exprimée au niveau des cellules des crêtes neurales. Le knock-out de sa fonction chez la souris entraîne une hypoplasie des structures squelettiques faciales et une exencéphalie [112, 113, 145].

3.2.3. Ski

Le knock-out de *Ski*, un proto-oncogène, présente le même phénotype que le knock out d'AP-2, c'est-à-dire une exencéphalie et des fentes faciales, mais seuls quelques os du crâne sont atteints [9].

3.2.4. Treacle

Treacle code pour une protéine nucléaire phosphorylée [138]. La mutation de ce gène semble être en cause dans le syndrome de Treacher-Collins. Celui-ci est caractérisé par une hypoplasie de certaines structures squelettiques dérivées du premier arc, une fente palatine et des anomalies des oreilles [32].

4. Conclusions

Comme nous l'avons vu, de nombreuses mutations associées à des dysmorphies chez l'homme ont été identifiées. La liste présentée dans cet article ne

sera plus exhaustive très rapidement tant les découvertes sont nombreuses et rapides. Mais aujourd'hui, pour de nombreuses pathologies, aucun gène n'a été encore mis en cause.

Le développement de la génétique et de la biologie moléculaire a obligé les cliniciens à revoir de nombreuses classifications de pathologies. En effet, certaines pathologies apparemment distinctes se sont révélées être dues à une même mutation mais avec une expression plus ou moins importante. Inversement, une même dysmorphie, comme par exemple une fente labio-alvéolaire, peut être due à une multitude de mutations pouvant atteindre un nombre important de gènes.

Il est intéressant de connaître les gènes impliqués dans la croissance cranio-faciale, mais cette connaissance doit être complétée par celle des interactions existant entre ces différents gènes. Développement, croissance et morphogénèse sont le résultat de cascades de signalisation entre différents gènes. Ainsi, une même dysmorphose peut être due à l'anomalie d'un gène situé très en amont ou plutôt en aval au sein d'une même cascade de signalisation.

Nous avons délibérément écarté cette partie de nos propos parce que, bien que plusieurs interactions inter-géniques aient été bien décrites, leur interprétation est complexe et leurs implications cliniques sont encore inconnues.

Les recherches actuelles portent essentiellement sur :

- l'influence des différents gènes impliqués sur la morphogénèse via l'utilisation de souris knock-out,
- les territoires d'expression de ces différents gènes,
- l'interaction des différents gènes lors de l'édification cranio-faciale,
- les thérapies géniques.

Bibliographie

- [1] Acampora D, Mazan S, Lallemand Y, Avantaggiato V, Maury M, Simeone A, *et al.* Forebrain and midbrain regions are deleted in *Otx2*^{-/-} mutants due to a defective anterior neuroectoderm specification during gastrulation. *Development* 1995;121(10):3279–3290.
- [2] Acampora D, Merlo GR, Paleari L, Zerega B, Postiglione MP, Mantero S, *et al.* Craniofacial, vestibular and bone defects in mice lacking the Distal-less-related gene *Dlx5*. *Development* 1999;126(17):3795–3809.
- [3] Alagille D, Estrada A, Hadchouel M, Gautier M, Odievre M, Dommergues JP. Syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome or arteriohepatic dysplasia): review of 80 cases. *J Pediatr* 1987;110(2):195–200.
- [4] Alagille D, Odievre M, Gautier M, Dommergues JP. Hepatic ductular hypoplasia associated with characteristic facies, vertebral malformations, retarded physical, mental, and sexual development, and cardiac murmur. *J Pediatr* 1975;86(1):63–71.
- [5] Ang SL, Conlon RA, Jin O, Rossant J. Positive and negative signals from mesoderm regulate the expression of mouse *Otx2* in ectoderm explants. *Development* 1994;120(10):2979–2989.
- [6] Barlow AJ, Francis-West PH. Ectopic application of recombinant BMP-2 and BMP-4 can change patterning of developing chick facial primordia. *Development* 1997;124(2):391–398.
- [7] Barni T, Maggi M, Fantoni G, Serio M, Tollaro I, Gloria L, *et al.* Identification and localization of endothelin-1 and its receptors in human fetal jaws. *Dev Biol* 1995;169(1):373–377.
- [8] Belloni E, Muenke M, Roessler E, Traverso G, Siegel-Bartelt J, Frumkin A, *et al.* Identification of Sonic hedgehog as a candidate gene responsible for holoprosencephaly. *Nat Genet* 1996;14(3):353–356.
- [9] Berk M, Desai SY, Heyman HC, Colmenares C. Mice lacking the *ski* proto-oncogene have defects in neurulation, craniofacial, patterning, and skeletal muscle development. *Genes Dev* 1997;11(16):2029–2039.
- [10] Bradley RS, Brown AM. A soluble form of Wnt-1 protein with mitogenic activity on mammary epithelial cells. *Mol Cell Biol* 1995;15(8):4616–4622.
- [11] Bulfone A, Kim HJ, Puelles L, Porteus MH, Grippo JF, Rubenstein JL. The mouse *Dlx-2* (*Tes-1*) gene is expressed in spatially restricted domains of the forebrain, face and limbs in midgestation mouse embryos. *Mech Dev* 1993;40(3):129–140.
- [12] Chiang C, Litingtung Y, Lee E, Young KE, Corden JL, Westphal H, *et al.* Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function. *Nature* 1996;383(6599):407–413.
- [13] Christiansen JH, Dennis CL, Wicking CA, Monkley SJ, Wilkinson DG, Wainwright BJ. Murine Wnt-11 and Wnt-12 have temporally and spatially restricted expression patterns during embryonic development. *Mech Dev* 1995;51(2-3):341–350.
- [14] Clouthier DE, Hosoda K, Richardson JA, Williams SC, Yanagisawa H, Kuwaki T, *et al.* Cranial and cardiac neural crest defects in endothelin-A receptor-deficient mice. *Development* 1998;125(5):813–824.
- [15] Coffin-Collins PA, Hall BK. Chondrogenesis of mandibular mesenchyme from the embryonic chick is inhibited by mandibular epithelium and by epidermal growth factor. *Int J Dev Biol* 1989;33(2):297–311.
- [16] Cohen MM Jr, Kreiborg S. A clinical study of the craniofacial features in Apert syndrome. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1996;25(1):45–53.
- [17] Cohen SM, Bronner G, Kuttner F, Jurgens G, Jackle H. Distal-less encodes a homeodomain protein required for limb development in *Drosophila*. *Nature* 1989;338(6214):432–434.
- [18] Couly GF, Le Douarin NM. Mapping of the early neural primordium in quail-chick chimeras. I. Developmental relationships between placodes, facial ectoderm, and prosencephalon. *Dev Biol* 1985;110(2):422–439.

- [19] Couly GF, Le Douarin NM. Mapping of the early neural primordium in quail-chick chimeras. II. The prosencephalic neural plate and neural folds: implications for the genesis of cephalic human congenital abnormalities. *Dev Biol* 1987;120(1):198–214.
- [20] Currarino G. Normal variants and congenital anomalies in the region of the obelion. *Am J Roentgenol* 1976;127:487–494.
- [21] Dahl E, Koseki H, Balling R. Pax genes and organogenesis. *Bioessays* 1997;19(9):755–765.
- [22] Depew MJ, Lufkin T, Rubenstein JL. Specification of jaw subdivisions by Dlx genes. *Science* 2002;298(5592):381–385.
- [23] Dewulf N, Verschuere K, Lonnoy O, Moren A, Grimsby S, Vande Spiegle K, *et al.* Distinct spatial and temporal expression patterns of two type I receptors for bone morphogenetic proteins during mouse embryogenesis. *Endocrinology* 1995;136(6):2652–2663.
- [24] Dickinson ME, Krumlauf R, McMahon AP. Evidence for a mitogenic effect of Wnt-1 in the developing mammalian central nervous system. *Development* 1994;120(6):1453–1471.
- [25] Dietrich S, Gruss P. Undulated phenotypes suggest a role of Pax-1 for the development of vertebral and extraxial structures. *Dev Biol* 1995;167(2):529–548.
- [26] Dolle P, Price M, Duboule D. Expression of the murine Dlx-1 homeobox gene during facial, ocular and limb development. *Differentiation* 1992;49(2):93–99.
- [27] El Ghouzzi V, Le Merrer M, Perrin-Schmitt F, Lajeunie E, Benit P, Renier D, *et al.* Mutations of the TWIST gene in the Saethre-Chotzen syndrome. *Nat Genet* 1997;15(1):42–46.
- [28] Feijen A, Goumans MJ, van den Eijnden-van Raaij AJ. Expression of activin subunits, activin receptors and follistatin in postimplantation mouse embryos suggests specific developmental functions for different activins. *Development* 1994;120(12):3621–3637.
- [29] Fuchtbauer EM. Expression of M-twist during postimplantation development of the mouse. *Dev Dyn* 1995;204(3):316–322.
- [30] Gavin BJ, McMahon JA, McMahon AP. Expression of multiple novel Wnt-1/int-1-related genes during fetal and adult mouse development. *Genes Dev* 1990;4(12B):2319–2332.
- [31] Gitelman I. Twist protein in mouse embryogenesis. *Dev Biol* 1997;189(2):205–214.
- [32] Gladwin AJ, Dixon J, Loftus SK, Edwards S, Wasmuth JJ, Hennekam RC, *et al.* Treacher Collins syndrome may result from insertions, deletions or splicing mutations, which introduce a termination codon into the gene. *Hum Mol Genet* 1996;5(10):1533–1538.
- [33] Goodrich LV, Johnson RL, Milenkovic L, McMahon JA, Scott MP. Conservation of the hedgehog/patched signaling pathway from flies to mice: induction of a mouse patched gene by Hedgehog. *Genes Dev* 1996;10(3):301–312.
- [34] Goulding MD, Chalepakis G, Deutsch U, Erselius JR, Gruss P. Pax-3, a novel murine DNA binding protein expressed during early neurogenesis. *Embo J* 1991;10(5):1135–1147.
- [35] Grindley JC, Davidson DR, Hill RE. The role of Pax-6 in eye and nasal development. *Development* 1995;121(5):1433–1442.
- [36] Hahn H, Christiansen J, Wicking C, Zaphiropoulos PG, Chidambaram A, Gerrard B, *et al.* A mammalian patched homolog is expressed in target tissues of sonic hedgehog and maps to a region associated with developmental abnormalities. *J Biol Chem* 1996;271(21):12125–12128.
- [37] Hahn H, Wicking C, Zaphiropoulos PG, Gailani MR, Shanley S, Chidambaram A, *et al.* Mutations of the human homolog of *Drosophila* patched in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Cell* 1996;85(6):841–851.
- [38] Hammerschmidt M, Brook A, McMahon AP. The world according to hedgehog. *Trends Genet* 1997;13(1):14–21.
- [39] Helms JA, Kim CH, Hu D, Minkoff R, Thaller C, Eichele G. Sonic hedgehog participates in craniofacial morphogenesis and is down-regulated by teratogenic doses of retinoic acid. *Dev Biol* 1997;187(1):25–35.
- [40] Henderson DJ, Ybot-Gonzalez P, Copp AJ. Overexpression of the chondroitin sulphate proteoglycan versican is associated with defective neural crest migration in the Pax3 mutant mouse (*splotch*). *Mech Dev* 1997;69(1-2):39–51.
- [41] Hill RE, Favor J, Hogan BL, Ton CC, Saunders GF, Hanson IM, *et al.* Mouse small eye results from mutations in a paired-like homeobox-containing gene. *Nature* 1991;354(6354):522–525.
- [42] Hill RE, Jones PF, Rees AR, Sime CM, Justice MJ, Copeland NG, *et al.* A new family of mouse homeobox-containing genes: molecular structure, chromosomal location, and developmental expression of Hox-7.1. *Genes Dev* 1989;3(1):26–37.
- [43] Hinck L, Nelson WJ, Papkoff J. Wnt-1 modulates cell-cell adhesion in mammalian cells by stabilizing beta-catenin binding to the cell adhesion protein cadherin. *J Cell Biol* 1994;124(5):729–741.
- [44] Hogan BL. Bone morphogenetic proteins: multifunctional regulators of vertebrate development. *Genes Dev* 1996;10(13):1580–1594.
- [45] Hollyday M, McMahon JA, McMahon AP. Wnt expression patterns in chick embryo nervous system. *Mech Dev* 1995;52(1):9–25.
- [46] Hoth CF, Milunsky A, Lipsky N, Sheffer R, Clarren SK, Baldwin CT. Mutations in the paired domain of the human PAX3 gene cause Klein-Waardenburg syndrome (WS-III) as well as Waardenburg syndrome type I (WS-I). *Am J Hum Genet* 1993;52(3):455–462.
- [47] Jabs EW, Li X, Scott AF, Meyers G, Chen W, Eccles M, *et al.* Jackson-Weiss and Crouzon syndromes are allelic with mutations in fibroblast growth factor receptor 2. *Nat Genet* 1994;8(3):275–279.
- [48] Jabs EW, Muller U, Li X, Ma L, Luo W, Haworth IS, *et al.* A mutation in the homeodomain of the human MSX2 gene in a family affected with autosomal dominant craniosynostosis. *Cell* 1993;75(3):443–450.
- [49] Jiang R, Lan Y, Chapman HD, Shawber C, Norton CR, Serreze DV, *et al.* Defects in limb, craniofacial, and thymic development in Jagged2 mutant mice. *Genes Dev* 1998;12(7):1046–1057.
- [50] Johnson RL, Tabin CJ. Molecular models for vertebrate limb development. *Cell* 1997;90(6):979–990.
- [51] Jones FS, Kioussi C, Copertino DW, Kallunki P, Holst BD, Edelman GM. Barx2, a new homeobox gene of the Bar class, is expressed in neural and craniofacial structures during development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(6):2632–2637.

- [52] Jostes B, Walther C, Gruss P. The murine paired box gene, Pax7, is expressed specifically during the development of the nervous and muscular system. *Mech Dev* 1990;33(1):27–37.
- [53] Kaartinen V, Voncken JW, Shuler C, Warburton D, Bu D, Heisterkamp N, *et al.* Abnormal lung development and cleft palate in mice lacking TGF-beta 3 indicates defects of epithelial-mesenchymal interaction. *Nat Genet* 1995;11(4):415–421.
- [54] Kang S, Graham JM Jr, Olney AH, Biesecker LG. GLI3 frameshift mutations cause autosomal dominant Pallister-Hall syndrome. *Nat Genet* 1997;15(3):266–268.
- [55] Kaufman MH, Chang HH, Shaw JP. Craniofacial abnormalities in homozygous Small eye (*Sey/Sey*) embryos and newborn mice. *J Anat* 1995;186:607–617.
- [56] Kingsley DM. The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev* 1994;8(2):133–146.
- [57] Kronmiller JE, Upholt WB, Kollar EJ. Expression of epidermal growth factor mRNA in the developing mouse mandibular process. *Arch Oral Biol* 1991;36(6):405–410.
- [58] Krumlauf R. Hox genes in vertebrate development. *Cell* 1994;78(2):191–201.
- [59] Kurihara Y, Kurihara H, Suzuki H, Kodama T, Maemura K, Nagai R, *et al.* Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin-1. *Nature* 1994;368(6473):703–710.
- [60] Lahav R, Ziller C, Dupin E, Le Douarin NM. Endothelin 3 promotes neural crest cell proliferation and mediates a vast increase in melanocyte number in culture. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(9):3892–3897.
- [61] Lee DC, Rochford R, Todaro GJ, Villarreal LP. Developmental expression of rat transforming growth factor-alpha mRNA. *Mol Cell Biol* 1985;5(12):3644–3646.
- [62] Li L, Krantz ID, Deng Y, Genin A, Banta AB, Collins CC, *et al.* Alagille syndrome is caused by mutations in human Jagged1, which encodes a ligand for Notch1. *Nat Genet* 1997;16(3):243–251.
- [63] Liu YH, Kundu R, Wu L, Luo W, Ignelzi MA Jr, Snead ML, *et al.* Premature suture closure and ectopic cranial bone in mice expressing Msx2 transgenes in the developing skull. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92(13):6137–6141.
- [64] MacKenzie A, Ferguson MW, Sharpe PT. Hox-7 expression during murine craniofacial development. *Development* 1991;113(2):601–611.
- [65] Mackenzie A, Leeming GL, Jowett AK, Ferguson MW, Sharpe PT. 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* 1991;111(2):269–285.
- [66] Maemura K, Kurihara H, Kurihara Y, Oda H, Ishikawa T, Copeland NG, *et al.* Sequence analysis, chromosomal location, and developmental expression of the mouse preproendothelin-1 gene. *Genomics* 1996;31(2):177–184.
- [67] Mansouri A, Stoykova A, Torres M, Gruss P. Dysgenesis of cephalic neural crest derivatives in Pax7^{-/-} mutant mice. *Development* 1996;122(3):831–838.
- [68] Mansouri A, Yokota Y, Wehr R, Copeland NG, Jenkins NA, Gruss P. Paired-related murine homeobox gene expressed in the developing sclerotome, kidney, and nervous system. *Dev Dyn* 1997;210(1):53–65.
- [69] Marti E, Takada R, Bumcrot DA, Sasaki H, McMahon AP. Distribution of Sonic hedgehog peptides in the developing chick and mouse embryo. *Development* 1995;121(8):2537–2547.
- [70] Matsui Y, Zsebo KM, Hogan BL. Embryonic expression of a haematopoietic growth factor encoded by the Sl locus and the ligand for c-kit. *Nature* 1990;347(6294):667–669.
- [71] Matsuo T, Osumi-Yamashita N, Noji S, Ohuchi H, Koyama E, Myokai F, *et al.* A mutation in the Pax-6 gene in rat small eye is associated with impaired migration of midbrain crest cells. *Nat Genet* 1993;3(4):299–304.
- [72] Matzuk MM, Kumar TR, Vassalli A, Bickenbach JR, Roop DR, Jaenisch R, *et al.* Functional analysis of activins during mammalian development. *Nature* 1995;374(6520):354–356.
- [73] Meyers GA, Orlow SJ, Munro IR, Przylepa KA, Jabs EW. Fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) transmembrane mutation in Crouzon syndrome with acanthosis nigricans. *Nat Genet* 1995;11(4):462–464.
- [74] Mina M, Gluhak J, Upholt WB, Kollar EJ, Rogers B. Experimental analysis of Msx-1 and Msx-2 gene expression during chick mandibular morphogenesis. *Dev Dyn* 1995;202(2):195–214.
- [75] Mitsiadis TA, Henrique D, Thesleff I, Lendahl U. Mouse Serrate-1 (Jagged-1): expression in the developing tooth is regulated by epithelial-mesenchymal interactions and fibroblast growth factor-4. *Development* 1997;124(8):1473–1483.
- [76] Mo R, Freer AM, Zinyk DL, Crackower MA, Michaud J, Heng HH, *et al.* Specific and redundant functions of Gli2 and Gli3 zinc finger genes in skeletal patterning and development. *Development* 1997;124(1):113–123.
- [77] Moon RT, DeMarais A, Olson DJ. Responses to Wnt signals in vertebrate embryos may involve changes in cell adhesion and cell movement. *J Cell Sci Suppl* 1993;17:183–188.
- [78] Morell R, Friedman TB, Moeljopawiro S, Hartono, Soewito, Asher JH Jr. A frameshift mutation in the HuP2 paired domain of the probable human homolog of murine Pax-3 is responsible for Waardenburg syndrome type 1 in an Indonesian family. *Hum Mol Genet* 1992;1(4):243–247.
- [79] Morrison-Graham K, Schatteman GC, Bork T, Bowen-Pope DF, Weston JA. A PDGF receptor mutation in the mouse (Patch) perturbs the development of a non-neuronal subset of neural crest-derived cells. *Development* 1992;115(1):133–142.
- [80] Moses HL, Serra R. Regulation of differentiation by TGF-beta. *Curr Opin Genet Dev* 1996;6(5):581–586.
- [81] Muenke M, Schell U. Fibroblast-growth-factor receptor mutations in human skeletal disorders. *Trends Genet* 1995;11(8):308–313.
- [82] Müller U, Warman ML, Mulliken JB, Weber JL. Assignment of a gene locus involved in craniosynostosis to chromosome 5qter. *Hum Mol Genet* 1993;2(2):119–122.
- [83] Nakamura S, Stock DW, Wydner KL, Bollekens JA, Takeshita K, Nagai BM, *et al.* Genomic analysis of a new mammalian distal-less gene: Dlx7. *Genomics* 1996;38(3):314–324.

- [84] Nelson LB, Spaeth GL, Nowinski TS, Margo CE, Jackson L. Aniridia. A review. *Surv Ophthalmol* 1984;28(6):621-642.
- [85] Neubuser A, Koseki H, Balling R. Characterization and developmental expression of Pax9, a paired-box-containing gene related to Pax1. *Dev Biol* 1995;170(2):701-716.
- [86] Neubuser A, Peters H, Balling R, Martin GR. Antagonistic interactions between FGF and BMP signaling pathways: a mechanism for positioning the sites of tooth formation. *Cell* 1997;90(2):247-255.
- [87] Noden DM. The control of avian cephalic neural crest cytodifferentiation. I. Skeletal and connective tissues. *Dev Biol* 1978;67(2):296-312.
- [88] Noden DM. The control of avian cephalic neural crest cytodifferentiation. II. Neural tissues. *Dev Biol* 1978;67(2):313-329.
- [89] Noden DM. The embryonic origins of avian cephalic and cervical muscles and associated connective tissues. *Am J Anat* 1983;168(3):257-276.
- [90] Noden DM. Interactions and fates of avian craniofacial mesenchyme. *Development* 1988;103 Suppl:121-140.
- [91] Oda T, Elkahlon AG, Pike BL, Okajima K, Krantz ID, Genin A, *et al.* Mutations in the human Jagged1 gene are responsible for Alagille syndrome. *Nat Genet* 1997;16(3):235-242.
- [92] Opitz JM, Gilbert EF. CNS anomalies and the midline as a « developmental field ». *Am J Med Genet* 1982;12(4):443-455.
- [93] Opstelten DJ, Vogels R, Robert B, Kalkhoven E, Zwartkruis F, de Laaf L, *et al.* The mouse homeobox gene, S8, is expressed during embryogenesis predominantly in mesenchyme. *Mech Dev* 1991;34(1):29-41.
- [94] Orr-Urtreger A, Avivi A, Zimmer Y, Givol D, Yarden Y, Lonai P. Developmental expression of c-kit, a proto-oncogene encoded by the W locus. *Development* 1990;109(4):911-923.
- [95] Orr-Urtreger A, Lonai P. Platelet-derived growth factor-A and its receptor are expressed in separate, but adjacent cell layers of the mouse embryo. *Development* 1992;115(4):1045-1058.
- [96] Osumi-Yamashita N, Kuratani S, Ninomiya Y, Aoki K, Iseki S, Chareonvit S, *et al.* Cranial anomaly of homozygous rSey rat is associated with a defect in the migration pathway of midbrain crest cells. *Dev Growth Differ* 1997;39(1):53-67.
- [97] Osumi-Yamashita N, Ninomiya Y, Doi H, Eto K. The contribution of both forebrain and midbrain crest cells to the mesenchyme in the frontonasal mass of mouse embryos. *Dev Biol* 1994;164(2):409-419.
- [98] Pabo CO, Sauer RT. Transcription factors: structural families and principles of DNA recognition. *Annu Rev Biochem* 1992;61:1053-1095.
- [99] Parr BA, Shea MJ, Vassileva G, McMahon AP. Mouse Wnt genes exhibit discrete domains of expression in the early embryonic CNS and limb buds. *Development* 1993;119(1):247-261.
- [100] Platt KA, Michaud J, Joyner AL. 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* 1997;62(2):121-135.
- [101] Proetzel G, Pawlowski SA, Wiles MV, Yin M, Boivin GP, Howles PN, *et al.* Transforming growth factor-beta 3 is required for secondary palate fusion. *Nat Genet* 1995;11(4):409-414.
- [102] Qiu M, Bulfone A, Ghattas I, Meneses JJ, Christensen L, Sharpe PT, *et al.* 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* 1997;185(2):165-184.
- [103] Qiu M, Bulfone A, Martinez S, Meneses JJ, Shimamura K, Pedersen RA, *et al.* Null mutation of Dlx-2 results in abnormal morphogenesis of proximal first and second branchial arch derivatives and abnormal differentiation in the forebrain. *Genes Dev* 1995;9(20):2523-2538.
- [104] Reardon W, Winter RM, Rutland P, Pulley LJ, Jones BM, Malcolm S. Mutations in the fibroblast growth factor receptor 2 gene cause Crouzon syndrome. *Nat Genet* 1994;8(1):98-103.
- [105] Roberts VJ, Barth SL. Expression of messenger ribonucleic acids encoding the inhibin/activin system during mid- and late-gestation rat embryogenesis. *Endocrinology* 1994;134(2):914-923.
- [106] Robinson GW, Mahon KA. Differential and overlapping expression domains of Dlx-2 and Dlx-3 suggest distinct roles for Distal-less homeobox genes in craniofacial development. *Mech Dev* 1994;48(3):199-215.
- [107] Roelen BA, van Rooijen MA, Mummery CL. Expression of ALK-1, a type 1 serine/threonine kinase receptor, coincides with sites of vasculogenesis and angiogenesis in early mouse development. *Dev Dyn* 1997;209(4):418-430.
- [108] Roessler E, Belloni E, Gaudenz K, Jay P, Berta P, Scherer SW, *et al.* Mutations in the human Sonic Hedgehog gene cause holoprosencephaly. *Nat Genet* 1996;14(3):357-360.
- [109] Ruppert JM, Kinzler KW, Wong AJ, Bigner SH, Kao FT, Law ML, *et al.* The GLI-Kruppel family of human genes. *Mol Cell Biol* 1988;8(8):3104-3113.
- [110] Sanford LP, Ormsby I, Gittenberger-de Groot AC, Sariola H, Friedman R, Boivin GP, *et al.* TGFbeta2 knockout mice have multiple developmental defects that are non-overlapping with other TGFbeta knockout phenotypes. *Development* 1997;124(13):2659-2670.
- [111] Schatteman GC, Morrison-Graham K, van Koppen A, Weston JA, Bowen-Pope DE. Regulation and role of PDGF receptor alpha-subunit expression during embryogenesis. *Development* 1992;115(1):123-131.
- [112] Schorle H, Meier P, Buchert M, Jaenisch R, Mitchell PJ. Transcription factor AP-2 essential for cranial closure and craniofacial development. *Nature* 1996;381(6579):235-238.
- [113] Shen H, Wilke T, Ashique AM, Narvey M, Zerucha T, Savino E, *et al.* Chicken transcription factor AP-2: cloning, expression and its role in outgrowth of facial prominences and limb buds. *Dev Biol* 1997;188(2):248-266.
- [114] Shum L, Sakakura Y, Bringas P Jr., Luo W, Snead ML, Mayo M, *et al.* EGF abrogation-induced fusilli-form dysmorphogenesis of Meckel's cartilage during embryonic

- mouse mandibular morphogenesis *in vitro*. *Development* 1993;118(3):903–917.
- [115] Sidow A, Bulotsky MS, Kerrebrock AW, Bronson RT, Daly MJ, Reeve MP, *et al*. *Serrate2* is disrupted in the mouse limb-development mutant syndactylism. *Nature* 1997;389(6652):722–725.
- [116] Soriano P. The PDGF alpha receptor is required for neural crest cell development and for normal patterning of the somites. *Development* 1997;124(14):2691–2700.
- [117] Stadler HS, Solursh M. Characterization of the homeobox-containing gene *GH6* identifies novel regions of homeobox gene expression in the developing chick embryo. *Dev Biol* 1994;161(1):251–262.
- [118] Stock DW, Ellies DL, Zhao Z, Ekker M, Ruddle FH, Weiss KM. The evolution of the vertebrate *Dlx* gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(20):10858–1063.
- [119] Stone JG, Spirling LI, Richardson MK. The neural crest population responding to endothelin-3 *in vitro* includes multipotent cells. *J Cell Sci* 1997;110 (Pt 14):1673–1682.
- [120] Sun D, Vanderburg CR, Odierna GS, Hay, E.D. *TGFb3* promotes transformation of chicken palate medial edge epithelium to mesenchyme *in vitro*. *Development* 1998;125:95–105.
- [121] Suzuki HR, Padanilam BJ, Vitale E, Ramirez F, Solursh M. Repeating developmental expression of *G-Hox 7*, a novel homeobox-containing gene in the chicken. *Dev Biol* 1991;148(1):375–388.
- [122] Tassabehji M, Read AP, Newton VE, Harris R, Balling R, Gruss P, *et al*. Waardenburg's syndrome patients have mutations in the human homologue of the *Pax-3* paired box gene. *Nature* 1992;355(6361):635–636.
- [123] Tissier-Seta JP, Mucchielli ML, Mark M, Mattei MG, Goridis C, Brunet JF. *Barx1*, a new mouse homeodomain transcription factor expressed in cranio-facial ectomesenchyme and the stomach. *Mech Dev* 1995;51(1):3–15.
- [124] Ton CC, Hirvonen H, Miwa H, Weil MM, Monaghan P, Jordan T, *et al*. Positional cloning and characterization of a paired box- and homeobox-containing gene from the aniridia region. *Cell* 1991;67(6):1059–1074.
- [125] Tsukamoto AS, Grosschedl R, Guzman RC, Parslow T, Varmus HE. Expression of the *int-1* gene in transgenic mice is associated with mammary gland hyperplasia and adenocarcinomas in male and female mice. *Cell* 1988;55(4):619–625.
- [126] Valsecchi C, Ghezzi C, Ballabio A, Rugarli EI. *JAGGED2*: a putative Notch ligand expressed in the apical ectodermal ridge and in sites of epithelial-mesenchymal interactions. *Mech Dev* 1997;69(1-2):203–207.
- [127] Vershon AK, Johnson AD. A short, disordered protein region mediates interactions between the homeodomain of the yeast $\alpha 2$ protein and the *MCM1* protein. *Cell* 1993;72(1):105–112.
- [128] Vortkamp A, Gessler M, Grzeschik KH. *GLI3* zinc-finger gene interrupted by translocations in Greig syndrome families. *Nature* 1991;352(6335):539–540.
- [129] Wall NA, Hogan BL. Expression of bone morphogenetic protein-4 (*BMP-4*), bone morphogenetic protein-7 (*BMP-7*), fibroblast growth factor-8 (*FGF-8*) and sonic hedgehog (*SHH*) during branchial arch development in the chick. *Mech Dev* 1995;53(3):383–392.
- [130] Walther C, Gruss P. *Pax-6*, a murine paired box gene, is expressed in the developing CNS. *Development* 1991;113(4):1435–1449.
- [131] Wang J, Shackleford GM. Murine *Wnt10a* and *Wnt10b*: cloning and expression in developing limbs, face and skin of embryos and in adults. *Oncogene* 1996;13(7):1537–1544.
- [132] Warman ML, Mulliken JB, Hayward PG, Muller U. Newly recognized autosomal dominant disorder with craniosynostosis. *Am J Med Genet* 1993;46(4):444–449.
- [133] Wedden SE. Epithelial-mesenchymal interactions in the development of chick facial primordia and the target of retinoid action. *Development* 1987;99(3):341–351.
- [134] Wilcox JN, Derynck R. Developmental expression of transforming growth factors alpha and beta in mouse fetus. *Mol Cell Biol* 1988;8(8):3415–3422.
- [135] Wilkie AO. Craniosynostosis: genes and mechanisms. *Hum Mol Genet* 1997;6(10):1647–1656.
- [136] Wilkie AO, Morriss-Kay GM, Jones EY, Heath JK. Functions of fibroblast growth factors and their receptors. *Curr Biol* 1995;5(5):500–507.
- [137] Wilkie AO, Tang Z, Elanko N, Walsh S, Twigg SR, Hurst JA, *et al*. Functional haploinsufficiency of the human homeobox gene *MSX2* causes defects in skull ossification. *Nat Genet* 2000;24(4):387–390.
- [138] Wise CA, Chiang LC, Paznekas WA, Sharma M, Musy MM, Ashley JA, *et al*. *TCOF1* gene encodes a putative nucleolar phosphoprotein that exhibits mutations in Treacher Collins Syndrome throughout its coding region. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(7):3110–3115.
- [139] Wolf C, Thisse C, Stoetzel C, Thisse B, Gerlinger P, Perrin-Schmitt F. The *M-twist* gene of *Mus* is expressed in subsets of mesodermal cells and is closely related to the *Xenopus X-twi* and the *Drosophila twist* genes. *Dev Biol* 1991;143(2):363–373.
- [140] Wu L, Wu H, Ma L, Sangiorgi F, Wu N, Bell JR, *et al*. *Miz1*, a novel zinc finger transcription factor that interacts with *Msx2* and enhances its affinity for DNA. *Mech Dev* 1997;65(1-2):3–17.
- [141] Wuyts W, Reardon W, Preis S, Homfray T, Rasore-Quartino A, Christians H, *et al*. Identification of mutations in the *MSX2* homeobox gene in families affected with foramina parietalia permagna. *Hum Mol Genet* 2000;9(8):1251–1255.
- [142] Yamaguchi TP, Rossant J. Fibroblast growth factors in mammalian development. *Curr Opin Genet Dev* 1995;5(4):485–491.
- [143] Yanagisawa H, Yanagisawa M, Kapur RP, Richardson JA, Williams SC, Clouthier DE, *et al*. Dual genetic pathways of endothelin-mediated intercellular signaling revealed by targeted disruption of endothelin converting enzyme-1 gene. *Development* 1998;125(5):825–836.
- [144] Zhang H, Hu G, Wang H, Sciacvolino P, Iler N, Shen MM, *et al*. Heterodimerization of *Msx* and *Dlx* homeoproteins results in functional antagonism. *Mol Cell Biol* 1997;17(5):2920–2932.
- [145] Zhang J, Hagopian-Donaldson S, Serbedzija G, Elsemore J, Plehn-Dujowich D, McMahon AP, *et al*. Neural tube, skeletal and body wall defects in mice lacking transcription factor *AP-2*. *Nature* 1996;381(6579):238–241.