

若野洋一歯科臨床医学奨励賞受賞講演

線維芽細胞増殖因子受容体の変異と骨系統疾患

谷本 起穂

キーワード：線維芽細胞増殖因子受容体，先天性骨系統疾患，骨芽細胞分化，
頭蓋冠縫合部早期癒合症

Mutations of Fibroblast Growth Factor Receptors and Skeletal Disorders

Yukiho TANIMOTO

Abstract : Mutations of the human fibroblast growth factor receptors (FGFRs) have been identified to be the cause of a number of craniosynostosis syndromes such as Crouzon, Pfeiffer, Jackson-Weiss, Apert, Beare-Stevenson, and Muenke syndromes. The importance of FGFs/FGFR2 signaling in the cranial suture and limb bud development has been widely reported. It is postulated that FGFR2 signaling is essential for osteogenic cell differentiation and proliferation during the process of suture growth and closure because FGFR2 transcripts are expressed at the osteogenic fronts in developing calvarial bone. So, the mutation of FGFR may stimulate differentiation and/or proliferation in osteoblasts. We have recently reported an abnormal rapid mineralization of the callus during distraction osteogenesis of the deformed thumb in an Apert syndrome patient. Consistent with the previous genetic and biochemical studies, these clinical findings have raised a possibility that the S252W mutation of the FGFR2 may directly cause the unusual differentiation of the bone cells. These results provide that activation of FGFR2IIIc caused by the S252W mutation promotes osteoblast phenotype and that a soluble form of FGFR2 with S252W mutation controls osteoblast differentiation.

I. はじめに

線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor; FGF) は、線維芽細胞に対して増殖活性を有する因子として、脳下垂体や脳の抽出物から精製された。しかしその後の機能解析が進むにつれ、FGF は単なる線維芽細胞増殖因子ではなく、形態形成因子、組織修復因子、代謝調節因子として機能する多機能性分泌因子であることが明らかとなってきた。これら複雑な機能は、線維芽細胞増殖因子受容体 (fibroblast growth factor receptor; FGFR) を介して標的細胞にシグナルを伝達することで発揮される。FGFR1~3 遺伝子の変異に起因するヒト疾患として、頭

蓋冠縫合部早期癒合症、軟骨異形成症等の骨・軟骨疾患が報告され、従来形態学的診断に依存していた骨系統疾患に遺伝子診断が導入されてきている。さらに、原因遺伝子が同定されたことで、より病態生理に基づいた治療法の開発が強く望まれている。そこで本稿では、FGFR の変異と骨系統疾患の関係について最近の知見を交えながら概説し、これら骨系統疾患に対する新規治療法開発への試みについて述べたい。

II. FGFR の構造と機能

FGFR はチロシンキナーゼ型レセプターファミリーに

属し、FGFR1-4の4種類が同定されている。構造は、細胞外領域に免疫グロブリン様領域 (Ig domain), 酸性ボックス領域, 膜貫通領域, 細胞内領域には2個のチロシキナーゼ領域を有する (図1)。FGFR1-3のゲノムにはIg IIIの後半部分をコードする exon が2つ (IIIb, IIIc) あり, この部分の組織特異的なスプライシングによってFGFR2では, IIIb アイソフォームは上皮系細胞に, IIIc アイソフォームは間葉系細胞に発現し, 異なるリガンド特異性を有する。頭蓋冠縫合部における骨成長及び肢芽の発生にFGFR/FGFシグナルが重要な役割を担っている事が報告されているが¹⁻³⁾, 中でもFGFR2IIIc遺伝子が発生中の頭蓋骨の osteogenic front に局限して発現することから, FGFR2シグナルは頭蓋縫合部における骨芽細胞の増殖, 分化に重要であることが伺われる²⁾。また, 最近の興味深い知見で, マウスの前頭縫合が他の縫合部と異なり生後約7週齢で癒合することに着目し, この現象は, FGFシグナルが bone morphogenetic protein (BMP) のアンタゴニストである Noggin の発現を前頭縫合で特異的に低下させ, 間接的に BMPシグナルを促進させることで生ずることが報告されている⁴⁾。FGFR2IIIcは膜性骨化のみならず軟骨内骨化にも影響を与えることから, 長管骨の形成異常の病態成立にFGFR2IIIb/cのシグナル異常が関与する可能性も示唆される。FGFR2のノックアウトマウスは胎生致死である⁵⁾が, ノックアウトマウスのキメラマウスおよびFGFR2IIIbのコンディ

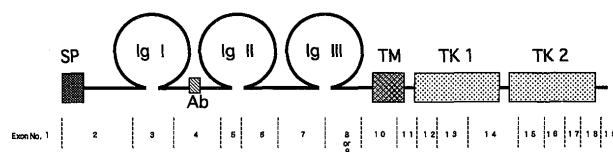


図1 FGFRの構造
対応するエクソンを数字で示した。SP:シグナルペプチド, Ab:酸性ボックス領域 (acidic box domain), IgI ~ III: Ig領域I ~ III, TM:膜貫通領域, TK1, 2:チロシキナーゼ領域1, 2。

ショナルノックアウトマウスの解析の結果, FGF10ノックアウトマウス³⁾と同様に四肢・肺が形成されないことが報告されている。興味深いことに, FGF18ノックアウトマウスでは骨芽細胞前駆細胞において特異的に細胞増殖能の低下が認められると共に, 成熟骨芽細胞への分化が抑制された⁶⁾。また, FGFR2IIIcコンディショナルノックアウトマウスは, FGF18ノックアウトマウスと同様, 骨形成遅延を呈した⁷⁾ (表1)。以上の所見から, FGF/FGFR2シグナルは, 骨芽細胞の分化段階によって異なる作用, すなわち, 細胞増殖と細胞分化の亢進といった一見相反する作用を示すことが明らかになった (図2)。

表1 FGFRノックアウト (KO) マウスの表現系 (文献22より引用 (一部改変))

遺伝子	遺伝子破壊の種類	表現形質
Fgfr1	KO	発生遅延, 中胚葉パターニング異常, 胚性致死 E7.5~9.5
	KO細胞キメラ	原条からの細胞移動不全, 肢芽形成異常
	Aアイソフォーム特異的KO	肢芽形成異常 (先端部短縮) 胚体後方形形成異常により胚性致死 E9.5~12.5
	IIIbアイソフォーム特異的KO	正常に発生
	IIIcアイソフォーム特異的KO	原腸形成異常, 胚性致死
	軟骨組織特異的KO (Col2al-Cre)	正常に発生
	嗅脳特異的KO (Foxg1-Cre)	嗅球形成異常
Fgfr2	中脳・後脳特異的KO (En1-Cre, Wnt1-Cre)	小脳・中脳形成異常, 中脳・後脳境界形成異常, 運動失調
	KO	胚性致死 E4.5~5.5
	IIIbおよびIIIcアイソフォーム特異的KO	胎盤形成異常により胚性致死 E9.5~12.5 野生型胎盤によるレスキュー実験では多臓器不全により出生時致死
	IIIbアイソフォーム特異的KO	肺・腎臓を含む多臓器の形成不全により出生時致死
	IIIcアイソフォーム特異的KO	頭蓋底の骨化遅延, 長骨および体幹骨格の低形成 (短縮)
骨組織特異的KO (Dermo1-Cre)	長骨および体幹骨格の低形成 (短縮), 骨密度低下	
Fgfr3	KO	骨組織過形成, 内耳異常
Fgfr4	KO	形態的には正常, 肝機能異常
Fgfr3/Fgfr4	KO	成長遅延, 生後数ヶ月で死亡, 肺泡形成不全

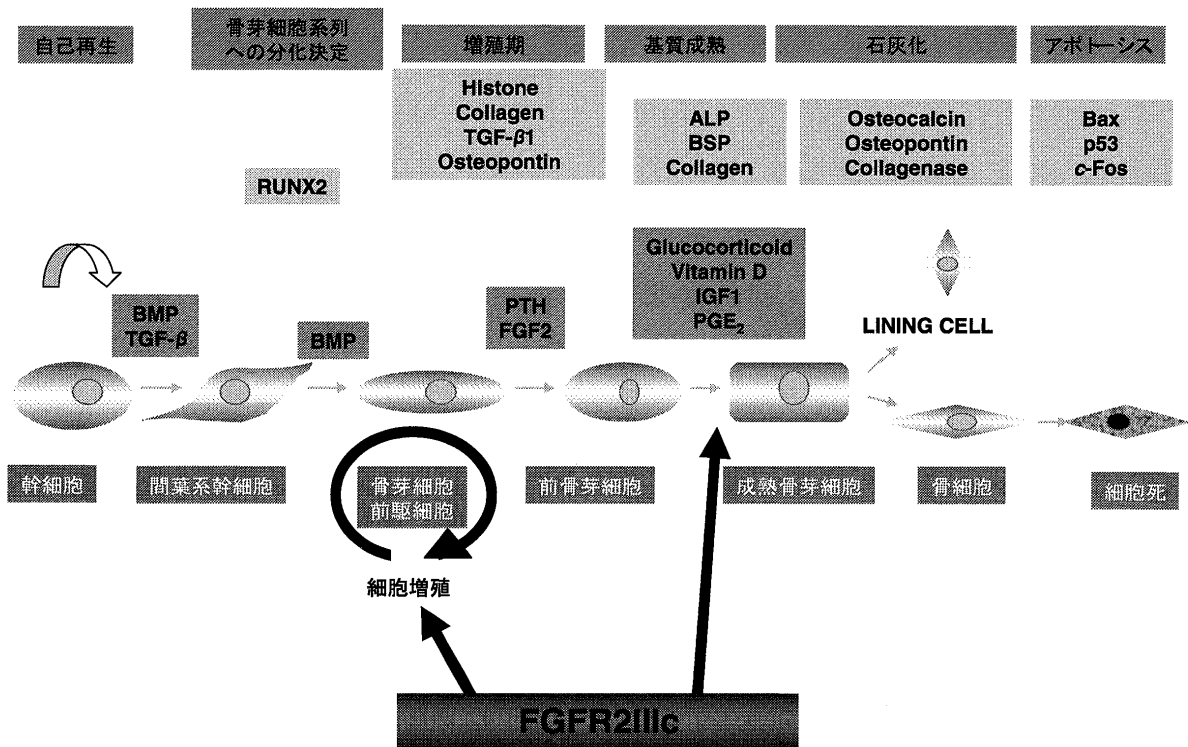


図2 骨芽細胞の分化と成熟

骨芽細胞は未分化間葉系幹細胞に由来する。未分化間葉系幹細胞は、BMP (Bone Morphogenetic Protein) などの作用により、Runx2 等の転写因子が活性化されることにより骨芽細胞前駆細胞へと分化の方向付けを受ける。その後、分化段階に応じて、様々な成長因子、サイトカイン、ホルモン、細胞外基質蛋白による制御を受けながら分化を続け、骨基質蛋白合成や、骨基質石灰化など骨芽細胞特異的な機能を獲得しつつ成熟する。また、骨芽細胞はその分化段階に特異的な遺伝子を発現することが知られており、これらマーカー遺伝子発現は分化指標とされている。骨芽細胞は最終的には骨基質内で骨細胞となり、アポトーシスにより細胞死を迎える。FGFR2IIIc は未分化な骨芽細胞前駆細胞には増殖促進作用を示すと同時に、分化段階後期においては成熟骨芽細胞への成熟を促進させる。

III. FGFR からの細胞内シグナル伝達

FGF/FGFR シグナルは様々な役割を果たすが、複数のリガンド (FGFs) が複数の受容体 (FGFRs) に時には特異性を、時には重複性をもって結合し、さらに FGFR 以下のシグナル伝達は、他のサイトカインや増殖因子と共通の経路が存在しクロストークすることから非常に複雑である。そこで本稿では、代表的な FGFR の下流シグナル伝達経路について概説する。

FGFR にリガンドが結合すると、受容体は二量体を形成し、細胞内領域のチロシン残基がリン酸化され、シグナル伝達複合体形成が進行する。それ以降の細胞内情報伝達経路で代表格は、Ras/MAPK (mitogen-activated protein kinase) 経路、PLCγ (phospholipase Cγ)/Ca²⁺ 経路、および PI3K (Phosphatidylinositol 3 kinase)/Akt 経路である^{8, 9)}。Ras/MAPK 経路では、膜タンパク質であるドッキング分子 FRS2 (FGF receptor substrate 2) は、FGFR の活性化に伴いチロシンリン酸化を受けると、アダプタータンパク質である Grb2 (growth factor receptor bound

protein 2) およびチロシンホスファターゼ Shp2 (Src homology 2 domain protein tyrosine phosphatase 2) によって認識され結合する。グアニンヌクレオチド転換因子 SOS (son of svenless) は Grb2 と複合体を形成しているが、FRS と結合することによって細胞膜付近に移動し、細胞膜に結合する Ras を活性化して下流の MAPK 経路へとシグナルが伝達され、c-myc や AP1, Ets ファミリー等転写因子を介してターゲット遺伝子へとシグナルが伝わる。PLCγ/Ca²⁺ 経路では、活性化された PLCγ が PIP₂ (phosphatidylinositol 4, 5 diphosphate) を加水分解し、IP₃ (inositol 1, 4, 5 triphosphate) と DAG (diacylglycerol) が産生される。IP₃ は小胞体からの Ca²⁺ の放出を促進し、DAG は PKC を活性化する。PI3K/Akt 経路は MAPK 経路と平行して作用し、セリンスレオニンキナーゼ Akt/PKB に FGFR からのシグナルが伝達され、直接あるいは間接的に標的タンパク質の活性を制御している (図 3)。

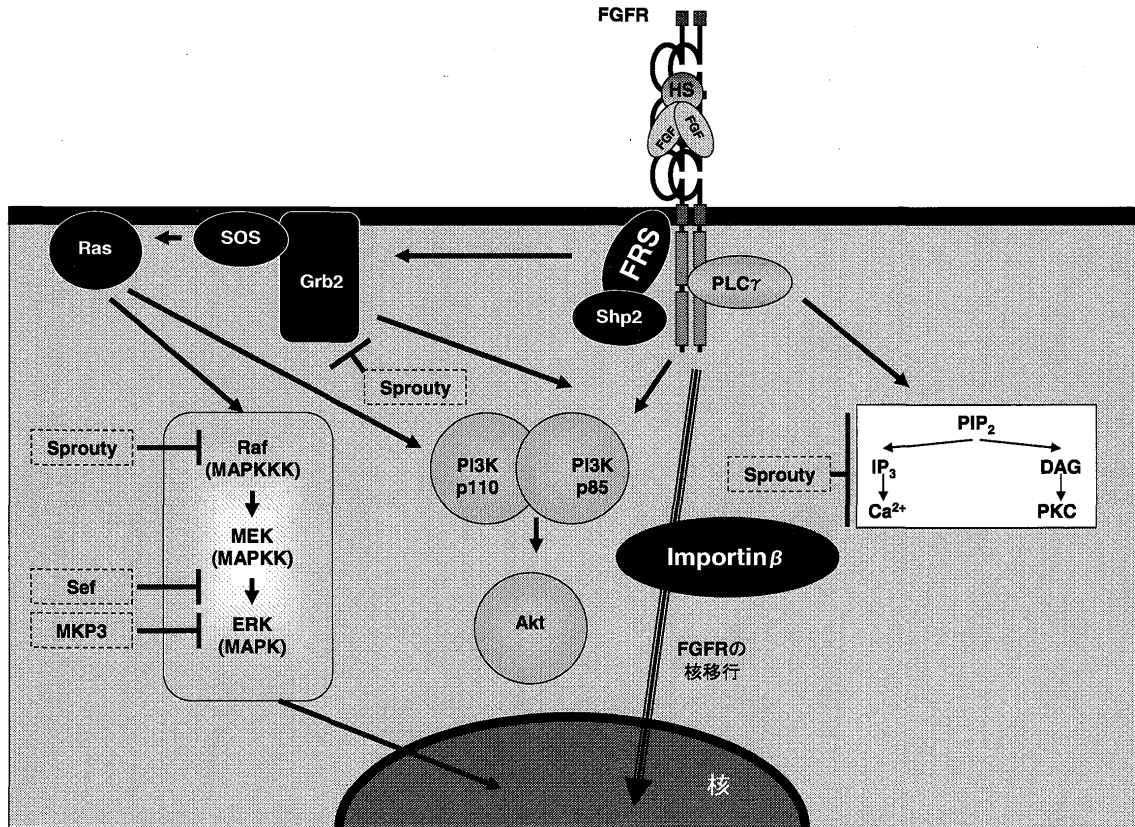


図3 FGFRの細胞内シグナル伝達経路 (文献8, 9より引用 (一部改変))

FGFRの下流ではRas/MAPK (mitogen-activated protein kinase) 経路, PLC γ (phospholipase C γ)/Ca $^{2+}$ 経路, およびPI3K (phosphatidylinositol 3 kinase)/Akt 経路の3つの経路が同定されている。これら経路にはSprouty, Sef, MKP3等の負の調節分子が存在する。

IV. FGFRの変異と骨系統疾患

1994年に軟骨無形成症及びCrouzon症候群の責任遺伝子がFGFRであることが報告され^{10, 11)}, Pfeiffer, Jackson-Weiss, Apert, Beare-stevenson, Muenke症候群等の頭蓋冠縫合部早期癒合 (craniosynostosis) を主症状とする骨系統疾患の原因遺伝子が次々と明らかにされている (図4)。これら遺伝子変異により, FGFRはgain of functionとして機能するため, FGFRのシグナルが発生・分化に重要な役割を担う骨軟骨系組織に強く異常が現れると考えられている。Apert症候群は主に冠状縫合部の早期癒合, 中顔面部の劣成長と眼球突出を呈し, 種々の程度で四肢の合指症を伴う常染色体優性遺伝性の先天疾患である。発症率は約100万出生中15.5人で, 頭蓋早期癒合症症例の内, 約4.5%を占める¹²⁾。ほとんどが散発例であり, 父親の高年齢と父親由来の新生突然変異の間の相関が証明された疾患の一つである¹³⁾。Apert型点変異はほぼ100%がFGFR2の2つの変異部位 (S252W/P253R) に限局しており¹⁴⁾, S252WはP253Rよりも発生頻度が高い。P253Rでは合指症はより重症となり, S252Wでは口蓋裂が58.5%と高頻度に認められる。Apert型変異 (FGFR2S252W) がFGFR2のリガン

ド特異性を喪失させるため, FGFR2IIIcS252WはFGF7, FGF10との反応性が生ずると報告されている¹⁵⁾。また, Andersonらはリガンド親和性の上昇を示し¹⁶⁾, この二つの機序によってFGFR2はgain of functionとなることが知られているが, 本疾患の病態成立機序にどのように関わっているかは不明である。

V. FGFR2異常に起因した骨系統疾患の新規治療法開発に向けての試み

Fragaleらは, Apert症候群患者 (P253R) 頭蓋冠由骨芽細胞様細胞の増殖能低下と分化の促進を報告しており¹⁷⁾, また, Lemonnierらは同様にApert症候群患者 (S252W) 頭蓋冠由骨芽細胞様細胞の分化亢進を示し, この現象はプロテインキナーゼC非依存的な転写後調節によるFGFR2の発現抑制を伴うと報告している¹⁸⁾。また, 著者らは, Apert症候群患者の拇指骨延長術施行中に観察された早期石灰化という臨床所見¹⁹⁾に着目しApert症候群患者 (S252W) 手指骨由来骨芽細胞様細胞の表現系を解析した結果, 骨芽細胞分化と石灰化能が亢進していること, さらに, Apert変異を含むFGFR2 (FGFR2IIIcS252W) はヒト骨肉腫由来MG63骨芽細胞

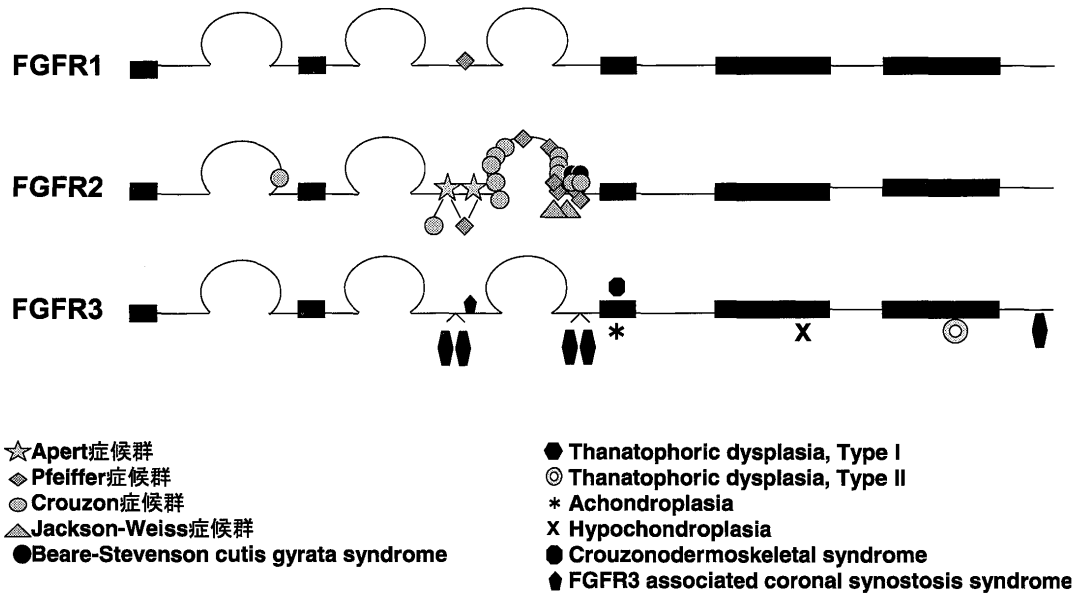


図4 FGFRの変異部位と先天性骨系統疾患 (文献21より引用 (一部改変))

四肢短縮型 dwarfism を特徴とした軟骨無形性症は FGFR3 に変異が見つかっており、頭蓋冠早期癒合症を呈する骨系統疾患は FGFR2 にその多くが遺伝子変異を伴っている。なかでも IgIII に変異が集中している。Apert 症候群はほぼ100%で IgII と IgIII のリンカー領域での変異 (S252W, P253R) を認め、遺伝子変異と表現型の相関性が指摘されている。

の増殖を抑制し、分化及び石灰化を強力に促進させることを示されている²⁰⁾。したがって、これら骨芽細胞機能異常が Apert 症候群の病態成立に密接に関与する可能性が考えられる。近年著者らは、Apert 型変異受容体がリガンド依存的に活性化される点に注目し、機能抑制的なアプローチとして可溶型 FGFR2 を作製した。FGFR2 の膜貫通領域以下を欠失した可溶型受容体は、FGF との結合領域を保持するため、膜結合型受容体への FGF の結合を抑制し、ドミナントネガティブ受容体として機能すると考えられた。また、機能獲得型変異を伴う受容体は、その変異の特性から、作用範囲の拡大および作用強度の増強が期待された。臨床的には、血行性に遠隔臓器に達することや、組み換えタンパクとして応用可能であることが利点である。作製した可溶型 FGFR2IIIcS252W は、MG63 細胞増殖試験、およびマウス器官培養系において FGF2 に対する拮抗作用を示し、FGFR2IIIcS252W 恒常発現 MG63 細胞が示した分化・石灰化の異常亢進を有意に抑制した²⁰⁾ (図5)。したがって、可溶型 FGFR2IIIcS252W は Apert 型変異によってもたらされる骨芽細胞の分化異常を制御する上で有効な手段の一つになる可能性が考えられる。今後、これら変異を利用した可溶型受容体について個体レベルでの安全面の問題や適応方法等を検討し、題頭蓋顔面骨格に異常をきたす先天異常の病態成立機序に基づいた新たな治療法の開発の一助となることが期待される。

VI. おわりに

顎顔面領域に重篤な形態異常を呈する先天性骨系統疾患患者の咬合機能、および審美性回復には総合的な医療サポートを長期にわたって必要とする。近年、骨延長術が顎顔面領域に応用されはじめ、治療法の選択肢が増えたことでより質の高い医療サービスが提供されるようになってきた。しかしその一方で、治療の大部分が患者の身体的負担の大きな外科的療法に依存しているのが現状である。本稿では、先天性骨系統疾患に対する非侵襲的な治療法として変異を含んだ可溶型受容体について報告したが、先天異常に対する治療法の開発には倫理的な課題、安全性の問題も数多く残されている。今後先天性骨系統疾患の病態成立機序が詳細に解明され、より本質的な治療法の開発がなされるよう、基礎的・臨床的な研究のさらなる発展が望まれる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御校閲・御教示を賜りました徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部口腔顎顔面矯正学分野森山教授に深く感謝いたします。また御支援・ご協力をいただいた徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部形成外科学分野中西秀樹教授、松本和也助教授に御礼申し上げます。また、数々の御支援をいただいた口腔顎顔面矯正学分野の関係諸先生方に深謝いたします。

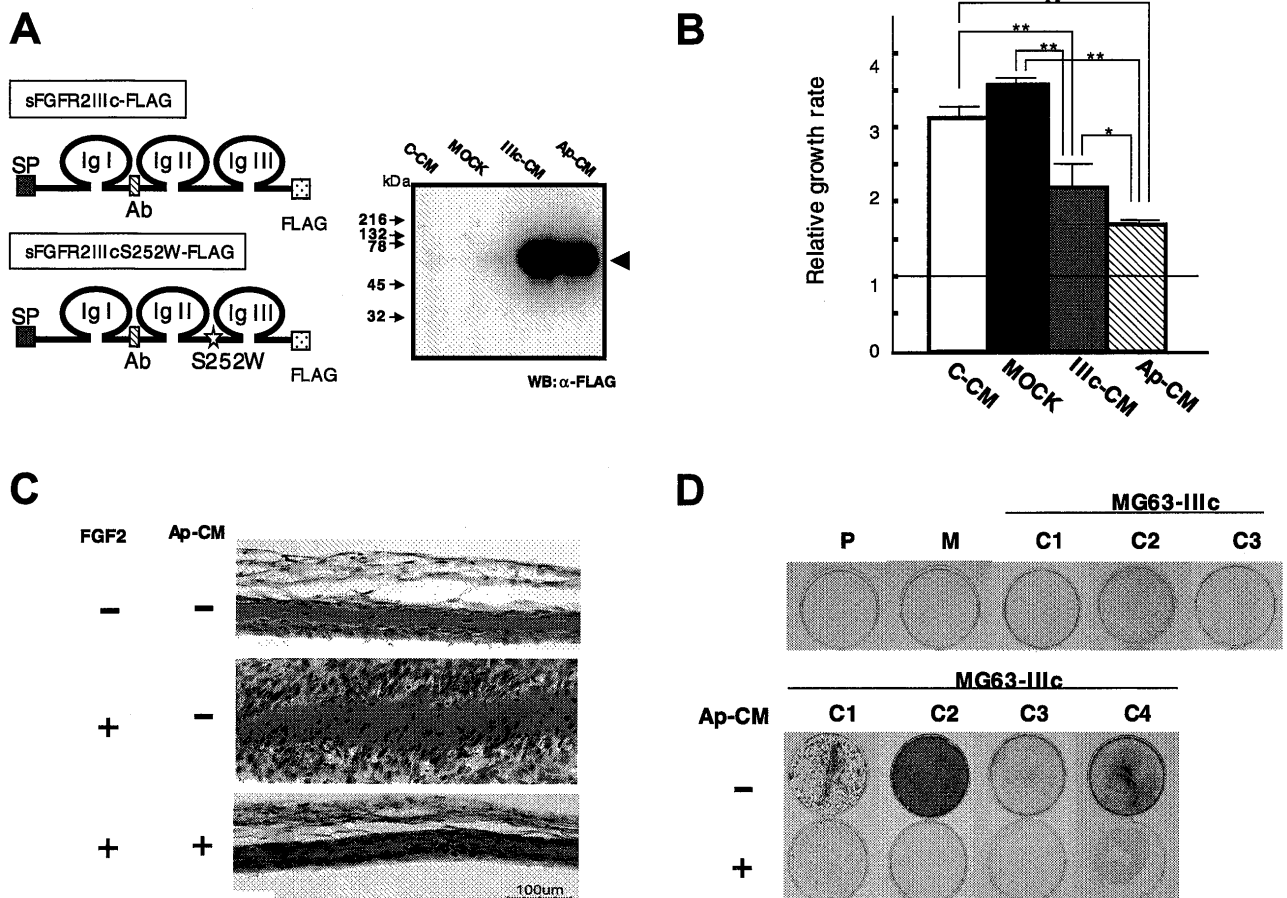


図5 FGFRの変異部位と先天性骨系統疾患 (文献21より引用 (一部改変))

可溶性 FGFR2IIIc-FLAG, FGFR2IIIcS252W-FLAG (sFGFR2IIIc-FLAG, sFGFR2IIIcS252W-FLAG の複製とその生物学的作用の検索 (文献20より引用 (一部改変))

(A) FGFR2IIIc-FLAG または FGFR2IIIcS252W-FLAG の細胞外領域のみをコードする可溶性受容体 (sFGFR2IIIc-FLAG, sFGFR2IIIcS252W-FLAG) の模式図。各発現ベクターを COS-1 細胞に一過性に強制発現させ、その調整培養液中 (conditioned medium: CM) における sFGFR2IIIc-FLAG, sFGFR2IIIcS252W-FLAG の発現について抗 FLAG 抗体を用いたウェスタンブロット法にて検索した。

(B) MG63 細胞の増殖に対する sFGFR2IIIc-FLAG, sFGFR2IIIcS252W-FLAG を含む CM (IIIc-CM, Ap-CM) の作用を MTT 法によって検索した。非トランスフェクション COS-1 より得られた CM (C-CM) および空ベクタートランスフェクション COS-1 より得られた CM (MOCK-CM) 存在下では FGF2 (20 ng/ml) は MG63 細胞の増殖を有意に促進させたが、IIIc-CM, Ap-CM の添加 (10%) によってこの増殖促進作用は有意に阻害され、この阻害作用は IIIc-CM に比べて Ap-CM の方がより顕著であった。*: $p < 0.01$, **: $p < 0.001$ 。(C) 生後 2 日齢新生仔マウス頭蓋冠器官培養系に及ぼす Ap-CM の作用を検討した。FGF2 (20 ng/ml) 添加によってマウス頭蓋冠骨芽細胞の盛んな増殖と、骨の新生が観察された (中段) が、Ap-CM 添加によりこの作用は顕著に阻害され、コントロール (上段) と同レベル (下段) になった。(D) 培養開始 7 日後では、ヒト骨肉腫由来骨芽細胞 MG63 (MG63-P) は全く石灰化を示さず、FGFR2IIIc-FLAG 恒常発現 MG63 (MG63-IIIc) ではほとんど石灰化像は観察されなかった一方、FGFR2IIIcS252W-FLAG 恒常発現 MG63 (MG63-Ap) は 5 クローンともに顕著な石灰化を示し、この現象は Ap-CM の添加によって劇的に抑制された。

参考文献

- 1) Iseki S, Wilkie AO, Heath JK, Ishimaru T, Eto K and Morriss-Kay GM: *Fgfr2* and osteopontin domains in the developing skull vault are mutually exclusive and can be altered by locally applied FGF2. *Development* 124, 3375-3384 (1997)
- 2) Iseki S, Wilkie AO and Morriss-Kay GM: *Fgfr1* and *Fgfr2* have distinct differentiation- and proliferation-related roles in the developing mouse skull vault. *Development* 126, 5611-5620 (1999)
- 3) Sekine K, Ohuchi H, Fujiwara M, Yamasaki M, Yoshizawa T, Sato T, Yagishita N, Matsui D, Koga Y, Itoh N and Kato S: *Fgf10* is essential for limb and lung formation. *Nat Genet* 21, 138-141 (1999)
- 4) Warren SM, Brunet LJ, Harland RM, Economides AN and Longaker MT: The BMP antagonist noggin regulates cranial suture fusion. *Nature* 422, 625-629 (2003)
- 5) Arman E, Haffner-Krausz R, Chen Y, Heath JK and Lonai P: Targeted disruption of fibroblast growth factor (FGF) receptor 2 suggests a role for FGF signaling in pregastrulation mammalian development. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 5082-5087 (1998)
- 6) Ohbayashi N, Shibayama M, Kurotaki Y, Imanishi M, Fujimori T, Itoh N and Takada S: FGF18 is required for normal cell proliferation and differentiation during osteogenesis and chondrogenesis. *Genes Dev* 16, 870-879 (2002)
- 7) Yu K, Xu J, Liu Z, Sosic D, Shao J, Olson EN, Towler DA and Ornitz DM: Conditional inactivation of FGF receptor 2 reveals an essential role for FGF signaling in the regulation of osteoblast function and bone growth. *Development* 130, 3063-3074 (2003)
- 8) Bottcher RT and Niehrs C: Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development. *Endocr Rev* 26, 63-77 (2005)
- 9) Groth C and Lardelli M: The structure and function of vertebrate fibroblast growth factor receptor 1. *Int J Dev Biol* 46, 393-400 (2002)
- 10) Reardon W, Winter RM, Rutland P, Pulleyn LJ, Jones BM and Malcolm S: Mutations in the fibroblast growth factor receptor 2 gene cause Crouzon syndrome. *Nat Genet* 8, 98-103 (1994)
- 11) Shiang R, Thompson LM, Zhu YZ, Church DM, Fielder TJ, Bocian M, Winokur ST and Wasmuth JJ: Mutations in the transmembrane domain of FGFR3 cause the most common genetic form of dwarfism, achondroplasia. *Cell* 78, 335-342 (1994)
- 12) Cohen MM Jr, Kreiborg S, Lammer EJ, Cordero JF, Mastroiacovo P, Erickson JD, Roeper P and Martinez-Frias ML: Birth prevalence study of the Apert syndrome. *Am J Med Genet* 42, 655-659 (1992)
- 13) Goriely A, McVean GA, van Pelt AM, O'Rourke AW, Wall SA, de Rooij DG and Wilkie AO: Gain-of-function amino acid substitutions drive positive selection of *FGFR2* mutations in human spermatogonia. *Proc Natl Acad Sci USA* 102, 6051-6056. (2005)
- 14) Wilkie AO, Slaney SF, Oldridge M, Poole MD, Ashworth GJ, Hockley AD, Hayward RD, David DJ, Pulleyn LJ, Rutland P, Malcolm S, Winter RM and Reardon W: Apert syndrome results from localized mutations of *FGFR2* and is allelic with Crouzon syndrome. *Nat Genet* 9, 165-172 (1995)
- 15) Yu K, Herr AB, Waksman G and Ornitz DM: Loss of fibroblast growth factor receptor 2 ligand-binding specificity in Apert syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 97, 14536-14541 (2000)
- 16) Anderson J, Burns HD, Enriquez-Harris P, Wilkie AOM and Heath JK: Apert syndrome mutations in fibroblast growth factor receptor 2 exhibit increased affinity for FGF ligand. *Hum Mol Genet* 7, 1475-1483 (1998)
- 17) Fragale A, Tartaglia M, Bernardini S, Di Stasi AM, Di Rocco C, Velardi F, Teti A, Battaglia PA and Migliaccio S: Decreased proliferation and altered differentiation in osteoblasts from genetically and clinically distinct craniosynostotic disorders. *Am J Pathol* 154, 1465-1477 (1999)
- 18) Lemonnier J, Delannoy P, Hott M, Lomri A, Modrowski D and Marie PJ: The Ser252Trp fibroblast growth factor receptor-2 (FGFR-2) mutation induces PKC-independent downregulation of FGFR-2 associated with premature calvaria osteoblast differentiation. *Exp Cell Res* 256, 158-167 (2000)
- 19) Matsumoto K, Nakanishi H, Koizumi Y, Seike T, Tanimoto Y, Yokozeki M, Hiura K, Moriyama K, Minami M, Urano Y and Hirabayashi S: Correction of a deformed thumb by distraction of the phalanx. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 36, 368-372 (2002)
- 20) Tanimoto Y, Yokozeki M, Hiura K, Matsumoto K, Nakanishi H, Matsumoto T, Marie PJ and Moriyama K: A soluble form of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) with S252W mutation acts as an efficient inhibitor for the enhanced osteoblastic differentiation caused by FGFR2 activation in Apert syndrome. *J Biol Chem* 279, 45926-45934 (2004)
- 21) Cohen MM, Jr. and McLean RE: *Craniosynostosis*, second edition, Oxford, Oxford University Press, 2000, 77-94
- 22) Coumoul X and Deng CX: Roles of FGF receptors in mammalian development and congenital diseases. *Birth Defects Res C Embryo Today* 69, 286-304 (2003)