



Den Geheimnissen der Zahnentwicklung auf der Spur

Daniel Graf, Thimios A. Mitsiadis

Institut für Orale Biologie, Zentrum für Zahnmedizin, Universität Zürich

Zähne sind nicht einfach nur harte Gebilde im Körper, sondern lebende Organe. Das wird uns spätestens dann bewusst, wenn starke Zahnschmerzen einen Gang zum Zahnarzt unabdingbar machen. Zähne eignen sich auch als ausgezeichnetes Modellsystem, um grundlegende Probleme der Organogenese zu studieren. Wie die Bildung anderer Organe beruht auch die Zahnbildung auf sequentiellen Interaktionen von nur zwei verschiedenen Zelltypen, dem oralen Epithel und darunterliegendem Mesenchym [1] (Abb. 1 ).

Die Zahnentwicklung beginnt mit der Induktion der Zahn-Plakoden, Verdickungen des oralen Epithels, an Stellen, wo sich der Zahn bilden wird. Interaktionen zwischen dem Epithel und Mesenchym induzieren die Invagination des Epithels, die Zahnknospe bildet sich. Während des Kappen- und Glockenstadiums differenzieren die Mesenchym- und Epithelzellen weiter, und das Zahnorgan entwickelt sich nach und nach. Die Zahnhartsubstanzen formen sich aber erst während des Kronenstadiums, wenn epitheliale Ameloblasten mit der Produktion des Zahnschmelzes und mesenchymale Odontoblasten mit der des Dentins beginnen. Beide Prozesse benötigen eine hohe Spezialisierung und Koordination der involvierten Zellen. Der Zahnschmelz ist die härteste aller Körpersubstanzen, und Störungen während dessen Entstehungsprozess resultieren oft in Schmelz von verminderter Qualität, was sich als Amelogenesis imperfecta manifestieren kann. Nach dem Zahndurchbruch geht die Differenzierung weiter, muss sich doch der bleibende Zahn im Alveolarknochen verankern und nach aussen mittels einer intakten Gingiva zeitlebens vor bakterieller Infektion schützen.

Ein zentrales Element der reziproken zellulären Interaktionen während der Zahnentwicklung ist der wiederholte Gebrauch einiger weniger, evolutionär konservierter Signalprotein-Netzwerke. Dazu zählt auch dasjenige der *Bone Morphogenetic Proteins* (BMP, Knochen-Morphogenetische Proteine). BMP sind sezernierte Proteine der Familie der Tumor-Wachstumsfaktoren- β (TGF β) und regulieren viele zentrale Aspekte der Gewebeentwicklung und -homöostase [2]. Das BMP-Signalnetzwerk unterliegt sowohl intrazellulär als auch extrazellulär einer strengen Kontrolle. Im extrazellulären Raum regulieren eine Reihe von BMP-Antagonisten die Bindung von BMP an ihre Rezeptoren (Abb. 2 ). Mutationen in der BMP-Signalkaskade manifestieren sich in mannigfaltigen Entwicklungsstörungen. Mäuse, denen einzelne Komponenten fehlen, überleben häufig nicht bis zur Geburt. Elemente der BMP-Signalkaskade werden während aller Stadien der Zahnentwicklung und auch im erwachsenen Zahn exprimiert. Im Generellen ist unser Verständnis über

deren Funktionen noch sehr lückenhaft, doch wissen wir, dass das Fehlen eines BMP-Rezeptors im Zahnepithel zum Stopp der Zahnentwicklung im Knospenstadium führt.

Zielsetzung und Hypothese

Gewebeentwicklung, Homöostase und Reparatur basieren auf zellulären und molekularen Interaktionen, die laufend überprüft werden müssen. Ein wichtiges Element dabei ist das BMP-Signalnetzwerk. Gemäss dem Expressionsmuster seiner Komponenten erfüllt es für den gesamten Zahnentwicklungsprozess wichtige Funktionen. Darauf basierend gehen unsere Untersuchungen folgenden Fragen nach:

- 1) Wie regulieren BMP-Signale die Induktion eines Zahnes?
- 2) Wie wirken BMP-Signale auf die Ausprägung der Zahnform und des Zahntyps (Schneidezahn, Eckzahn, Backenzahn)?
- 3) Welche Rolle spielen BMP-Signale während der Bildung und Erhaltung der Zahnwurzel und des Zahnhalteapparats?

Die letzte Frage ist besonders für erwachsene Zähne relevant, da klinische Probleme wie Parodontose damit verbunden sind. Bei unseren Untersuchungen betrachten wir sowohl BMP wie auch deren Antagonisten mit dem Ziel, die räumliche Regulation der BMP-Signalkaskade besser verstehen zu können. Wir erhoffen uns davon nicht nur Einblicke in die Embryonalentwicklung, sondern auch ein besseres Verständnis von fundamentalen Prozessen, was sich hoffentlich auf zukünftige Behandlungsmöglichkeiten in der Zahnmedizin auswirken wird.

Methodik

Das Studium der Zahnentwicklung in der Maus ermöglicht es uns, einzelne Entwicklungsschritte des Zahns genauer zu untersuchen, weil die Zahnentwicklung bei der Maus der des Menschen in vielen Punkten sehr ähnlich ist. Die Möglichkeiten der Mausgenetik erlauben es zudem, die Funktion einzelner Gene gezielt zu untersuchen: Gene können in der Keimbahn inaktiviert werden – dies wird als «Gen-Knockout» bezeichnet, und daraus folgende phänotypische Veränderungen lassen Rückschlüsse auf die Funktion des Gens im Organismus zu. Führt das Fehlen eines Gens zu einer beeinträchtigten Lebensfähigkeit des Organismus, kann das Gen

Die Autoren haben keine finanzielle Unterstützung und keine anderen Interessenkonflikte im Zusammenhang mit diesem Beitrag deklariert.

gezielt in einzelnen Geweben oder Zelltypen entfernt werden, wobei man von einem «konditionellen Gen-Knockout» spricht.

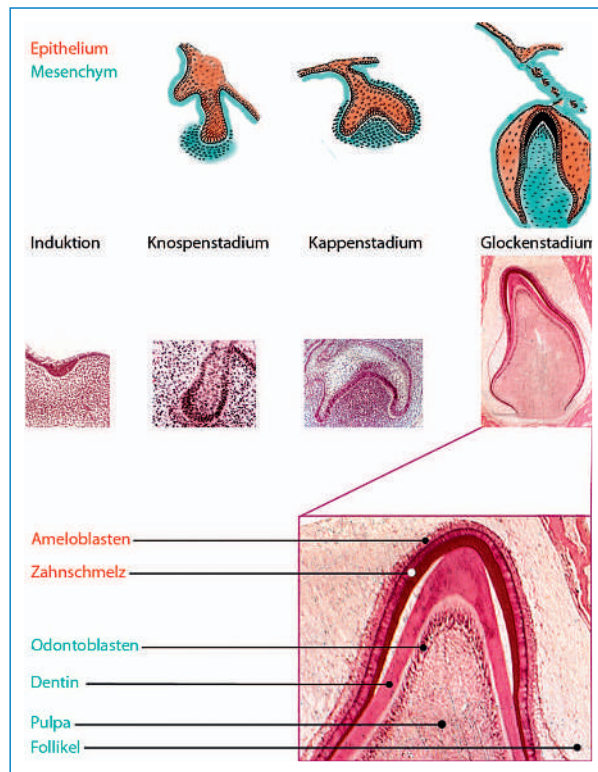


Abbildung 1
 Stadien der humanen embryonalen Zahnentwicklung:
 Die schematischen Darstellungen zeigen epitheliale und vom Epithel abstammende Gewebe (Ameloblasten und Zahnschmelz – orange) sowie mesenchymale und vom Mesenchym abstammende Gewebe (Odontoblasten, Dentin, Pulpa und Zahnfollikel – hellblau). Die korrespondierenden histologischen Schnitte sind mit Hematoxylin gefärbt.

Wir können auch die Expression eines Gens im Organismus detailliert darstellen, wenn wir das Gen durch ein Reporter- oder Indikatorgen ersetzen. Häufig wird dazu das Beta-Galactosidase-Enzym benutzt, das über eine einfache Farbreaktion nachgewiesen werden kann. Diese Art von Darstellung ist äusserst sensitiv und ermöglicht es, ganze Gewebeteile *in situ* anzufärben (Abb. 3). Die genaue Kenntnis der Gen-Expression bildet die Grundlage für das Verstehen phänotypischer Veränderungen im Knockout-Modell.

Die phänotypische Analyse erfolgt dann während verschiedener Entwicklungsstadien mit histologischen, immunohistochemischen und mikroskopischen Methoden. Zahnkeime oder isolierte Gewebe werden auch in der Zellkulturschale kultiviert und manipuliert, um gezielt Hypothesen zu testen. Dabei spielen molekularbiologische Methoden wie Gen-Expressionsanalysen eine wichtige Rolle. Ziel ist es, die molekularen und zellulären Interaktionen im Gewebe so gut zu beschreiben, dass gezielte Interventionsmöglichkeiten vorgeschlagen und getestet werden können. Die Maus bietet zudem den Vorteil, dass die Bildung des Zahnschmelzes, den wir beim Menschen nur als «Endprodukt» sehen, im stetig nachwachsenden Schneidezahn des Nagers in allen Entwicklungsstadien untersucht werden kann. Untersuchungen am erwachsenen Zahn erlauben uns, die Physiologie der Gingiva, des Parodonts und der Zahnwurzel besser zu verstehen.

Wichtigste Ergebnisse

Expressionsanalysen zeigen eine dynamische, das heisst stetig wechselnde Expression von BMP und deren Antagonisten während der gesamten Zahnentwicklung [3]. Funktionelle Analysen zeigen, dass die Gen-Expressionsmuster mit definierten phänotypischen Veränderungen einhergehen können. Mäusen, denen *Bmp7* gänzlich fehlt, fehlen häufig Zähne, was gut mit der Expression in Neuralleistenzellen und dem Epithel der Zahnplakode einhergeht [4]. Generell ist die epitheliale Verdickung der Zahnplakode BMP-positiv, die unmittelbare Umgebung exprimiert BMP-Antagonisten, was auf eine Rolle für die Lokalisation des Zahns im Gewebe hinweist. Die BMP-Expression im sich entwickelnden Zahn ist häufig asymmetrisch, was auf eine Rolle für die Zahnform hindeutet. In späteren Stadien geht die BMP-Expression im Zahnepithel mit Schmelzbildung einher, schmelzfreie Bereiche exprimieren dafür BMP-Antagonisten. Die BMP-Expression in der Pulpa ist mit deren Differenzierung, die BMP-Expression in Odontoblasten mit der Dentinproduktion assoziiert. Entsprechend geht die epitheliale Ablation von BMP mit Veränderungen im Zahnschmelz einher, während mesenchymale Ablation Dentinstörungen hervorruft. Von besonderem Interesse ist jedoch die Präsenz des BMP-Signalnetzwerks in der Gingiva, im Parodont, in der Zahnwurzel des erwachsenen Zahns sowie in der Pulpa, in der Zahnstammzellen vorhanden sind (Abb. 3). Gezielte funktionelle Experimente werden zurzeit durchgeführt, um über die Rollen der BMP-Signale in diesen Bereichen Aufschluss zu erhalten.

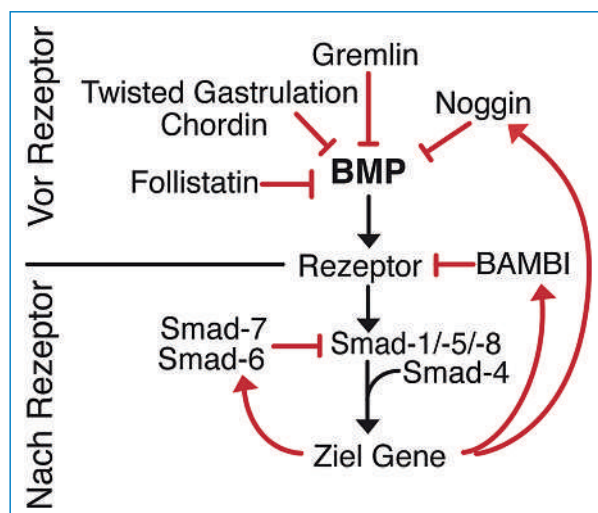


Abbildung 2
 Schematische Darstellung der BMP-Signalkaskade: Die BMP-Signalkaskade wird sowohl im extrazellulären Raum vor der Rezeptorbindung mittels BMP-Antagonisten (z.B. Noggin, Gremlin, Chordin, Twisted Gastrulation) als auch auf Rezeptorebene oder nach dem Rezeptor mittels spezifischer Inhibitoren (BAMBI, Smad-6/-7) präzise kontrolliert. Rückmeldungen erfolgen über induzierte Zielgene, die Inhibitoren (Smad-6/-7) oder Antagonisten (Noggin) kodieren können.

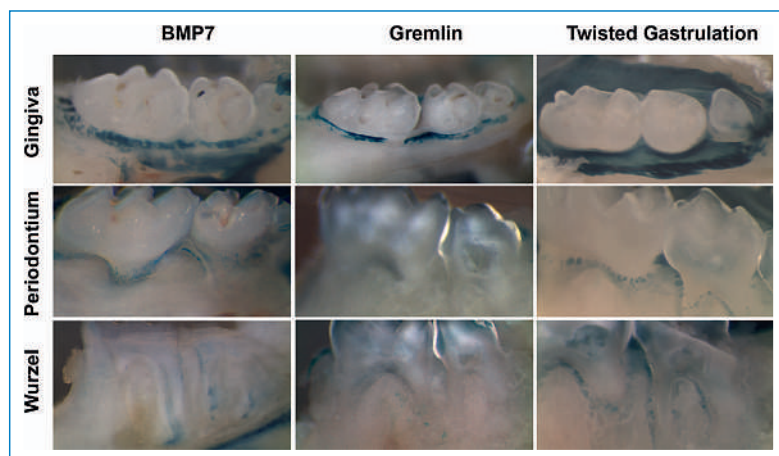


Abbildung 3

Expression von BMP und BMP-Antagonisten im erwachsenen Zahn: *BMP7* (linke Spalte), *Gremlin* (mittlere Spalte) und *Twisted Gastrulation* (rechte Spalte) sind in unterschiedlichen Domänen in der Gingiva (oberste Reihe), dem Periodontium (mittlere Reihe) und der Wurzel (untere Reihe) erwachsener Mausmolaren exprimiert. Nachweis der Expression mittels Beta-Galactosidase-Aktivität (blau) in präparierten Zähnen von entsprechenden LacZ-Reporter-Mäusen.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Forschung der letzten Jahre hat gezeigt, dass BMP-Signale in fast allen Geweben vielfältige Rollen haben und dabei die verschiedensten Aspekte der Zelldifferenzierung regulieren [5]. Nicht ohne Grund wurde deswegen vor Kurzem vorgeschlagen, dass das Kürzel BMP eigentlich für «Body Morphogenetic Protein» stehen sollte [5]. In diesem Sinn unterstreichen unsere Arbeiten die Bedeutung des BMP-Signalnetzwerks im Zahnorgan. Da Geweberegeneration und Embryonalentwicklung viele gemeinsame Aspekte haben, ist es wichtig, die Funktionen von Wachstumsfaktoren während der Gewebeentwicklung genau zu verstehen. Dies sollte deren gezielten Einsatz zum Aufbau von neuem Gewebe in regenerativen Therapien erlauben. Unsere Studien zeigen eine zentrale Beteiligung der BMP-Signalkaskade an verschiedenen Stadien der Zahnentwicklung. Darin eingeschlossen sind die Bildung des Zahnschmelzes, des Dentins, der Wurzel und des Zahnhalteapparats.

Obwohl der Einsatz von BMP in der Klinik ein grosses Potential hat, sind erst BMP2 und BMP7 für einige wenige orthopädische Anwendungen zugelassen. Es ist deswegen von besonderem Interesse, die Funktionen des BMP-Signalnetzwerks in klinisch bedeutenden pathologischen Veränderungen zu verstehen. Die Expressionsmuster verschiedener Mitglieder des BMP-Signalnetzwerks in der Gingiva, im Parodont und in der Wurzel des erwachsenen Zahns könnten auf wichtige Rollen beim Erhalt dieser Strukturen hindeuten. Veränderungen in der BMP-Aktivität können auch systemische Folgen haben, wie etwa Diabetes. Da Diabetes mit Parodontose verbunden ist, wird es wichtig sein zu prüfen, ob ein Zusammenhang mit dem BMP-Netzwerk besteht. Insgesamt erhoffen wir uns von unseren Arbeiten nicht nur ein besseres Verständnis der Zahnbiologie, sondern auch, dass sich dadurch neue Möglichkeiten für therapeutische Interventionen eröffnen.

Verdankung

Dieses Forschungsprojekt wird mit den grosszügigen Unterstützungen des Schweizerischen Nationalfonds, Forschungs-Grant-Nr. 31003A_135530, und der Universität Zürich ermöglicht.

Korrespondenz:

Dr. Daniel Graf
 Institut für Orale Biologie
 Zentrum für Zahnmedizin
 Universität Zürich
 Plattenstrasse 11
 CH-8032 Zürich
[daniel.graf\[at\]zzm.uzh.ch](mailto:daniel.graf[at]zzm.uzh.ch)

Literatur

- Mitsiadis TA, Graf D. Cell fate determination during tooth development and regeneration. *Birth Defects Research Part C*. 2009;87(3): 199–211.
- Chen D, Zhao, Ming, Mundy GR. Bone Morphogenetic Proteins. *Growth Factors*. 2004;22(4):233–41.
- Aberg T, Wozney J, Thesleff I. Expression patterns of bone morphogenetic proteins (Bmps) in the developing mouse tooth suggest roles in morphogenesis and cell differentiation. *Dev Dyn*. 1997;210(4):383–96.
- Zouvelou V, Luder HU, Mitsiadis TA, Graf D. Deletion of BMP7 affects the development of bones, teeth, and other ectodermal appendages of the orofacial complex. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*. 2009;312B: 361–74.
- Wagner DO, Sieber C, Bhushan R, Börgermann JH, Graf D, Knaus P. BMPs: from bone to body morphogenetic proteins. *Sci Signal*. 2010; 3(107):mr1.