

## EFFETS DE LA MUTATION TABBY SUR LA DENTITION CHEZ LA SOURIS

LESOT H.<sup>1</sup>, PETERKOVÁ R.<sup>2</sup>, KRISTENOVÁ P.<sup>2</sup>, LISI S.<sup>3</sup>, PETERKA M.<sup>2</sup>

*1 INSERM U595, Faculté de Médecine, Strasbourg - France;*

*2 Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences CR, Prague - Czech Republic*

*3 Institute of Anatomy, Faculty of Medicine, Bari - Italy*

**KEYWORDS:** *Tabby mutation, dental defects, odontogenesis, mouse*

**MOTS CLES:** *mutation Tabby, anomalies dentaires, odontogenèse, souris*

### RESUME

La dysplasie ectodermique hypohidrotique liée au chromosome X chez l'homme conduit à des anomalies dentaires. Nous étudions de façon systématique les effets de son analogue chez la souris, la mutation *Tabby (Ta)*, sur l'odontogenèse. Le germe de l'incisive chez *Ta* présente des anomalies de taille, de forme, de position, un changement dans les proportions couronne-racine et des cytodifférenciations retardées. Au stade de la cloche, l'organe de l'émail est plus petit chez *Ta*, mais la surface de la pulpe couverte par des préaméloblastes/améloblastes paraît inchangée. Le développement indépendant des parties labiale et linguale de l'organe de l'émail de l'incisive inférieure pourrait traduire une origine embryologique complexe comme pour l'incisive supérieure. La dentition jugale mandibulaire chez *Ta* montre d'importantes altérations.

Chez l'embryon, cinq morphotypes distincts sont définis selon le nombre, les formes et positions des dents. L'extension mésio-distale de la lame dentaire est comparable chez les embryons *Ta* et contrôles mais sa segmentation est altérée chez *Ta*.

Selon un modèle hypothétique formulé pour rendre compte de ces morphotypes, 1) les positions des frontières mésio-distales des dents pourraient varier entre contrôle et *Ta*, mais aussi selon les morphotypes, 2) le patron dentaire serait déterminé par la position de la frontière distale du premier primordium molaire, les primordiums suivants se développant à partir de l'épithélium dentaire restant, 3) un primordium dentaire chez *Ta* pourrait se former à partir des territoires de deux primordiums distincts chez le contrôle.

### ABSTRACT

The X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia in man leads to dental defects and is homologous to the *Tabby (Ta)* mutation in mouse. We currently investigate the effects of the *Ta* mutation on odontogenesis. The incisor germ of *Ta* showed an abnormal size and shape, a change in the balance between prospective crown- and root-analogue tissues and retarded cytodifferentiation. Although the enamel organ in *Ta* incisors was smaller, a larger proportion of the dental papilla was covered by preameloblasts-ameloblasts. The independent development of the labial and lingual parts of the enamel organ in rodent lower incisor might reflect their heterogeneous origin, as demonstrated for the upper incisor. The mandibular cheek dentition in *Ta* mice exhibits large variations classified in five morphotypes, based on the tooth number, shape, size and position.

In *Ta* embryos, the mesio-distal extent of the dental epithelium was similar to that in *WT*, but its segmentation was altered.

These morphotypes could be explained by a tentative model suggesting that 1) the positions of tooth boundaries differ in *Ta* and *WT* molars and among the *Ta* morphotypes; 2) the tooth patterns are determined by the distal boundary of the most mesial tooth primordium while the distal teeth take advantage of the remaining dental epithelium; 3) one tooth primordium in *Ta* mice might derive from adjacent parts of two primordia in *WT*.

## INTRODUCTION

La dysplasie ectodermique hypohidrotique (anhidrotique) chez l'homme est une anomalie génétique liée au chromosome X. L'affection se caractérise par des défauts de la peau, du système pileux, des glandes sudoripares et des dents. La mutation spontanée *Tabby* (*Ta*) chez la Souris est l'homologue de la dysplasie ectodermique hypohidrotique (Grüneberg, 1971; Blecher, 1986). La mutation touche un gène codant pour une protéine transmembranaire: l'ectodysplasine A (EDA) (Kere et al., 1996; Ferguson et al., 1997; Srivastava et al., 1997). L'EDA interagit avec son récepteur transmembranaire EDAR (Monreal et al., 1999). La mutation *Ta* et ses équivalents autosomiques *Downless* (*Dl*) et *Crinkled* (*Cr*) conduisent à des phénotypes similaires de dysplasie ectodermique chez la souris (Falconer et al., 1951; Sofaer, 1969a, b) et chez l'homme (Montreal et al., 1999; Headon et al., 2001). Les gènes *Dl* et *Cr* codent respectivement pour le récepteur EDAR (Headon et Overbeek, 1999; Montreal et al., 1999) et pour un death domain associé à ce récepteur (EDARADD) (Headon et al., 2001).

La dent embryonnaire est constituée de l'organe de l'émail (d'origine épithéliale) et de la pulpe dentaire (d'origine ecto-mésenchymateuse), séparés par une membrane basale continue. Au cours de l'odontogenèse, les composantes épithéliale et mésenchymateuse interagissent de façon continue et réciproque. Ces interactions à médiation matricielle contrôlent la cinétique cellulaire, l'histogenèse et la morphogenèse de l'organe de l'émail, la différenciation des odontoblastes (sécrétant la prédentine-dentine) et celle des améloblastes sécrétant les protéines de l'émail (Ruch 1995). Dans certains cas pathologiques, des altérations de ces interactions conduisent à des anomalies de l'odontogenèse (Lesot, 1991; Satokata and Maas, 1994; Stock, 2001; Frazier-Bowers et al., 2002). Chez la souris normale, chaque demi-mâchoire comporte trois molaires, dents à croissance limitée, et une incisive à croissance continue. Nous avons analysé de façon systématique les effets de la mutation *Ta* sur le développement de l'incisive et de la dentition molaire dans la mâchoire inférieure chez la souris.

## MATERIEL ET METHODES

Les souris *Ta* et contrôles proviennent d'un élevage de la lignée *Tabby* B6CBACa-A<sup>w</sup>/A-Eda<sup>Ta</sup>/0 (Laboratoires Jackson, Bar Harbor, ME, USA). Les

souris utilisées pour ce travail étaient *Ta* homo- et hémizygotes issues de croisements de mâles *Ta* hémizygotes avec des femelles *Ta* homozygotes, *Ta* hémizygotes ou *Ta* hétérozygotes (Cermakova et al., 1998). Dans les portées de souris femelles *Ta* hétérozygotes, les embryons hémio- ou homozygotes ont été identifiés sur la base d'anomalies caractéristiques du développement des follicules pileux (Grüneberg, 1971; Sofaer, 1969a) et de l'organe de l'émail des incisives inférieures (Miard et al., 1999).

**Histologie:** Les embryons *Ta* et contrôles sont prélevés à des stades allant du jour embryonnaire (JE) 13,5 au JE 18,0 (jour 0,0: minuit précédant la mise en évidence du bouchon vaginal). Des nouveaux-nés (stade 20,5 jours) ont aussi été utilisés. Après fixation dans le Bouin-Hollande, déminéralisation si nécessaire, et inclusion en paraffine, les têtes sont débitées en coupes sériées de 5 µm. Les coupes sont colorées à l'hématoxyline-éosine et au bleu alcian.

**Reconstruction tridimensionnelle:** Pour les reconstructions tridimensionnelles de la forme de l'organe adamantin, la jonction épithélio-mésenchymateuse dentaire est dessinée à l'aide d'un microscope Leica DMRB équipé d'une chambre claire. L'acquisition des dessins se fait à partir d'une caméra CCD montée sur banc optique. Ils sont numérisés à l'aide d'un micro-ordinateur de type PC, muni d'une carte d'acquisition de type IMPCI. Le PC est relié à une station de travail graphique (Sun ultra 1) (Lesot et al., 1996).

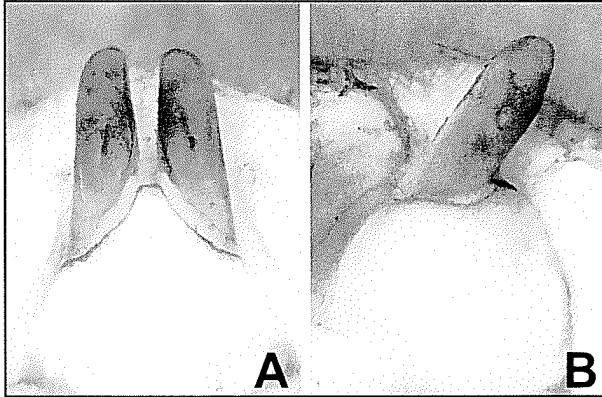
**Microscopie électronique à balayage:** Les échantillons sont deshydratés par l'hexaméthylsilazane, montés sur des supports d'aluminium et recouverts d'or-palladium. Ils ont été examinés sur un microscope à balayage Hitachi S-800 (Tokyo, Japo) (Kristenova et al., 2002).

## RESULTATS

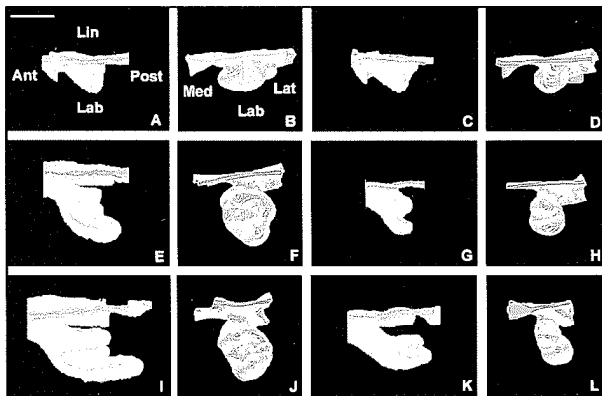
**Développement de l'incisive:** La mutation *Ta* a des conséquences importantes sur la morphogenèse de l'incisive, affectant sa taille, sa forme, et sa position (Fig. 1). La diminution de taille de l'incisive chez *Ta* s'observe dès le JE 13,5 (Comparer Fig. 2B et 2D).

Aux JE 14,5 et 15,5, l'incisive *Ta* est plus courte et plus étroite que celle des contrôles (Figs. 2, 3). A partir du JE 14,5, les changements de la forme interfèrent avec

l'asymétrie médio-latérale (Comparer Fig. 2F et 2H, 2J et 2L), et avec l'asymétrie labio-linguale qui est perdue chez *Ta* (Comparer Fig. 2E et 2G, 2I et 2K).

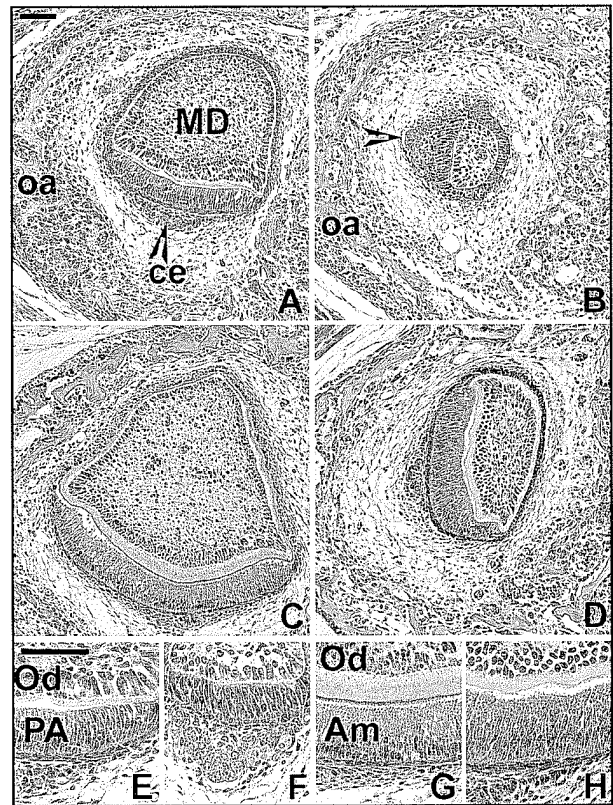


**Fig. 1:** Incisives inférieures de souris contrôle (A) et Tabby (B). Chez ce mutant, une seule incisive est visible, sa forme et sa position sont anormales.



**Fig. 2:** Reconstitutions 3D de l'organe adamantin d'incisives contrôle (A-B, E-F, I-J) et Tabby aux stades bourgeon (C-D, G-H, K-L) jour 13.5, jeune capuchon (A-D), jour 14.5, et capuchon avancé (E-H), jour 15.5 (I-L). Les organes adamantins sont représentés en vues médiales (A, C, E, G, I, K) et postérieures (B, F, H, J, L). Barre = 200 µm

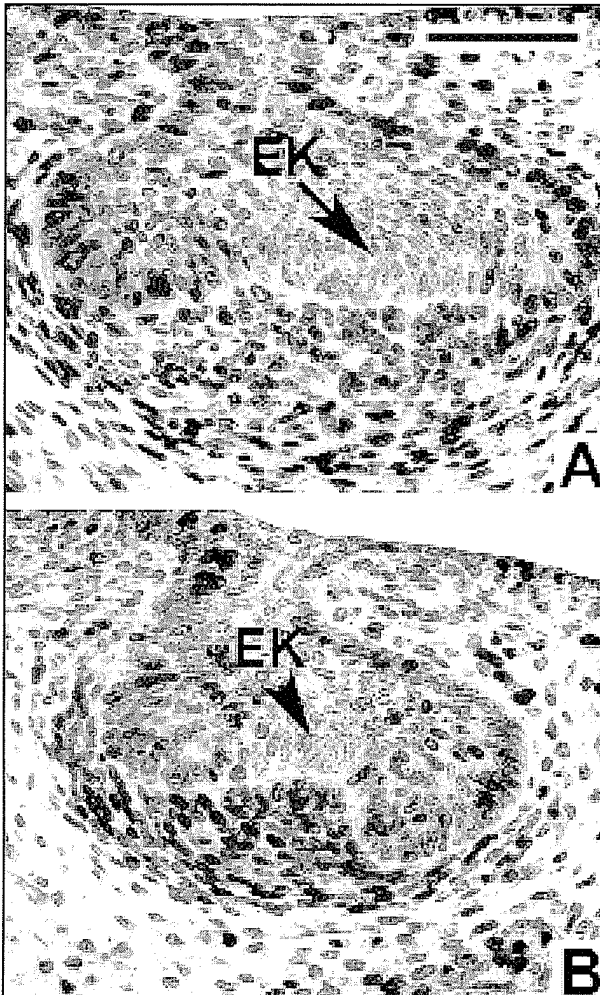
Au JE 18, l'organe adamantin est nettement plus petit chez *Ta* (Fig. 3B) que chez le contrôle (Fig. 3A). Sa forme ronde, en coupe frontale, est aussi très différente de celle observée chez le contrôle (Comparer Fig. 3B et 3A). La position de la crête épithéliale suggère que l'incisive *Ta* a subi une rotation autour de son axe antéro-postérieur (Fig. 3A-D). L'épaisseur de la prédentine-dentine est beaucoup moins importante chez *Ta*, (Fig. 3B,F) que chez les contrôles (Fig. 3A,E).



**Fig. 3:** Coupes histologiques d'incisives de Souris contrôle (A, C, E, G) et Tabby (B, D, F, H) au jour embryonnaire 18 (A-B, E-F) et à la naissance (C-D, G-H). A : améloblastes ; MD : mésenchyme dentaire ; oa : os alvéolaire ; Od : odontoblastes ; PA : préaméloblastes ; pointe de flèche : crête épithéliale (ce). Barre = 50µm.

A la naissance chez *Ta*, l'organe adamantin conserve une taille, une forme et une orientation différentes de celles observées chez les contrôles (Comparer Fig 3C et 3D). Malgré une forte réduction du volume de la pulpe chez *Ta*, on observe des odontoblastes différenciés et fonctionnels, mais la couche de prédentine-dentine reste plus fine (Fig. 3H) que chez les contrôles (Fig. 3G). Du fait de la rotation de la dent chez *Ta*, les améloblastes fonctionnels sont localisés du côté latéral et non plus labial (Comparer Fig. 3C et 3D). Une proportion plus importante de la pulpe dentaire est recouverte par les préaméloblastes-améloblastes chez *Ta* (Comparer Fig. 3C et 3D).

**Effets de la mutation sur la dentition molaire:** Les molaires chez *Ta* ont un retard initial de croissance, attribué à la plus petite taille de l'enamel knot (EK) primaire (Fig. 4).



**Fig. 4:** Coupes histologiques de molaires de Souris contrôle (A) et Tabby (B) au jour embryonnaire 14. La bromodéoxyuridine injectée chez les mères permet après immunodétection (Lisi et al., 2003) de visualiser les cellules en division. Les cellules de l'EK restent négatives. Barre = 100  $\mu$ m.

Contrairement à ce que l'on observe chez les contrôles, il existe une grande variabilité dans la dentition molaire inférieure chez *Ta* (Grüneberg, 1965; Sofaer, 1969). Cette variabilité affecte aussi bien le nombre des dents que leur taille ou leur forme (nombre et position des cuspidés) (Fig. 5). Nous avons recherché des critères permettant une classification des différents morphotypes ainsi mis en évidence (Kristenová et al., 2002).

Après la naissance, on distingue deux morphotypes de base selon le nombre et la forme des molaires par demi-mâchoire inférieure (Fig. 5). Le morphotype I est caractérisé par la présence de trois dents jugales (T1-3) par demi-mâchoire (Fig. 5B-D) au lieu de deux (T1-2) pour le morphotype II (Fig. 5E-F). Le morphotype I a pu être subdivisé en trois sous-types Ia, Ib, et Ic sur la base de critères morphologiques : forme des dents, tailles relatives et patrons cuspidiens (Fig. 5B-D) (Kristenová et al., 2002). La dentition fonctionnelle dans le morphotype II est plus uniforme que dans le morphotype I. Les seules variations apparentes concernent la forme, symétrique ou non, de la partie mésiale de la T1.

Nous avons analysé la mise en place de ces morphotypes au cours du développement (Peterková et al., 2002). Des différences morphologiques entre contrôle et *Ta* sont visibles dès le JE 13.5-14, au stade du bourgeon (Pispa et al., 1999; Tucker et al., 2000; Peterková et al., 2002). Il existe deux crêtes étroites à l'avant de l'épithélium dentaire chez *Ta* au lieu d'une seule plus large chez les contrôles. Les deux morphotypes de base (I et II) observés après la naissance ont été retrouvés chez l'embryon, de même que les sous-types (Ia, Ib, Ic) mais il n'est pas possible de les distinguer avant le JE 15.5 (Peterková et al., 2002). Les patrons de développement des cuspidés ont permis de corréler les morphotypes observés pendant les périodes postnatale et prénatale. Les deux variants du morphotype II pour la dentition fonctionnelle (Fig. 5E, F) semblent correspondre à deux morphotypes spécifiques (IIa et IIb) chez l'embryon. Les différences discrètes entre les deux sous-types chez l'embryon disparaissent après la naissance (Peterková et al., 2002). La validité de l'identification des différents morphotypes de la période prénatale (Ia, Ib, Ic, II) est confirmée par la similitude de leurs fréquences respectives avec ce qui a été observé après éruption (Kristenová et al., 2002).

Chez les mutants *Ta*, la dent jugale la plus mésiale est souvent plus petite que la suivante (Grüneberg, 1965; 1966). Cette dent mésiale a été considérée comme une dent surnuméraire et la suivante comme la première molaire ( $M_1$ ) (Sofaer, 1969a,b). Il a été suggéré que ces dents surnuméraires pourraient résulter d'un développement anormal de la lame dentaire s'étendant à l'avant d'une  $M_1$  de taille réduite, compensant ainsi sa petite taille (Sofaer, 1969a; 1975). Le fait s'observe dans les morphotypes Ib et Ic (Fig. 5C, D). Ce phénomène en fait ne résulterait pas d'un développement anormal de la lame dentaire mais d'une anomalie de segmentation du

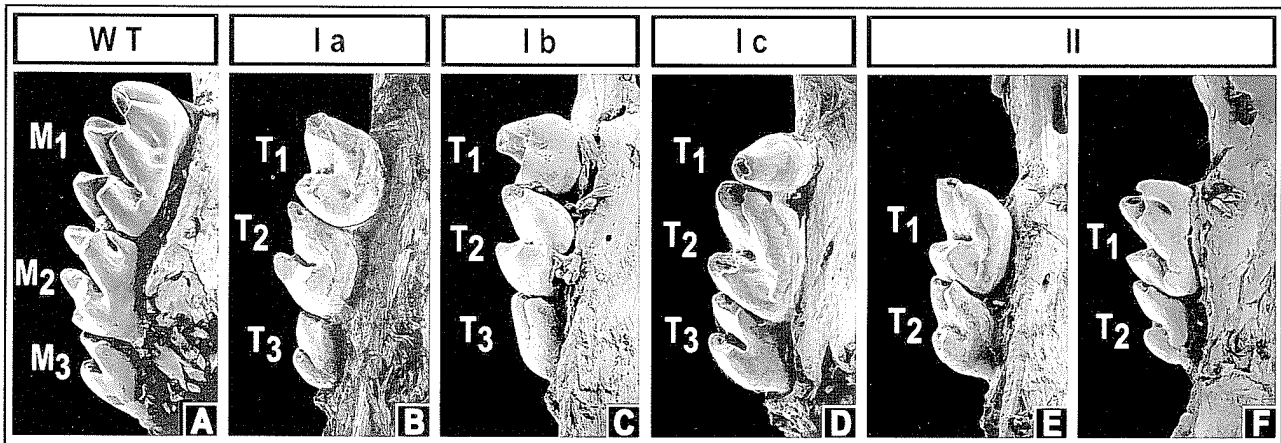


Fig. 5: Molaires observées en microscopie à balayage chez la souris contrôle (A) et différents morphotypes chez la souris Tabby (B-F).

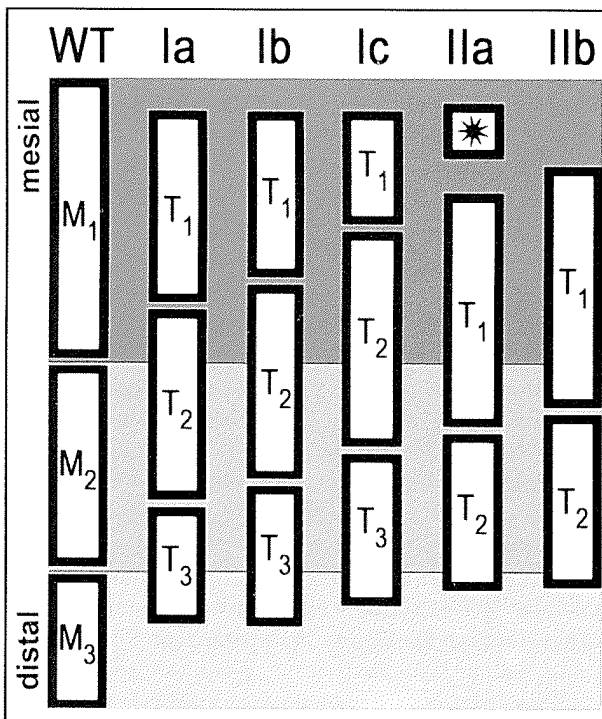


Fig. 6: Schéma figurant les positions des dents des différents morphotypes Ia, Ib, Ic, IIa et IIb chez les souris Tabby par rapport à celle des trois molaires de la souris contrôle (WT). L'arrière plan en trois teintes de gris figure les zones correspondant à chaque molaire chez le contrôle et illustre les anomalies de segmentation de la lame dentaire pouvant conduire aux différents morphotypes chez les mutants.

territoire odontogène (Peterková et al., 2002). L'étude au cours du développement montre qu'un clivage mésio-distal de la première molaire peut survenir chez les mutants *Ta*. De plus, la position du clivage semble pouvoir se déplacer en direction mésiale: lorsque l'on passe du morphotype Ia à Ib et à Ic, la taille de la première dent jugale ( $T_1$ ) diminue progressivement (Fig. 5B-D, Fig. 6). Son développement est abortif dans le morphotype IIa. Elle est absente dans le morphotype IIb (Fig. 6).

Le morphotype Ic (Fig. 5D) se caractérise par une  $T_1$  dont le développement est particulièrement réduit. L'histologie permet néanmoins d'y reconnaître toutes les composantes dentaires (Lesot et al., 2001). L'analyse du patron de différenciation des odontoblastes, comparée à ce qui se passe chez les contrôles, a suggéré que cette  $T_1$  pourrait inclure les cuspidés L1 et B1 de la  $M_1$  (selon la terminologie de Gaunt, 1955), absentes dans la  $T_2$  (Lesot et al., 2001 ; Lisi et al., 2001 ; 2003). Cet exemple illustre ainsi le défaut de segmentation suggéré plus haut. La séparation de la partie mésiale de la  $M_1$  pourrait résulter d'un défaut dans l'incorporation du primordium antémolaire R2 chez la souris *Ta* (Peterková, 1983). La contribution du primordium R2 dans la morphogenèse de la partie mésiale de la première molaire inférieure a été documentée chez la souris ICR (Peterková et al., 2000; Viriot et al., 2000). Cette partie mésiale donnera naissance aux cuspidés L1 et B1.

## DISCUSSION

La mutation *Ta* a des conséquences importantes sur la morphogénèse incisive. Les anomalies touchent la taille de la dent, mais aussi sa forme, sa position, et les proportions des composantes formant respectivement les équivalents de la couronne (partie labiale) et de la racine (partie linguale). Enfin, les cytodifférenciations des odontoblastes et améloblastes sont retardées chez la souris mutante (Miard et al., 1999). Les anomalies de taille apparaissent dès le stade du bourgeon, au JE 13.5, et la différence s'accroît dans les jours qui suivent. L'organe adamantin est plus court et plus étroit, ce qui suggère une croissance réduite du compartiment épithélial pouvant résulter d'un allongement du cycle cellulaire (Miard et al., 1999). Blecher et al. (1983) avaient suggéré que la mutation *Ta* était liée à une déficience en facteur de croissance épithélial (EGF). Chez la souris *Ta* adulte, la masse de la glande sous-mandibulaire est réduite et le développement des tubules qui produisent EGF est retardé (Blecher et al., 1983, Isaac et al. 1998). Le retard de l'ouverture des paupières et de l'éruption des incisives, que l'on observe chez les mutants *Ta*, sont abrogés par un traitement par EGF (Kapalanga et Blecher, 1991). Cependant des résultats récents montrent que l'addition d'EGF exogène ne permet pas de restaurer le phénotype *Ta*, au moins pour la dentition molaire (Pispa et al., 1999).

Chez *Ta*, la forme de l'incisive est affectée dès le stade du bourgeon. Au stade capuchon, un défaut de l'asymétrie labio-linguale apparaît chez les mutants: la partie labiale de la lèvre cervicale présente un retard de développement. Cette différence persiste au JE 15,5 et de plus, la largeur de la partie linguale de la lèvre cervicale est réduite. Il a été montré que l'organe de l'émail de l'incisive supérieure est une structure complexe résultant de la coalescence d'éléments multiples (Peterková et al., 1993). Une situation analogue pour l'incisive inférieure permettrait d'expliquer pourquoi les versants labial et lingual de l'incisive inférieure ne sont pas affectés de la même manière par la mutation (Miard et al., 1999).

L'enamel knot (EK), visible au JE 14,5 dans l'incisive contrôle, n'apparaît que 12 heures plus tard chez *Ta*. Il est plus petit dans l'incisive *Ta* et disparaît aussi plus tard que chez les contrôles. L'EK est une structure transitoire de l'organe de l'émail intervenant dans le contrôle de la morphogénèse dentaire (Jernvall et al. 1994; Coin et al. 1999). Une étude détaillée de l'EK chez la souris ICR a montré que sa forme, son

organisation cellulaire, sa demi-vie et son devenir sont différents dans l'incisive et la molaire (Kieffer et al. 1999; Coin et al., 1999; Kieffer-Combeau et al., 2001; Lesot et al., 2002).

Dans l'incisive de l'embryon *Ta*, la différenciation des odontoblastes est retardée de 24 heures par rapport à ce que l'on observe chez les contrôles. Chez *Ta*, la surface couverte par les préameloblastes-améloblastes semble voisine de celle observée chez le contrôle alors que la partie de l'épithélium analogue de la racine est très fortement réduite. Chez *Ta*, la distance entre l'épithélium dentaire externe et l'os alvéolaire est plus importante que celle mesurée chez les embryons contrôles. La diminution de la surface de la future racine et l'augmentation de l'espace entre l'incisive et l'os alvéolaire peuvent perturber le système d'ancrage de la dent chez *Ta*, ce qui expliquerait la rotation de la dent (Miard et al., 1999).

Le retard initial de croissance des molaires chez *Ta* a été attribué à la plus petite taille de l'EK primaire (Pispa et al., 1999; Tucker et al., 2000). Nous avons aussi observé que sa position et ultérieurement celle des EK secondaires étaient anormales chez *Ta*. Bien que les patrons de transcription au niveau des EK soient les mêmes chez les mutants et les contrôles, la diminution du nombre de cellules impliquées dans la signalisation pourrait effectivement avoir des conséquences sur la croissance de la dent (Pispa et al., 1999). Pourtant, il convient de remarquer que si l'EK est déjà plus petit au stade capuchon, l'ensemble de l'épithélium dentaire est lui-même de taille réduite. Il n'est donc pas certain que le rapport des deux structures soit modifié. De plus, la diminution de la taille de l'épithélium dentaire chez *Ta* est déjà sensible avant que l'EK primaire ne se mette en place. Il faut donc rechercher une explication à des stades plus jeunes. La croissance réduite de l'épithélium dentaire chez *Ta* peut être partiellement rattrapée *in vitro* par l'apport de FGF-10 exogène (Pispa et al., 1999). FGF-10 est normalement exprimé par le mésenchyme dentaire et présente un effet mitogénique sur l'épithélium exclusivement (Kettunen et al. 2000).

Chez l'embryon, l'extension mésio-distale de la lame dentaire est la même chez les souris contrôles et *Ta* de même âge et de même poids. Des modifications de la segmentation de la lame dentaire peuvent donc conduire à des modifications du nombre et de la taille des dents jugales qui caractérisent les morphotypes I et II (Peterková et al., 2002). Un modèle hypothétique a été formulé pour tenter de rendre compte de l'origine des

différents morphotypes observés (Peterková et al., 2002). Ce modèle suggère qu'un primordium dentaire unique chez *Ta* puisse se former à partir d'un territoire odontogène participant normalement à la formation de deux dents adjacentes en l'absence de mutation (Fig. 5). En effet, les limites mésio-distales des territoires dentaires diffèrent entre contrôle et *Ta* et, d'un cas à l'autre chez les mutants, elles présentent une variabilité notable. Les morphotypes dentaires sont déterminés par la limite distale du primordium antérieur: les dents plus distales se forment à partir de l'épithélium dentaire restant. Ce modèle est en accord avec les rapports de taille entre molaires successives : une diminution de la taille de la première s'accompagne d'un allongement des seconde et troisième (Sofaer, 1969a, b; Grüneberg, 1965; Kristenová et al., 2002). De plus, le modèle permet d'expliquer les différences dans la vitesse de développement des molaires successives (T<sub>1-3</sub>) que l'on observe chez *Ta* (Sofaer, 1969a; Pispá et al., 1999).

Le processus de segmentation de la lame dentaire est capital puisqu'il détermine le nombre et la position des dents, c'est-à-dire la fonctionnalité de l'occlusion, et donc la survie de l'animal. La segmentation doit être consécutive à la mise en place du patron dentaire, mais son origine histologique, compartiment épithélial ou ecto-mésenchymateux, n'est pas claire (Ruch, 1995; Weiss et al., 1998). Les approches actuelles favorisent une origine épithéliale. Les études des mécanismes moléculaires intervenant dans la distinction entre épithélium odontogène ou non ont suggéré l'implication de *Wnt-7b/Shh* (Sarkar et al., 2000), ou du gène Lunatic Fringe pour l'incisive (Pouyet et Mitsiadis, 2000). Toutefois la différence entre morphotypes IIa et IIb implique aussi la capacité qu'a l'élément situé en partie mésiale de la T<sub>1</sub> à se développer ou non (Peterková et al., 2002). Un défaut de segmentation n'explique donc pas à lui seul tous les effets de la mutation *Ta* sur le développement des molaires.

Les résultats obtenus après incorporation de 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) dans des molaires et suivi cinétique des cellules de l'épithélium dentaire interne nous ont conduit à l'hypothèse selon laquelle les cellules hors-cycle ou à cycle lent, issues de l'EK, pourraient être organisatrices d'unités morphologiques (OUM): les cuspides (Coin et al., 1999). Des données préliminaires montrent la présence de cellules mitotiques enclavées dans l'ensemble des cellules en G<sub>0</sub> dans la molaire et non dans l'incisive. La division de ces cellules peut intervenir dans la ségrégation des cellules en G<sub>0</sub> (Coin et al., 2000). Des interactions cellules-matrice impliquant

la laminine-5 et les sous-unités  $\alpha 6$  et  $\beta 4$  des intégrines pourraient contrôler la ségrégation de ces OUM à l'origine de la formation des cuspides (Lesot et al., 2002). Des altérations de ces mécanismes pourraient donc participer aux phénomènes de fusion entre cuspides linguales et médiales observés chez *Ta* (Lesot et al., 2001; Lisi et al., 2001). Il a été suggéré que l'EDA puisse intervenir dans l'adhésion des cellules épithéliales (Mikkola et al., 1999). Etant donné le rôle du mésenchyme sur la ségrégation des OUM et la spécification de la morphogénèse dentaire (Kollar et Baird, 1969; 1970; Schmitt et al., 1999), deux possibilités restent ouvertes pour expliquer le mécanisme d'action de la mutation *Ta*. Ou bien il s'agit d'un mécanisme horizontal aboutissant à ce que l'épithélium dentaire ne soit plus en mesure de répondre correctement à la signalisation du compartiment mésenchymateux. Ou bien le complexe EDA/EDAR intervient directement dans les interactions épithélio-mésenchymateuses et le mésenchyme dentaire chez *Ta* n'est plus en mesure de contrôler une morphogénèse dentaire correcte. Les mutants *Ta* et *DI* présentent des anomalies dentaires analogues. On sait maintenant que les mutations *Ta* et *DI* affectent des gènes codant respectivement pour l'ectodysplasine (EDA) et pour son récepteur (EDAR). Tucker et al. (2000) ont suggéré que les deux molécules pourraient contrôler la formation de l'EK au cours de la morphogénèse dentaire. L'interaction entre les deux molécules nécessite le clivage de l'ectodysplasine et la libération d'un fragment soluble alors capable d'aller interagir avec son récepteur EDAR (Chen et al., 2001). Le clivage serait effectué par la furine (Chen et al., 2001), une endoprotéase calcium-dépendante associée à la membrane plasmique (Molloy et al., 1992).

Dès le JE 13, le bourgeon molaire chez *DI* est différent de ce que l'on observe chez des contrôles. Les premiers changements morphologiques apparaissent donc avant que l'EK primaire ne soit formé. Pour préciser l'ensemble de ces données, il conviendra d'étudier des stades plus précoces du développement dentaire chez la souris *Ta*. Au stade du bourgeon, les modifications morphologiques consécutives à la mutation *Ta* sont discrètes. L'étude des stades jeunes nécessitera donc de développer des approches immunologiques ou l'hybridation *in situ*. L'étude de molécules d'adhésion pourrait apporter des renseignements précieux sur les supports moléculaires aux anomalies de segmentation épithéliale, et peut-être aussi sur le devenir de l'EK primaire pour certains morphotypes.

Des expériences in vitro ont visé à tester les effets de billes préincubées en présence d'activine sur l'expression de gènes au niveau d'épithéliums dentaires du JE 12 (Laurikkala et al., 2001). Les résultats montrent une induction de l'expression du récepteur EDAR en réponse à l'activine  $\beta$ A exogène (Laurikkala et al., 2001). Selon ces auteurs en faveur d'un mécanisme horizontal, l'activine  $\beta$ A, d'origine mésenchymateuse dans la dent, pourrait stimuler l'expression du récepteur EDAR au niveau de centres de signalisation. Les cellules de l'EK seraient ainsi en mesure de répondre à Wnt, dont l'expression est induite par l'ectodysplasine, exprimée par des cellules épithéliales voisines de l'EK (Laurikkala et al., 2001). Toutefois dans ces expériences, l'épithélium n'étant pas cultivé seul, l'effet direct ou indirect de l'activine n'est pas démontré. D'autre part, l'existence des différents morphotypes rend plus délicate l'interprétation des données d'hybridation in situ publiées sur la base de coupes isolées (Pispa et al., 1999; Tucker et al., 2000; Laurikkala et al., 2001; Koppinen et al., 2001).

La souris *Ta* est un excellent modèle pour étudier la morphogenèse de dérivés de l'ectoderme, les mécanismes moléculaires qui la sous-tendent, et l'origine génétiquement contrôlée des défauts de développement conduisant à la dysplasie ectodermique hypohidrotique.

**Remerciements:** Les auteurs bénéficient des soutiens financiers du GIS-Institut des Maladies rares, d'un accord INSERM-ASRT, et du financement n° 304/02/0448 de la "grant agency" de la République Tchèque. Nous remercions le Dr. Jean-Louis Gendraul pour la microscopie à balayage, Jean-Luc Vonesch de l'IGBMC (Illkirch, France) pour les logiciels de reconstructions 3D, et Bronislava Rokytova pour son aide précieuse pour les figures.

## REFERENCES

- BLECHER S.R., DEBERTIN M., MURPHY J.S.** - Pleiotropic effect of Tabby gene on epidermal growth factor-containing cells of mouse submandibular gland. *Anat. Rec.* 207, 25-29, 1983.
- BLECHER S.R.** - Anhidrosis and absence of sweat glands in mice hemizygous for the Tabby gene: supportive evidence for the hypothesis of homology between Tabby and human anhidrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia (Christ-Siemens-Touraine syndrome). *J. Invest. Dermatol.* 87, 720-722, 1986.
- CERMAKOVÁ P., PETERKA M., CAPKOVÁ J., TURECKOVÁ J., RUCH J.V., LESOT H., PETERKOVÁ R.** - Comparison of the tooth shape and size in tabby and non-tabby mice. *Acta Veterinaria Brno*, 67, 3-14, 1998.
- CHEN Y., MOLLOY S.S., THOMAS L., GAMBEE J., BACHINGER H.P., FERGUSON B., ZONANA J., THOMAS G., MORRIS N.P.** - Mutations within a furin consensus sequence block proteolytic release of ectodysplasine-A and cause X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 98, 7218-7223, 2001.
- COIN R., LESOT H., VONESCH J.L., HAIKEL Y., RUCH J.V.** - Aspects of cell proliferation kinetics of the inner dental epithelium during mouse molar and incisor morphogenesis: a reappraisal of the role of the enamel knot area. *Int. J. Dev. Biol.* 43, 261-267, 1999.
- COIN R., KIEFFER S., LESOT H., VONESCH J.L., RUCH J.V.** - Inhibition of apoptosis in the primary enamel knot does not affect specific tooth crown morphogenesis in the mouse. *Int. J. Dev. Biol.* 44, 389-396, 2000.
- FALCONER D.S., FRASER A.S. KING J.W.B.** - The genetics and development of crinkled, a new mutant of the house mouse. *J. Genet.* 50, 324-344, 1951.
- FERGUSON B.M., BROCKDORFF N., FORMSTONE E., NGYUEN T., KRONMILLER J.E., ZONANA J.** - Cloning of Tabby, the murine homolog of the human EDA gene: evidence for a membrane-associated protein with a short collagenous domain. *Hum. Mol. Genet.* 6, 1589-1594, 1997.



- FRAZIER-BOWERS S.A., SCOTT M.R., CAVENDER A., MENSAH J., D'SOUZA R.N.** - Mutational analysis of families affected with molar oligodontia.  
*Connect. Tissue Res.* 43, 296-300, 2002.
- GAUNT W.A.** - The development of the molar pattern of the mouse (*Mus musculus*).  
*Acta Anat.* 24, 249-268, 1955.
- GRÜNEBERG H.** - Genes and genotypes affecting the teeth of the mouse.  
*J. Embryol. Exp. Morph.* 14, 137-159, 1965.
- GRÜNEBERG H.** - The molars of the tabby mouse, and a test of the 'single-active X-chromosome' hypothesis.  
*J. Embryol. Exp. Morphol.* 15, 223-244, 1966.
- GRÜNEBERG H.** - The tabby syndrome in the mouse.  
*Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 179, 139-156, 1971.
- HEADON D.J., EMMAL S.A., FERGUSON B.M., TUCKER A.S., JUSTICE M.J., SHARPE P.T., ZONANA J., OVERBEEK P.A.** - Gene defect in ectodermal dysplasia implicates a death domain adapter in development.  
*Nature.* 414, 913-916, 2001.
- HEADON D.J., OVERBEEK P.A.** - Involvement of a novel Tnf receptor homologue in hair follicle induction.  
*Nat. Genet.* 22, 370-374, 1999.
- ISAACS K., BROWN G., MOORE G.P.** - Interactions between epidermal growth factor and the Tabby mutation in skin.  
*Exp. Dermatol.* 7, 273-280, 1998.
- JERNVALL J., KETTUNEN P., KARAVANOVA I., MARTIN L.B., THESLEFF I.** - Evidence for the role of the enamel knot as a control center in mammalian tooth cusp formation: non-dividing cells express growth stimulating Fgf-4 gene.  
*Int. J. Dev. Biol.* 8, 463-469, 1994.
- KAPALANGA J., BLECHER S.R.** - Histological studies on eyelid opening in normal male mice and hemizygotes for the mutant gene Tabby (Ta) with and without epidermal growth factor treatment.  
*Exp. Eye Res.* 52, 155-166, 1991.
- KERE J., SRIVASTAVA A.K., MONTONEN O., ZONANA J., THOMAS N., FERGUSON B., MUNOZ F., MORGAN D., CLARKE A., BAYBAYAN P., CHEN E.Y., EZER S., SAARIALHO-KERE U., DE LA CHAPELLE A., SCHLESSINGER D.** - X-linked anhidrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia is caused by mutation in a novel transmembrane protein.  
*Nat. Genet.* 13, 409-416, 1996.
- KETTUNEN P., LAURIKKALA J., ITARANTA P., VAINIO S., ITOH N., THESLEFF I.** - Associations of FGF-3 and FGF-10 with signaling networks regulating tooth morphogenesis.  
*Dev. Dyn.* 219, 322-332, 2000.
- KIEFFER S., PETERKOVA R., VONESCH J.L., RUCH J.V., PETERKA M., LESOT H.** - Morphogenesis of the lower incisor in the mouse from the bud to early bell stage.  
*Int. J. Dev. Biol.* 43, 531-539, 1999.
- KIEFFER-COMBEAU S., MEYER J.M., LESOT H.** - Cell-matrix interactions and cell-cell junctions during epithelial histo-morphogenesis in the developing mouse incisor.  
*Int. J. Dev. Biol.* 45, 733-742, 2001.
- KOLLAR E.J., BAIRD G.R.** - The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in embryonic mouse tooth germs.  
*J. Embryol. Exp. Morphol.* 21, 131-148, 1969.
- KOLLAR E.J., BAIRD G.R.** - Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. II. The inductive role of the dental papilla.  
*J. Embryol. Exp. Morphol.* 24, 173-186, 1970.
- KOPPINEN P., PISPA J., LAURIKKALA J., THESLEFF I., MIKKOLA M.L.** - Signaling and subcellular localization of the TNF receptor Edar.  
*Exp. Cell Res.* 269, 180-192, 2001.
- KRISTENOVA P., PETERKA M., LISI S., GENDRAULT J.L., LESOT H., PETERKOVA R.** - Different morphotypes of functional dentition in the lower molar region of tabby (EDA) mice.  
*Orthod Craniofac. Res.* 5, 205-214, 2002.
- KRISTENOVÁ-CERMÁKOVÁ P., PETERKA M., LISI S., LESOT H., PETERKOVÁ R.** - Postnatal lower jaw dentition in different phenotypes of tabby mice.  
*Connect. Tissue Res.* 43, 283-288, 2002.

**LAURIKKALA J., MIKKOLA M., MUSTONEN T., ABERG T., KOPPINEN P., PISPA J., NIEMINEN P., GALCERAN J., GROSSCHEDL R., THESLEFF I.** - TNF signaling via the ligand-receptor pair ectodysplasin and edar controls the function of epithelial signaling centers and is regulated by Wnt and activin during tooth organogenesis.  
*Dev. Biol.* 229, 443-455, 2001.

**LESOT H.** - Genetic control of dentition. *Front. Oral. Physiol.* 8, 1-16, 1991.

**LESOT H., VONESCH J.L., PETERKA M., TURECKOVA J., PETERKOVA R., RUCH J.V.** - Mouse molar morphogenesis revisited by three-dimensional reconstruction. II. Spatial distribution of mitoses and apoptosis in cap to bell staged first and second upper molar teeth.  
*Int. J. Dev. Biol.* 40, 1017-1031, 1996.

**LESOT H., LISI S., PETERKOVÁ R., CERMAKOVÁ P., VONESCH J.L., PETERKA M., RUCH J.V.** - Patterns of cusps formation and odontoblast differentiation during molar development in control and tabby mice. In: Brook A, editor. *Dental Morphology 2001*. Sheffield, Academic Press p 153-66, 2001.

**LESOT H., KIEFFER-COMBEAU S., FAUSSER J.L., MEYER J.M., PERRIN-SCHMITT F., PETERKOVA R., PETERKA M., RUCH J.V.** - Cell-cell and cell-matrix interactions during initial enamel organ histomorphogenesis in the mouse.  
*Connect. Tissue Res.* 43, 191-200, 2002.

**LISI S., PETERKOVA R., KRISTENOVA P., VONESCH J.L., PETERKA M., LESOT H.** - Crown morphology and pattern of odontoblast differentiation in lower molars of tabby mice.  
*J. Dent. Res.* 80, 1980-1983, 2001.

**LISI S., PETERKOVÁ R., PETERKA M., RUCH J.V., LESOT H.** - Tooth morphogenesis and pattern of odontoblast differentiation.  
*Connect. Tissue Res.* 44, sous presse, 2003.

**MIARD S., PETERKOVÁ R., VONESCH J.L., PETERKA M., RUCH J.V., LESOT H.** - Alterations in the incisor development in the Tabby mouse.  
*Int. J. Dev. Biol.* 43, 517-29, 1999.

**MIKKOLA M.L., PISPA J., PEKKANEN M., PAULIN L., NIEMINEN P., KERE J., THESLEFF I.** - Ectodysplasin, a protein required for epithelial morphogenesis, is a novel TNF homologue and promotes cell-matrix adhesion.  
*Mech. Dev.* 88, 133-146, 1999.

**MOLLOY S.S., BRESNAHAN P.A., LEPPLA S.H., KLIMPEL K.R., THOMAS G.** - Human furin is a calcium-dependent serine endoprotease that recognizes the sequence Arg-X-X-Arg and efficiently cleaves anthrax toxin protective antigen.  
*J. Biol. Chem.* 267, 16396-16402, 1992.

**MONREAL A.W., FERGUSON B.M., HEADON D.J., STREET S.L., OVERBEEK P.A., ZONANA J.** - Mutations in the human homologue of mouse dl cause autosomal recessive and dominant hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Nat. Genet.* 22, 366-369, 1999.

**PETERKOVA R.** - Dental lamina develops even within the mouse diastema.  
*J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.* 3, 133-142, 1983.

**PETERKOVA R., PETERKA M., VONESCH J.L., RUCH J.V.** - Multiple developmental origin of the upper incisor in mouse: histological and computer assisted 3-D-reconstruction studies.  
*Int. J. Dev. Biol.* 37, 581-588, 1993.

**PETERKOVA R., PETERKA M., VIRIOT L., LESOT H.** - Dentition development and budding morphogenesis.  
*J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.* 20, 158-172, 2000.

**PETERKOVA R., KRISTENOVA P., LESOT H., LISI S., VONESCH J.L., GENDRAULT J.L., PETERKA M.** - Different morphotypes of the tabby (EDA) dentition in the mouse mandible result from a defect in the mesio-distal segmentation of dental epithelium. *Orthod. Craniofac. Res.* 5, 215-226, 2002.

**PISPA J., JUNG H.S., JERNVALL J., KETTUNEN P., MUSTONEN T., TABATA M.J., KERE J., THESLEFF I.** - Cusp patterning defect in Tabby mouse teeth and its partial rescue by FGF.  
*Dev. Biol.* 216, 521-534, 1999.

**POUYET L., MITSIAKIS T.A.** - Dynamic Lunatic fringe expression is correlated with boundaries formation in developing mouse teeth.  
*Mech. Dev.* 91, 399-402, 2000.

**RUCH J.V.** - Tooth crown morphogenesis and cytodifferentiations: candid questions and critical comments. *Connect. Tissue Res.* 32, 1-8, 1995.

**RUCH J.V., LESOT H., PETERKOVA R., PETERKA M.** - Evolving rodent dentition. *Bioessays.* 19, 1041, 1997.

**SARKAR L., COBOURNE M., NAYLOR S., SMALLEY M., DALE T., SHARPE P.T.** - Wnt/Shh interactions regulate ectodermal boundary formation during mammalian tooth development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 97, 4520-4524, 2000.

**SATOKATA I., MAAS R.** - Msx1 deficient mice exhibit cleft palate and abnormalities of craniofacial and tooth development. *Nat. Genet.* 6, 348-356, 1994.

**SCHMITT R., LESOT H., VONESCH J.L., RUCH J.V.** - Mouse odontogenesis in vitro: the cap-stage mesenchyme controls individual molar crown morphogenesis. *Int. J. Dev. Biol.* 43, 255-260, 1999.

**SOFAER J.A.** - Aspects of the tabby-crinkled-downless syndrome. I. The development of tabby teeth. *J. Embryol. Exp. Morph.* 22, 181-205, 1969a.

**SOFAER J.A.** - Aspects of the tabby-crinkled-downless syndrome. II. Observations on the reaction to changes of genetic background. *J. Embryol. Exp. Morph.* 22, 207-27, 1969b.

**SRIVASTAVA A.K., PISPA J., HARTUNG A.J., DU Y., EZER S., JENKS T., SHIMADA T., PEKKANEN M., MIKKOLA M.L., KO M.S., THESLEFF I., KERE J., SCHLESSINGER D.** - The Tabby phenotype is caused by mutation in a mouse homologue of the EDA gene that reveals novel mouse and human exons and encodes a protein (ectodysplasin-A) with collagenous domains. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 94, 13069-13074, 1997.

**STOCK D.W.** - The genetic basis of modularity in the development and evolution of the vertebrate dentition. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 356, 1633-1653, 2001.

**TUCKER A.S., HEADON D.J., SCHNEIDER P., FERGUSON B.M., OVERBEEK P., TSCHOPP J., SHARPE P.T.** - Edar/Eda interactions regulate enamel knot formation in tooth morphogenesis. *Development.* 127, 4691-4700, 2000.

**VARGAS G.A., FANTINO E., GEORGE-NASCIMENTO C., GARGUS J.J., HAIGLER H.T.** - Reduced epidermal growth factor receptor expression in hypohidrotic ectodermal dysplasia and Tabby mice. *J. Clin. Invest.* 97, 2426-2432, 1996.

**VINCENT M.C., BIANCALANA V., GINISTY D., MANDEL J.L., CALVAS P.** - Mutational spectrum of the ED1 gene in X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Eur. J. Hum. Genet.* 9, 355-363, 2001.

**VIRIOT L., LESOT H., VONESCH J.L., RUCH J.V., PETERKA M., PETERKOVA R.** - The presence of rudimentary odontogenic structures in the mouse embryonic mandible requires reinterpretation of developmental control of first lower molar histomorphogenesis. *Int. J. Dev. Biol.* 44, 233-240, 2000.

**WEEKS N.L., BLECHER S.R.** - Evidence from thiol histochemistry for homology between the Tabby-crinkled syndrome in mice and human ectodermal dysplasia. *J. Histochem. Cytochem.* 31, 1407-1411, 1983.

**WEISS K.M., STOCK D.W., ZHAO Z.** - Dynamic interactions and the evolutionary genetics of dental patterning. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 9, 369-398, 1998.

**Auteur Responsable:**

Dr. Hervé LESOT

INSERM U595,

Faculté de Médecine,

11 rue Humann,

67085 Strasbourg Cedex, France.

Tel : + 33 3 90 24 31 11

Fax : + 33 3 90 24 35 64

e-mail : [Herve.Lesot@odonto-ulp.u-strasbg.fr](mailto:Herve.Lesot@odonto-ulp.u-strasbg.fr)