

ヒト顎下腺の成長発育に伴うBMPと BMPレセプターの局在

安部 仁 晴¹ 中川 敏 浩¹ 高橋 進 也² 渡 邊 弘 樹¹

Immunohistochemical Localization of BMP and BMP Receptors in Developing Human Submandibular Gland

Kimiharu AMBE¹, Toshihiro NAKAGAWA¹, Shinya TAKAHASHI² and Hiroki WATANABE¹

Recently it has become evident that Bone morphogenetic proteins (BMPs) are multifunctional cytokines that regulate the proliferation and differentiation of various types of cells and play certain roles in organogenesis and apoptosis, though they were first identified as active components within osteoinductive extracts derived from bone. We immunohistochemically investigated the expression and cellular localization of BMPs and BMP receptors (BMPRs) in human submandibular gland in order to clarify the role of BMPs in the morphogenesis of salivary gland.

In the 16th fetal week, immunoreactivity of BMP-2 and BMP-3 was detected on many cells in terminal buds and primary ducts. Immunoreactivity of BMP-2 was localized to terminal buds and acinar cells after the 22nd week. There was no BMP-3 immunoreactivity at acini, but it was observed at ductal cells in the 26th week. Immunoreactivity of BMP-4 was localized to part of terminal buds and primary ducts in the 16th week. The number of anti-BMP-4 positive cells decreased with the development of the fetus, and they were not observed in the 26th week. BMPR-IA and BMPR-II were expressed in terminal buds and primary ducts in the 16th week. Although BMPR-IA positive cells disappeared in the 26th week, BMPR-II positive cells were still observed in the ductal system.

These findings suggest that BMP-2, BMP-3 and BMPR-II may be related to the proliferation of submandibular gland cells, whereas BMP-2, BMP-4 and BMPR-IA may have an important role in the differentiation of acinar cells and ductal cells.

Key words : BMP, BMP receptor, human, submandibular gland, immunohistochemistry

受付：平成23年12月28日，受理：平成24年2月7日
奥羽大学歯学部生体構造学講座口腔組織学分野¹
奥羽大学大学院歯学研究科顎口腔外科学専攻²

Division of Oral Histology, Department of
Morphological Biology, Ohu University School of
Dentistry¹
Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Ohu
University Graduate School of Dentistry²

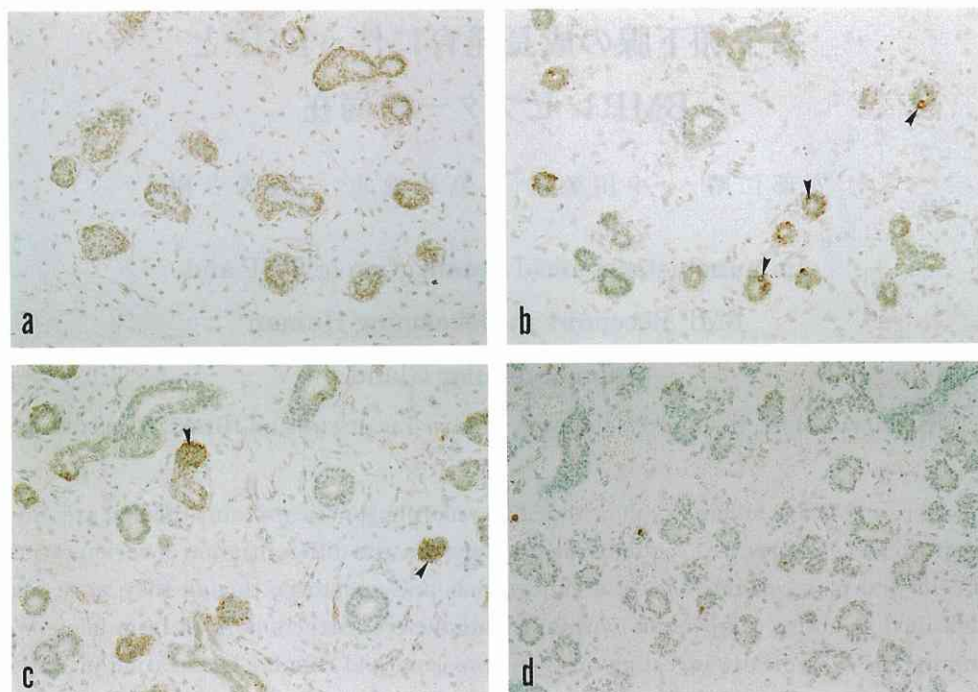


図1 各胎齢におけるBMP-2の局在

- a: 胎生16週齢におけるBMP-2の局在は、細胞集団と導管様構造物を構成する多くの細胞に陽性反応がみられる。×100
 b: 胎生20週齢では細胞集団と導管様構造物の一部の細胞(矢頭)に限局して観察される。×100
 c: 胎生22週齢ではBMP-2陽性細胞(矢頭)が減少している。×100
 d: 胎生26週齢では陽性細胞はほとんど観察されない。×100

緒 言

Bone Morphogenetic Protein(BMP)は、単に骨形成を誘導するだけではなく、種々の細胞の増殖や分化^{1,2)}、個体発生における中胚葉の形成^{3,4)}、神経堤細胞の移動^{5,6)}、アポトーシスの誘導⁷⁾などその多彩な機能が報告されている。また、BMPファミリーは心臓⁸⁾、腎臓⁹⁾、肺¹⁰⁾、歯¹¹⁾など数多くの器官における形態形成にも深く関連しており、発生過程に不可欠な因子であることが判明している。

一方、唾液腺においても各種BMPの存在^{12~16)}が確認され、その機能に関して検討されてきた。しかし、これらの報告はマウスやラットを用いた検索であり、ヒト唾液腺の形態形成における

BMPファミリーの関連性について検討した報告はない。

そこで本研究ではヒト顎下腺を用い、その発生過程にBMPとその受容体(BMP receptor: BMPR)がどのように関与しているかを解明する目的で、BMP-2, -3, -4およびその受容体であるBMPR-IA, -IB, -IIの局在と推移を免疫組織化学的に検索した。

材料および方法

1. 研究材料

材料には、奥羽大学歯学部生体構造学講座所蔵のヒト胎児顎下腺を使用した。観察期間は、胎齢16, 20, 22, 26週齢とした。なお胎齢は体重を考慮のうえ、国友の座高表¹⁷⁾を参考に決定した。

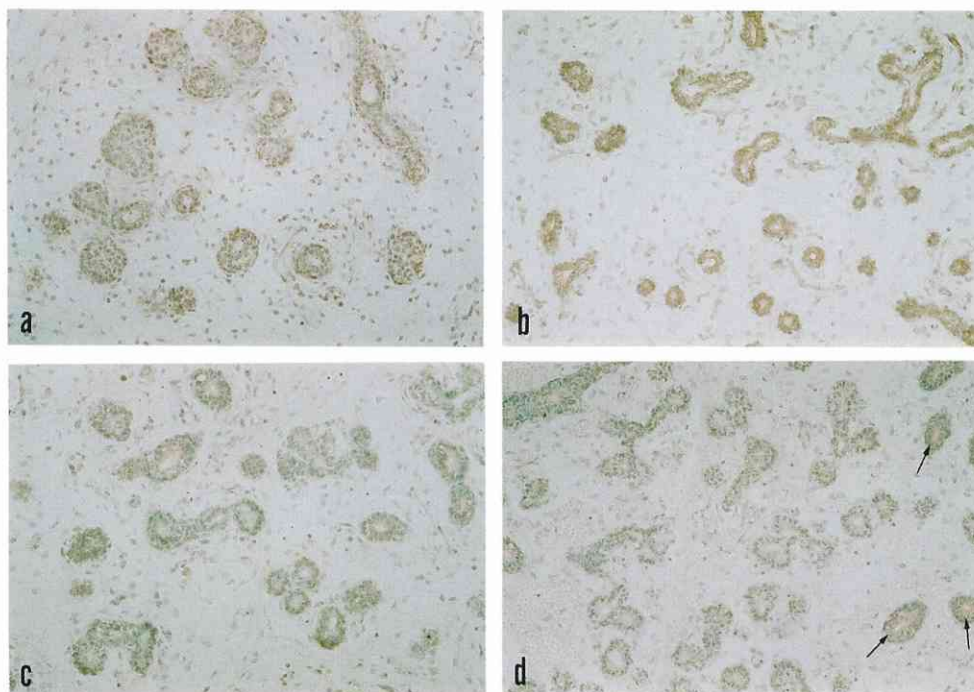


図2 各胎齢におけるBMP-3の局在

- a：胎生16週齢における抗BMP-3の反応は，細胞集団と導管様構造物の多くに陽性反応がみられる。
×100
- b：胎生20週齢でも細胞集団と導管様構造物に陽性反応が観察される。 ×100
- c：胎生22週齢では抗BMP-3の陽性反応は減弱し，導管系に弱陽性反応がみられる。 ×100
- d：胎生26週齢では腺房では陽性反応は確認されず，導管系（矢印）に弱陽性反応が観察される。
×100

また，本研究の計画立案および遂行は，本学倫理審査委員会の承認を得て施行した。

2. 研究方法

標本の作製手順は，まず顎下腺を摘出し，10%中性緩衝ホルマリン液にて浸漬固定を行った。試料は30%ショ糖液にて氷結防止処理を行い，Tissue Mount（白井松器機，東京）に包埋，液体窒素で急速凍結し，クリオスタット（MICROM, Germany）にて厚さ10 μ mの連続切片を作製した。

凍結切片を0.3% H_2O_2 含有メタノール溶液にて10分間処理し，内因性ペルオキシダーゼを不活性化した。次いで，10%正常ウサギ血清（HISTOFINE SAB-PO Kit，ニチレイ，東京）にて10分間，ブロッキング処理を行い，一次抗体を反応させた。

本研究に使用した一次抗体は，goat anti human BMP-2（Cat #sc6895, Santa Cruz Biotechnology, Inc. CA, USA）（希釈倍率1：5000），rabbit anti human BMP-3（Cat #sc9031, Santa Cruz Biotechnology, Inc. CA, USA）（希釈倍率1：5000），mouse anti mouse BMP-4（Cat #sc12721, Santa Cruz Biotechnology, Inc. CA, USA）（希釈倍率1：2000），goat anti human BMPR-IA（Cat #sc5676, Santa Cruz Biotechnology, Inc. CA, USA）（希釈倍率1：2000），goat anti human BMPR-IB（Cat #sc5679, Santa Cruz Biotechnology, Inc. CA, USA）（希釈倍率1：2000），goat anti human BMPR- II（Cat #sc5683, Santa Cruz Biotechnology, Inc. CA, USA）（希釈倍率1：5000）の6種類で，それぞれ10時間反応させた。

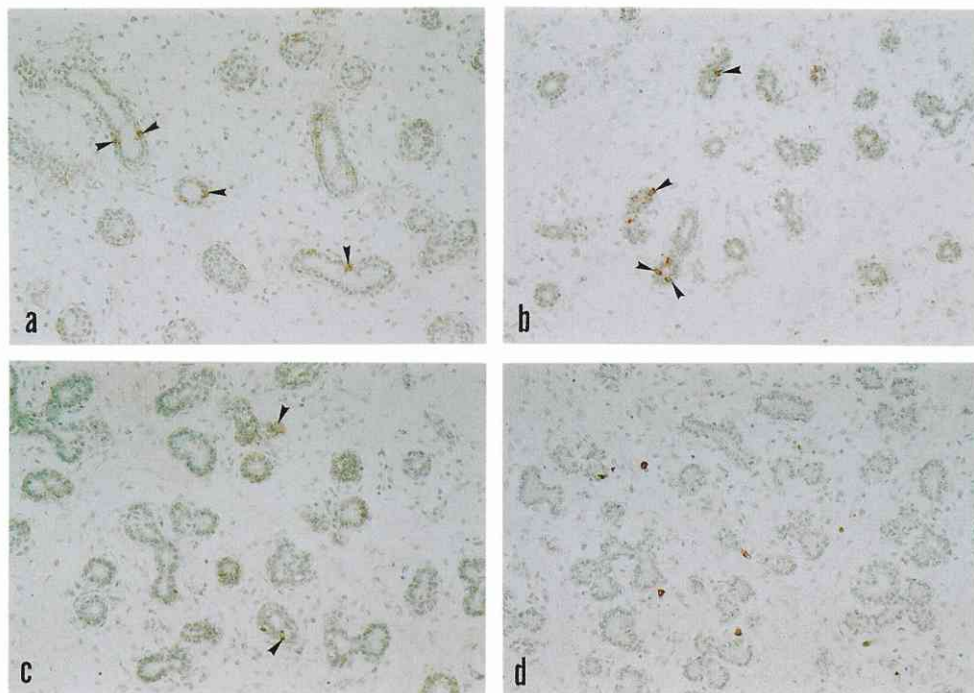


図3 各胎齢におけるBMP-4の局在

- a: 胎生16週齢におけるBMP-4の局在は、細胞集団と導管様構造物の一部の細胞（矢頭）に限局している。×100
 b: 胎生20週齢でも細胞集団と導管様構造物の一部に陽性細胞（矢頭）が存在する。×100
 c: 胎生22週齢では数は減少しているもののBMP-4陽性細胞（矢頭）がみられる。×100
 d: 胎生26週齢では陽性細胞はほとんど観察されない。×100

次に、二次抗体として biotinylated anti goat immunoglobulin (DAKO Corp., CA, USA), biotinylated anti rabbit mouse immunoglobulin (HISTOFINE SAB-PO Kit, ニチレイ, 東京) を30分間、その後 peroxidase 標識 streptavidin (HISTOFINE SAB-PO Kit, ニチレイ, 東京) を15分間反応させた。0.3% H_2O_2 を含む0.05% 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) 溶液 (0.05M Tris-HCl 緩衝液 pH7.6) にて発色を行い、5% methyl green (武藤化学薬品, 東京) にて核染後、顕微鏡観察を行った。なお、切片の洗浄および抗血清の希釈には0.05M Tris-HCl 緩衝液 (pH7.6) を用いた。

対照実験は、一次抗体のかわりに正常ヤギ血清 (DAKO Corp., CA, USA) を用いて同様の反応

を行った。

結 果

1. 各胎齢における BMP-2 の局在

胎生16週齢の顎下腺は、腺房様を呈する末端の細胞集団と管腔を有する導管様構造物で構成されていたが、その分布は疎であった (図1-a)。

抗 BMP-2 の反応は、末端の細胞集団と導管様構造物を構成する多くの細胞に陽性反応がみられた (図1-a)。

胎生20週齢では、導管様構造物は数層の細胞から構成され、導管として構築が明瞭となった。末端の細胞集団数は増加したが、分布は16週齢と同様に疎であった (図1-b)。

抗 BMP-2 の反応は、口径の大きい導管では陽

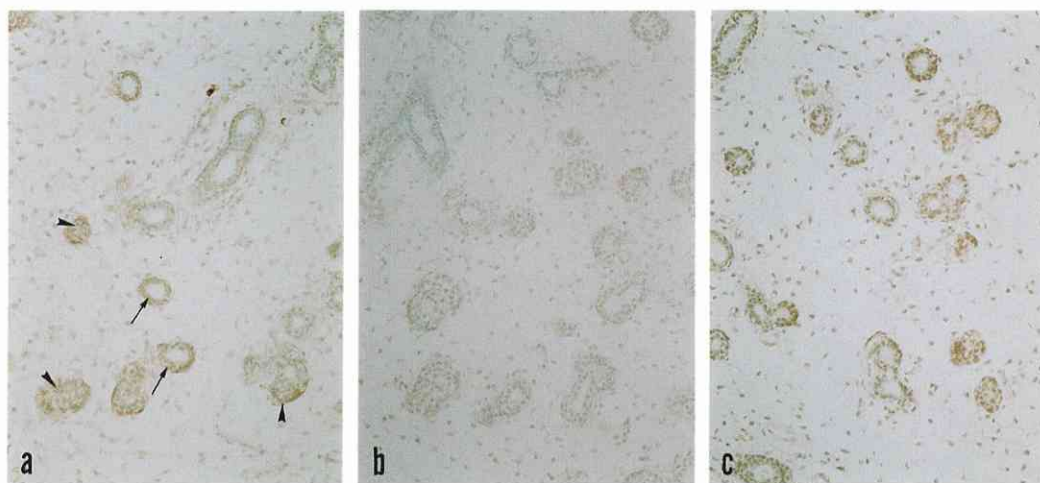


図4 胎生16日齢における各BMPRの局在

- a：抗BMPR-IAの反応は，末端の細胞集団（矢頭）に陽性反応がみられ，導管様構造物（矢印）でも弱い陽性反応が確認される。×100
 b：抗BMPR-IBの反応は，細胞集団，導管様構造物ともに陽性反応はみられない。×100
 c：抗BMPR-IIの反応は，BMPR-IAと同様に末端の細胞集団と導管様構造物に観察される。×100

性反応は減弱していた。また，末端の細胞集団においても，抗BMP-2の陽性反応はすべての細胞ではなく，一部の細胞に限局していた（図1-b）。

胎生22週齢になると，末端の細胞集団を構成する細胞は，豊富な細胞質をもつ腺細胞へと分化，腺房を形成していた（図1-c）。

抗BMP-2の陽性反応は，腺房では観察されなくなりましたが，未分化な細胞集団では陽性細胞が，これまでと同様にみられた。一方，導管において，抗BMP-2の反応は陰性であった（図1-c）。

胎生26週齢の顎下腺は，腺房と導管数が増加し，22週齢までと比較して分布が密となった（図1-d）。

抗BMP-2については，腺房の一部の細胞を除き，陽性反応は認められなかった（図1-d）。

2. 各胎齢における BMP-3 の局在

胎生16週齢における抗BMP-3の反応は，細胞集団と導管様構造物のすべての細胞に陽性反応がみられた（図2-a）。

胎生20週齢でも抗BMP-3の反応は，末端の細胞集団と導管に陽性反応が広範囲に観察された（図2-b）。

胎生22週齢になると抗BMP-3は，末端の細胞集団と導管系では陽性反応がみられたが，腺房では陰性であった（図2-c）。

胎生26週齢では導管系の細胞にのみ抗BMP-3の陽性反応が限局し，腺房は陰性であった（図2-d）。

3. 各胎齢における BMP-4 の局在

胎生16週齢における抗BMP-4の反応は，細胞集団と導管様構造物の一部の細胞に散在性に陽性反応がみられた（図3-a）。

胎生20および22週齢でも末端の細胞集団と未熟な導管系では抗BMP-3陽性細胞が確認されたが，増齢に伴いその数は減少した（図3-b, c）。

胎生26週齢における抗BMP-4については，腺房や導管系を構成する細胞に陽性反応が観察されなくなった（図3-d）。

4. 各胎齢における BMPR の局在

胎生16週齢における抗BMPR-IAの反応は，末端の細胞集団に陽性反応がみられ，導管様構造物でも弱い陽性反応が確認された（図4-a）。一方，抗BMPR-IBの反応は，細胞集団，導管様構造物ともに陽性反応はみられなかった（図4-b）。

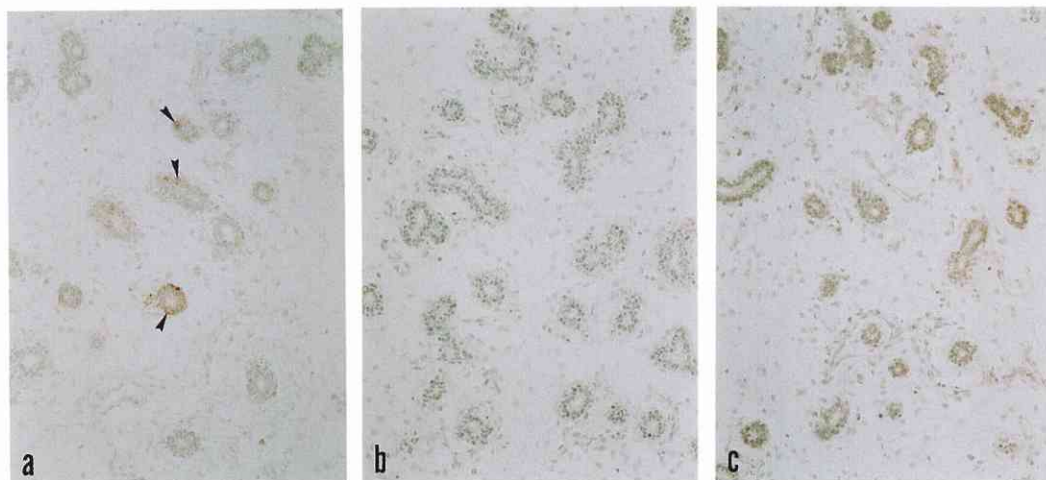


図5 胎生20日齢における各BMPRの局在

- a: BMPR-IAの局在は、細胞集団と導管様構造物の一部の細胞(矢頭)にみられる。×100
 b: BMPR-IBの局在は観察されない。×100
 c: BMPR-IIの局在は、16週齢と同様に細胞集団と導管様構造物に観察される。×100

抗 BMPR-II の反応は、BMPR-IA と同様に末端の細胞集団と導管様構造物に強く認められた(図4-c)。

胎生20週齢における抗 BMPR-IA の反応は、末端の細胞集団と未熟な導管系に観察されたが、16週齢に比べ細胞集団、導管系の一部の細胞に限局する傾向を示した(図5-a)。一方、抗 BMPR-IB の反応は、20週齢においても陰性であった(図5-b)。抗 BMPR-II の反応は、16週齢と同様に末端の細胞集団と導管系の細胞に広範囲に観察された(図5-c)。

胎生26週齢における抗 BMPR-IA の反応は、20週齢とは異なり腺房や導管系を構成する細胞に陽性反応はみられなかった(図6-a)。また、抗 BMPR-IB の反応も腺房、導管系ともに陰性であった(図6-b)。一方、抗 BMPR-II の反応は腺房では観察されず、導管系の細胞にのみ限局した(図6-c)。

考 察

唾液腺の形態形成における細胞増殖因子の発現とその作用に関しては、数多くの因子の関与が報

告されている¹⁸⁻²¹⁾。しかし、それらの多くは唾液腺の発生初期における細胞増殖や分枝機序に関するものであり、特に腺細胞の分化に関与する因子についての報告は少ない。BMP と唾液腺の発育過程に関連性についても、各種 BMP とその受容体の存在¹²⁻¹⁴⁾ や mRNA の発現^{15,16)} が検索され、唾液腺の発生や形態形成に BMP が深く関連する可能性が示唆されている。

本研究では、ヒト顎下腺の発育過程に伴う BMP-2, -3 および -4 の局在を胎齢16週齢から26週齢まで検索した。その結果、胎生16週齢においてヒト顎下腺は、管腔を有するものの未分化な導管様構造物と末端の未分化な細胞集団とから構成されており、その両者に BMP-2, -3, -4 の局在が観察された。BMP-3 の局在は末端の細胞集団と導管様構造物のすべての細胞にみられ、BMP-2 の局在も両者の多くの細胞に観察された。胎生16週齢ヒト顎下腺における末端の細胞集団は、数多くの細胞が密集する細胞塊の状態であり、腺細胞への分化はみられない。導管様構造物においても管腔の形成は認められるものの、構成細胞は立方形で多層を成している。胎生16週齢の顎

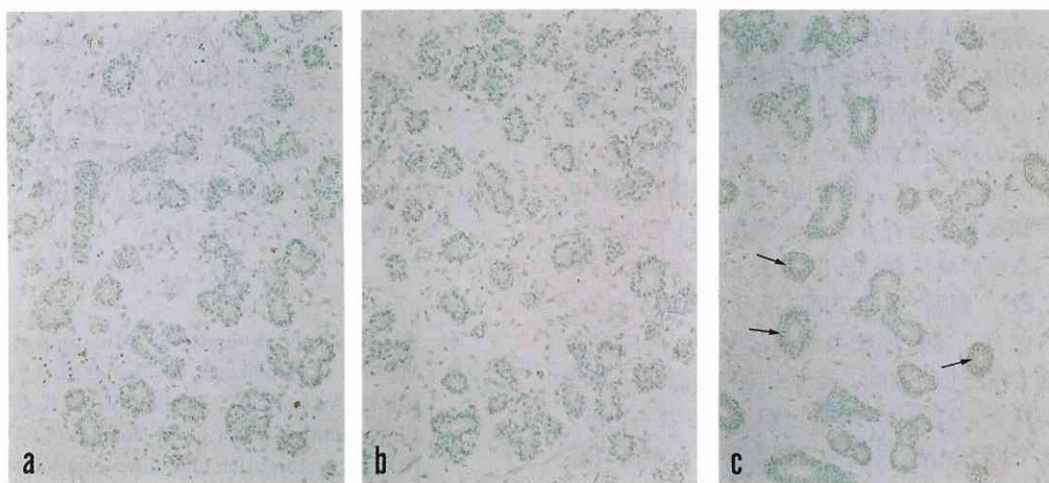


図6 胎生26日齢における各BMPRの局在

a: 抗BMPR-IAの陽性反応はみられない。×100

b: 抗BMPR-IBの反応も他の胎齢と同様に、陽性反応はみられない。×100

c: 抗BMPR-IIの反応は腺房では陰性であるものの、導管系に弱陽性反応（矢印）が観察される。
×100

下腺では細胞の分化は開始しておらず、盛んに細胞増殖が行われている時期である。この時期にBMP-2, -3の発現が多くの細胞に観察されたことは、顎下腺の発生初期段階における細胞増殖にBMP-2と-3が関与する可能性を示唆するものと考えられる。腺細胞の分化と導管系の構築が始まる胎生22週齢では、BMP-2と-3の発現は徐々に減弱したことから、両者が細胞増殖に関与することが示唆される。

これに対してBMP-4の局在は、胎生16週齢において細胞集団と導管様構造物にみられたが、BMP-2や-3とは異なりその局在は散在性であり、一部の細胞に局限していた。この結果はBMP-4が未分化な細胞の増殖に関連する可能性が少ないことを示す結果と考えられる。BMP-4は末端の細胞集団と導管様構造物の一部の細胞に局限していたことから、その作用は腺細胞への分化のみならず、導管系の各部位を構成する細胞の分化にも働くことが示唆された。同様にBMP-2についても一部の細胞に局限して反応がみられる時期も存在していたことから、腺細胞と導管系細胞の形態分化にBMP-2とBMP-4の両者が関与する可能

性が考えられた。本研究の観察期間では、顎下腺の腺房は未熟であり、粘液腺細胞や漿液腺細胞が形成段階である。よってBMP-4や-2の腺細胞への分化という点は、内胚葉性上皮細胞が前腺細胞（proacinar cell）に分化する発育過程に関与するものと考えられる。

TGF- β スーパーファミリーに属するタンパクは、標的細胞のセリン/スレオニンキナーゼ型レセプターに結合することにより生物学的な機能を発現すると報告²²⁾されている。BMPRはBMPR-IおよびBMPR-IIに大別され、単独ではリガンドとそれほど強い結合力をもたず、両者が一緒になってはじめて高い結合活性を発揮する²³⁾。本研究ではBMPR-IおよびBMPR-IIの両者を検索し、BMPR-Iに関してはIAとIBの二種について検索した。その結果、観察期間を通じてBMPR-IBの発現はみられず、BMPR-IAおよびBMPR-IIの発現が観察された。胎生16週齢でのBMPR-IAとBMPR-IIの局在は類似しており、両者が結合し、リガンドとの高い結合活性を発現することを伺わせる。しかし、胎生20週齢以降は二種のレセプターの局在に差異がみられ

た。すなわち、BMPR-I Aの局在は末端の細胞集団と導管様構造物の一部の細胞に局限してみられ、BMPR-IIの局在は末端の細胞集団と導管様構造物の多くの細胞にみられたが、徐々に導管系の細胞にのみ発現するようになった。BMPR-I Aはマウスにおいて、胎生期の多くの器官に発現し、多様な機能を行うことが報告されている²⁴⁾。また、器官形成におけるBMPRの局在に関しては、心臓⁸⁾、腎臓⁹⁾および歯¹¹⁾などの報告がある。これらでは、器官形成の初期において、BMPRは単独で機能し、細胞の誘導や分化の調節、アポトーシスなどに関与することが報告されている。これまでのBMPRに関する報告²⁵⁻²⁷⁾と本研究結果よりヒト顎下腺の形態形成では、BMPR-I Aは未分化な内胚葉性上皮細胞の腺細胞(前腺細胞)への分化と導管系細胞への分化に関与すること、BMPR-IIは顎下腺の終末部や導管系の各部位における細胞増殖に作用する可能性が示唆された。

結 論

胎生16週齢から26週齢までのヒト顎下腺の成長発育におけるBMPとその受容体の局在について免疫組織化学的に検索し、以下の結論を得た。

1. BMP-2の局在は、胎生16週齢では末端の細胞集団と未熟な導管様構造物の多くに陽性細胞がみられたが、増齢に伴い徐々に減少、26週齢では未分化な細胞集団に若干のBMP-2陽性細胞が存在していた。

2. BMP-3の局在は、胎生16週齢の顎下腺を構成する細胞すべてに陽性反応がみられたが、26週齢では導管系にのみ陽性反応が局限した。

3. BMP-4の局在は、胎生16週齢において末端の細胞集団と未熟な導管様構造物の一部に陽性細胞が観察されたが、20、22週齢と陽性細胞は減少、26週齢では観察されなかった。

4. BMPR-I Aの局在は、胎齢16日齢では未分化な細胞集団と未熟な導管系の一部にみられたが、胎生26日齢では確認されなかった。また、BMPR-I Bの局在は、観察期間を通じて確認されなかった。

5. BMPR-IIの局在は、胎齢16日齢では顎下腺を構成する細胞に広範囲にみられ、増齢に伴い

導管系に局限する傾向を示した。

以上のことから、ヒト顎下腺の形態形成にはBMP-2、-3、-4が深く関連することが示唆された。特に、顎下腺発生初期の細胞増殖にBMP-2、-3およびBMPR-IIが、腺細胞や導管系細胞の分化にBMP-2、-4およびBMPR-I Aが関与することが本研究によって示された。

文 献

- 1) Katsuki, Y., Sakamoto, K., Minamizato, T., Makino, H., Umezawa, A., Ikeda, M. A., Perbal, B., Amagasa, T., Yamaguchi, A., Katsube, K. : Inhibitory effect of CT domain of CCN3/NOV on proliferation and differentiation of osteogenic mesenchymal stem cells, *Kusa-A1*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **368** ; 808-814 2008.
- 2) Shou, J., Rim, P. C., Calof, A. L. : BMPs inhibit neurogenesis by a mechanism involving degradation of a transcription factor. *Nat. Neurosci.* **2** ; 339-345 1999.
- 3) Hogan, B. L. M. : Bone morphogenetic proteins : Multifunctional regulators of vertebrate development. *Genes Dev.* **10** ; 1580-1594 1996.
- 4) Takahashi, H., Ikeda, T. : Transcripts for two members of the transforming growth factor- β superfamily BMP-3 and BMP-7 are expressed in developing rat embryos. *Dev. Dyn.* **207** ; 439-449 1996.
- 5) Di-Gregorio, A., Sancho, M., Stuckey, D. W., Crompton, L. A., Godwin, J., Mishina, Y., Rodriguez, T. A. : BMP signalling inhibits premature neural differentiation in the mouse embryo. *Development* **134** ; 3359-3369 2007.
- 6) Steventon, B., Arava, C., Linker, C., Kurivama, S., Mavor, R. : Differential requirements of BMP and Wnt signalling during gastrulation and neurulation define two steps in neural crest induction. *Development* **136** ; 771-779 2009.
- 7) Macias, D., Ganan, Y., Sampath, T. K., Piedra, M. E., Ros, M. A., Hurler, J. M. : Role of BMP-2 and OP-1 (BMP-7) in programmed cell death and skeletogenesis during chick limb development. *Development* **124** ; 1109-1117 1997.
- 8) Uchimura, T., Komatsu, Y., Tanaka, M., McCann, K. L., Mishina, Y. : Bmp2 and Bmp4 genetically interact to support multiple aspects

- of mouse development including functional heart development. *Genesis* **47** ; 374-384 2009.
- 9) Cain, J. E., Nion, T., Jeulin, D., Bertram, J. F. : Exogenous BMP-4 amplifies asymmetric ureteric branching in the developing mouse kidney *in vitro*. *Kidney Int* **67** ; 420-431 2005.
 - 10) Vukicevic, S., Helder, M. N., Luyten, F. P. : Developing human lung and kidney are major sites for synthesis of bone morphogenetic protein-3(osteogenin). *J. Histochem. Cytochem.* **42** ; 869-875 1994.
 - 11) Nadiri, A., Kuchler-Bopp, S., Haikel, Y., Lesot, H. J. : Immunolocalization of BMP-2/-4, FGF-4, and WNT10b in the developing mouse first lower molar. *J. Histochem. Cytochem.* **52** ; 103-112 2004.
 - 12) Izumi, M., Watanabe, M., Sawaki, K., Yamaguchi, H., Kawaguchi, M. : Expression of BMP7 is associated with resistance to diabetic stress : comparison among mouse salivary glands. *Eur. J. Pharmacol.* **596** ; 1-5 2008.
 - 13) Hoffman, M. P., Kidder, B. L., Steinberg, Z. L., Lakhani, S., Ho, S., Kleinman, H. K., Larsen, M. : Gene expression profiles of mouse submandibular gland development : FGFR1 regulates branching morphogenesis *in vitro* through BMP- and FGF-dependent mechanisms. *Development* **129** ; 5767-5778 2002.
 - 14) Jaskoll, T., Zhou, Y. M., Chai, Y., Makarenkova, H. P., Collinson, J. M., West, J. D., Hajhosseini, M. K., Lee, J., Melnick, M. : Embryonic submandibular gland morphogenesis : Stage-specific protein localization of FGFs, BMPs, Pax6 and Pax9 in normal mice and abnormal SMG phenotypes in *FgfR2-IIIc*/ Δ , *BMP7*^{-/-} and *Pax6*^{-/-} mice. *Cells Tissues Organs* **170** ; 83-98 2002.
 - 15) Takahashi, H., Ikeda, T. : Transcripts for two members of the transforming growth factor- β superfamily BMP-3 and BMP-7 are expressed in developing rat embryos. *Dev. Dyn.* **207** ; 439-449 1996.
 - 16) Kawaguchi, M., Sawaki, K., Wang, Y. H., Okubo, M., Baum, B. J., Yamane, G., Motegi, E. : The basic research for developing methods of diagnosis and examination of the function of salivary glands : Existence and characterization of BMP and lactoferrin and their receptors in salivary glands. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* **44** ; 127-128 2003.
 - 17) 国友 鼎 : 日本人胎児の月経年齢 身長および体重について. *日学術協報* **4** ; 670-674 1928.
 - 18) Watson, A. Y., Anderson, J. K., Siminoski, K., Mole, J. E., Murphy, R. A. : Cellular and subcellular colocalization of nerve growth factor and epidermal growth factor in mouse submandibular glands. *Anat. Rec.* **213** ; 365-376 1985.
 - 19) Wu, H. H., Kawamata, H., Wang, D. D., Oyasu, R. : Immunohistochemical localization of transforming growth factor alpha in the major salivary glands of male and female rats. *Histochem. J.* **25** ; 613-618 1993.
 - 20) Kerr, M., Lee, A., Wang, P. L., Purushotham, K. R., Chegini, N., Yamamoto, H., Humphreys-Beher, M. G. : Detection of insulin and insulin-like growth factors I and II in saliva and potential synthesis in the salivary glands of mice. Effects of type 1 diabetes mellitus. *Biochem. Pharmacol.* **49** ; 1521-1531 1995.
 - 21) Amano, O., Matsumoto, K., Nakamura, T., Iseki, S. : Expression and localization of hepatocyte growth factor in rat submandibular gland. *Growth Factors* **10** ; 145-151 1994.
 - 22) Yamashita, H., Dijke, P. T., Heldin, C. -H., Miyazono, K. : Bone morphogenetic protein receptors. *Bone* **19** ; 569-574 1996.
 - 23) Rosenzweig, B. L., Imamura, T., Okadome, T., Cox, G. N., Yamashita, H., Ten, Dijke, P., Heldin, C. H., Miyazono, K. : Cloning and characterization of a human type II receptor for bone morphogenetic proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92** ; 7632 1995.
 - 24) Dewulf, N., Verschueren, K., Lonnoy, O., Morén, A., Grimsby, S., Vande, Spiegle, K., Miyazono, K., Huylebroeck, D., Ten, Dijke, P. : Distinct spatial and temporal expression patterns of two type I receptors for bone morphogenetic proteins during mouse embryogenesis. *Endocrinology* **136** ; 2652-2663 1995.
 - 25) Martinez, G., Mishina, Y., Bertram, J. F. : BMPs and BMP receptors in mouse metanephric development : *in vivo* and *in vitro* studies. *Int. J. Dev. Biol.* **46** ; 525-533 2002.
 - 26) Kémoun, P., Laurencin-Dalicieux, S., Rue, J., Vaysse, F., Roméas, A., Arzate, H., Conte-Auriol, F., Farges, J. C., Salles, J. P., Brunel, G. : Localization of STRO-1, BMP-2/-3/-7, BMP receptors and phosphorylated Smad-1 during the formation of mouse periodontium. *Tissue Cell* **39** ; 257-266 2007.

- 27) Stroud, D. M., Gaussin, V., Burch, J. B., Yu, C., Mishina, Y., Schneider, M. D., Fishman, G. I., Morley, G. E. : Abnormal conduction and morphology in the atrioventricular node of mice with atrioventricular canal targeted deletion of *Alk3/Bmpr1a* receptor. *Circulation* **116** ; 2535-2543 2007.

著者への連絡先 : 安部仁晴, (〒963-8611) 郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部生体構造学講座口腔組織学分野

Reprint requests : Kimiharu AMBE, Division of Oral Histology, Department of Morphological Biology, Ohu University School of Dentistry

31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan