

이차구개판 발생 동안 나타나는 Tbx3와 Bmp4의 발현양상의 의미와 조직 상호작용에 대한 연구

연세대학교 치과대학 구강생물학교실, BK21 치의과학 사업단,
구강악안면경조직 재생연구센터, 구강과학연구소

이종민 · 김재영 · 정한성*

I. 서 론

입천장은 구강 내 압력을 형성하거나 음식을 삼키거나 발음을 하는 데에 중요한 역할을 하는 구강 내 구조물로서 발생단계 동안의 이차구개판의 상승, 융합 등의 정확한 형태학적 변화가 있어야 입천장의 기능을 제대로 수행할 수 있다. 생쥐에서 E13.5 (embryonic day 13.5)시기에 이차구개판은 혀의 양쪽 옆에 수직 방향으로 위치하게 된다. 그러나 E14.0시기가 되면 이차구개판이 혀의 위로 상승하여 평행을 이루고 E14.5시기가 되면 두 개의 구개판이 융합하게 된다.¹⁾ 이때 완전한 융합을 위해서는 정중선 (midline epithelial seam; MES)이라는 구조물이 사라져야 한다. 이 과정 중에는 안면조직세포의 이동, 증식, 사멸, 패턴화 (patterning)와 분화 (differentiation)에 정확한 조절이 필수적이며, 여러 전사인자들과 신호전달물질간의 네트워크에 의해 조율되며 이러한 조절이 실패하게 되면 가장 흔한 유전적 질병인 중 하나인 입천장갈림증이 발생하게 된다.²⁾

입천장의 발생과정에 관여하는 전사인자와 신호전달물질은 지금까지 다양하게 알려져 왔

다. 초기 입천장 발생 과정에서 Fgfs, Bmps, Tbx, Shh 등의 상호작용에 의해 세포증식이 유도된다는 연구결과가 알려져 있으며 융합과정에서는 *Tgf-b*, *Snail*과 같은 유전자들이 관여한다고 알려져 있다.³⁻⁵⁾ 다양한 기관형성동안 나타나는 조직간의 상호작용은 유전자의 발현 및 상호작용을 이해할 수 있는 발생원리로 알려져 왔다.⁶⁾ 이전연구에서는 이차구개판의 발생동안 나타나는 외배엽과 중배엽의 상호작용을 (epithelial-mesenchymal interaction)간접적인 유전자의 발현양상을 통해 확인하였다.^{3,7)} 그러나 현재까지 외배엽과 중배엽의 상호작용으로 이차구개판의 형태형성과 발생이 이루어진다는 정확하고 직접적인 연구결과는 밝혀져 있지 않은 상태이다.

*Tbx3*와 *Bmp4*의 상호작용은 배아의 여러 기관에서 세포의 증식을 조절하는 것으로 알려져 있으며 입천장의 형성에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.⁵⁾ *Tbx* 유전자는 T-box 전사인자중의 하나로, 척추동물의 배아발생 동안 다양한 장기와 시기에 발현되며 중요한 역할을 담당한다.^{8,9)} *Tbx3* 돌연변이는 척골-유선증후군 (Ulnar-mammary syndrome)을 유발하는데, 치아와 모발, 유선의 미 발육과 사지, 생식기 이상 등의 특징을 가진다. Bone morphogenic protein (Bmp)은 얼굴 및 머리발생에 중요한 인자로 알려져 있다.¹⁰⁾ *Bmp4* 돌연변이 mouse 배아는 입

* 교신저자.

** 본 연구는 연세대학교 치과대학 학술연구비 (6-2003-1094) 지원을 받았음.

천장 형성 시기 이전에 죽는다는 사실이 알려져 있다.^{11,12)}

이 논문에서는 *Tbx3*와 *Bmp4*의 상호작용이 입천장 발생에서 세포증식을 유발하여 정상발생을 유도한다는 이전 연구⁵⁾를 토대로 이차구개판의 발생 동안 *Tbx3*와 *Bmp4*의 기능과 외배엽 중 배엽의 상호작용을 확인하고자 하였다. 본 연구에서는 연구팀이 개발한 체외배양 시스템인 역전 체외배양방법 (Reverse in vitro culture)으로 발생시기 E13.5 에서 이차구개판을 미세해부하여 trowel culture방법을 응용하여 실시하였다. 또한 상피와 중배엽의 상호작용이 *Tbx3*와 *Bmp4*유전자의 발현에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위하여 상피를 제거하고 일정 부분만을 재결합한 후 각 유전자의 발현을 비교 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험대상

성체 ICR mouse는 항온 (22°C)이 유지되고 상대습도가 55%인 동물실에 인공조명 (오전 5시부터 오후 5시까지)하에서 음식과 물에 대한 자유로운 접근이 가능하도록 하였다. 배아는 시기를 맞추어 임신한 ICR mouse에서 채취하였다. 배아기 0 (embryonic day 0; E0)는 vaginal plug가 확인되기 시작한 날로 정하고 E13.5시기의 배아를 실험용으로 사용하였다. 각각의 실험당 최소 10개 이상의 배아를 이용하였다.

2. 역전 체외배양법

이차구개판은 이미 이전연구에서 체외배양이 가능한 기관으로 확인 되었으며 이 방법을 본 실험에 적용 하였다.⁵⁾ 한 마리의 E13.5 배아의 상악에서 분리한 이차구개판에서, 좌측 구개판을 취하고 다른 배아에서 분리한 좌측 이차구개판을 180° 회전시켜 0.04mm의 간격을 두고 서로 마주보도록 위치시킨다 (Fig. 1A). 이와 같은 상태로 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 배양한다. 배지는 DMEM/F12 (Gibco BRL, UK)를 이

용 하였고 ascorbic acid (20 µg/ml)와 1% penicillin/streptomycin을 첨가하였으며 24시간마다 교체하였다.

3. 상피 재조합

E13.5의 배아에서 이차구개의 상피를 분리하기 위하여 dispase II (0.6 U/ml, Roche)를 4°C에서 50분간 처리하였다. 10% FBS (Fetal Bovine Serum)를 포함한 PBS를 반응정지 액으로 사용하였다. 한 쌍의 forceps를 이용하여 중배엽으로부터 상피를 박리하고 박리된 상피 중 전방 구개부의 상피를 취하여 구개판 중배엽에 재조합 하였다.

4. In situ hybridization

이전 연구에서 이 제시한 방법에 따라 시행하였다.¹³⁾ 표본을 4% PFA로 고정된 후 Methanol을 처리하였고 다시 PBT를 처리한 후 실온에서 3분간 proteinase K (20 µg/ml)를 처리하였다. 0.2-0.5 g/ml RNA probe를 함유한 hybridization buffer에서 20시간 동안 hybridization하였다. 20시간 후 RNA probe의 세척에 standard saline citrate를 이용하였으며 비 특이적 발현의 차단을 위하여 15% FBS를 함유한 TBT를 사용하였다. 이러한 과정 후에 alkaline phosphatase와 결합하는 antidigoxigenin antibody를 20시간 처리한 후 발현양상을 확인하였다.

III. 실험 결과

1. 역전 체외배양 후 *Tbx3*의 발현과 융합양상

입천장에서 *Tbx3*유전자의 발현은 발생시기에 따라 점진적으로 방향성을 가지고 나타난다. 발생중인 이차구개판은 형태학 적으로 입천장이 융합되기 이전인 E13.5시기와 융합이 진행되는 E14.5시기로 구분이 가능하다. 이전 연구에서 이차구개판의 중요한 시기인 E13.5와 E14.5와 체외배양동안 나타나는 *Tbx3*의 발현 양상을 확인하였다 (Supplementary Figure).⁵⁾ 그 결과 *Tbx3*는

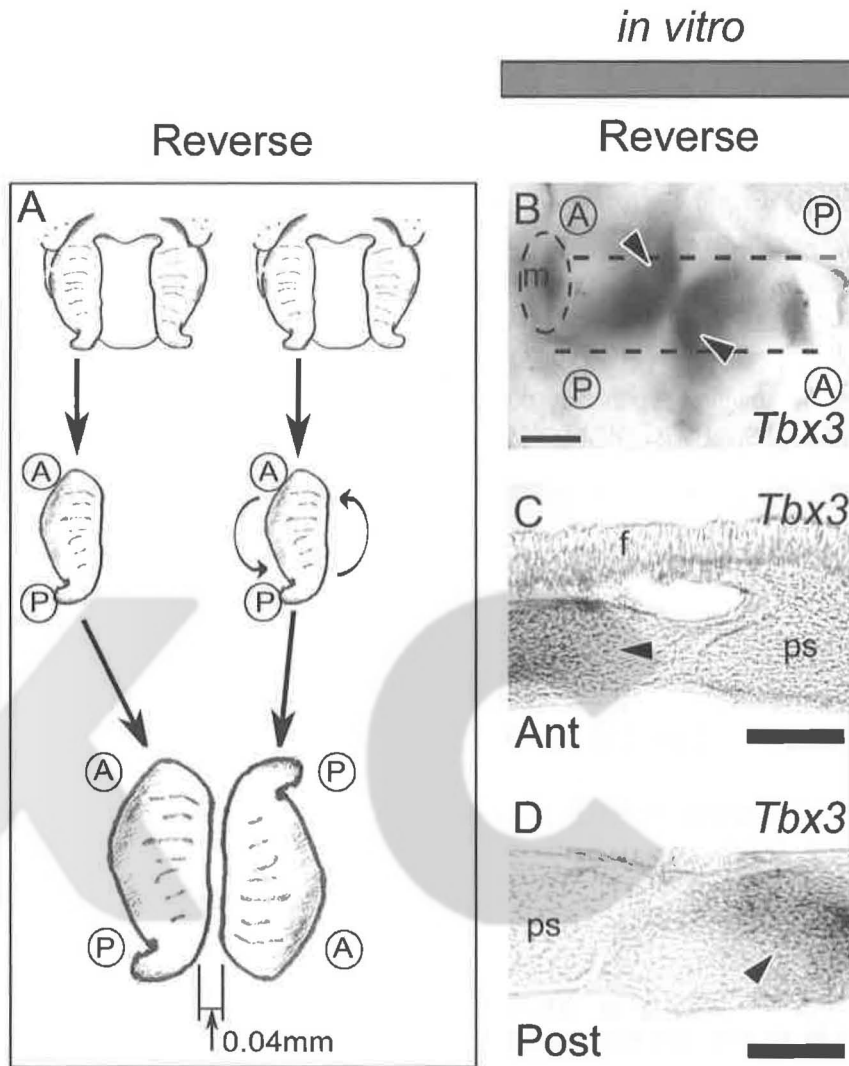


Fig. 1. Expression pattern of Tbx3 in vitro E13.5 palate cultured for 48 hours.

(A) Schematic diagram of culture methods employed in this experiment. Reverse culture, in which palatal shelves were cultured in opposite orientations. One side of the palatal shelf from the other embryo was rotated 180 degrees and cultured with the contralateral palatal shelf from another E13.5 embryo in the normal orientation. (B) Reverse in vitro culture at 48 hours: Tbx3 was expressed only in the anterior region of the palate (arrowheads). (C, D) After frontal sectioning, the palate was seen to be not completely fused and Tbx3 expression was observed only in the anterior region of palate mesenchyme (arrowheads), dotted line indicates the section plane. ⊕, anterior; ⊙, posterior; dotted circle, first molar region; f, filter paper; m, molar; ps, palatal shelf. Scale bars in B = 500 μm; C, D = 200 μm.

이차구개판의 앞쪽으로부터 중간부분까지의 중배엽에서 발견되며 이는 세포분열을 유도하여 정상적인 입천장 형성하는데 중요한 역할을 한다고 확인되었다. 이러한 Tbx3유전자 발현의 방

향성이 가지는 의미를 알아보기 위하여 E13.5시기에서 이차구개판을 분리하여 한쪽을 180도 돌려 48시간 배양한 후 Tbx3유전자의 발현양상을 확인해 보았다 (Fig. 1A-D). 역전 체외배양결과

대조군으로 사용한 정상체외배양군과 마찬가지로 *Tbx3*는 이차구개판의 앞쪽에서부터 중간부분의 위치까지 발현되는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 1B). 이를 상악의 molar부분이 나타나는 위치 정도의 수준 (Fig. 1B의 검정 점선부위 수준)에서 이차구개판을 조직절편을 만들어 확인해 본 결과 *Tbx3*는 앞쪽 이차구개의 중배엽에만 발현되는 것을 알 수 있었다 (Fig. 1C, D). 또한 입천장의 융합이 대조군에 비해 느리게 진행되는 것을 확인하였다. 48시간 역전 체외배양 후 입천장의 정중선 (midline epithelial seam; MES)이 사라지지 않고 남아 있는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 1C, D).

2. 상피를 제거 또는 재조합 한 후 *Tbx3*와 *Bmp4*의 발현양상

이차구개판 발생동안 외배엽과 중배엽의 상호작용에 대한 이해를 위하여 상피를 제거한 후 *Tbx3*와 *Bmp4*의 발현양상을 in situ hybridization방법을 이용하여 확인하였다 (Fig. 2A, D, G, J). *Tbx3*는 상피를 제거한 후 그 발현이 사라지는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2A). 상악의 molar부분이 나타나는 위치 정도의 수준 (Fig. 2A의 검정 점선)에서 전단면 표본을 만들어 확인해 본 결과 *Tbx3*는 상피와 중배엽 어느 곳에도 발현되지 않았다 (Fig. 2D). 그러나 상피를 재조합 한 후의 경우에는 *Tbx3*의 발현이 다시 나타나는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2B, C, E, F). 상피를 입천장 앞쪽에 재조합 한 결과 재조합 한 부위의 상피 아래쪽 중배엽에 *Tbx3*의 발현이 회복되었다 (Fig. 2B, E). 상피를 입천장의 뒤쪽에 재조합 한 경우 또한 *Tbx3*의 발현이 다시 나타났다 (Fig. 2C, F). *Bmp4*의 경우 상피를 제거한 경우, 대조군에서의 결과와 반대로 입천장의 앞쪽에서 중간까지는 발현이 나타나지 않았으며 이차구개판의 뒤쪽에서는 강하게 나타나는 것을 확인하였다 (Fig. 2G; 화살표머리). 검정 점선 면에서 전단면 표본을 확인해 본 결과 *Bmp4*가 중배엽에서 발현되는 것을 알 수 있었다 (Fig. 2J). 입천장 상피를 앞쪽에 재조합 한 결과 *Bmp4*의 발현이

재조합 된 상피 부위에 강하게 발현되는 것이 확인 되었다 (Fig. 2H). 전단면을 확인한 결과 재조합 상피 아래의 중배엽에 *Bmp4*가 강하게 발현되는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2K). 분리한 상피를 이차구개 뒤쪽에 재조합 시키고 48시간 배양한 결과 상피 재조합부위에 *Bmp4*의 발현이 확인 되었다 (Fig. 2D). 검정 점선면에서 전단면을 확인한 결과 앞쪽에 재조합 했을 때와 마찬가지로 재조합 부위 아래의 중배엽에 *Bmp4*발현이 나타나는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2L).

IV. 고 찰

1. *Tbx3*발현의 방향성이 가지는 의미

본 연구는 정상 입천장 발생 동안, 특히 세포 증식에 중요한 역할을 한다고 알려져 있는 *Tbx3*와 *Bmp4*를 중심으로 그 발현 양상과 이와 관련된 상피-중배엽 상호작용의 기능을 체외배양방법을 이용하여 확인하였다.

*Tbx3*는 입천장발생 과정에서 구개판의 중배엽에서 발현되면서 세포의 증식을 유도하고 이로 인하여 입천장의 성장에 기여한다는 사실이 알려져 있다.⁵⁾ 입천장 발생초기에 *Tbx3*는 방향성을 가지고 발현이 되는데 이차구개의 앞쪽에서부터 중간까지의 영역에서 발현된다. 이러한 발현의 방향성의 의미를 파악하고자 역전 체외배양을 실시하였다. 실험의 결과를 토대로 *Tbx3*의 발현이 앞쪽의 구개에서만 제한적으로 나타났지만 입천장의 융합이 어느 정도 이루어 지는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 동일한 실험조건으로 배양한 대조군에 비해 그 융합속도가 현저히 느린 것을 확인할 수 있었다. 역전 체외배양 시 48시간 배양 하였으나 정중선의 대부분이 남아있는 것이 확인 되었다. 위의 결과로 구개판의 성장에 관여하는 *Tbx3* 유전자의 발현자재와 더불어 정확한 발현 위치가 입천장이 정확한 시기에 정상적으로 발생하는데 있어 중요한 작용을 한다고 할 수 있다.

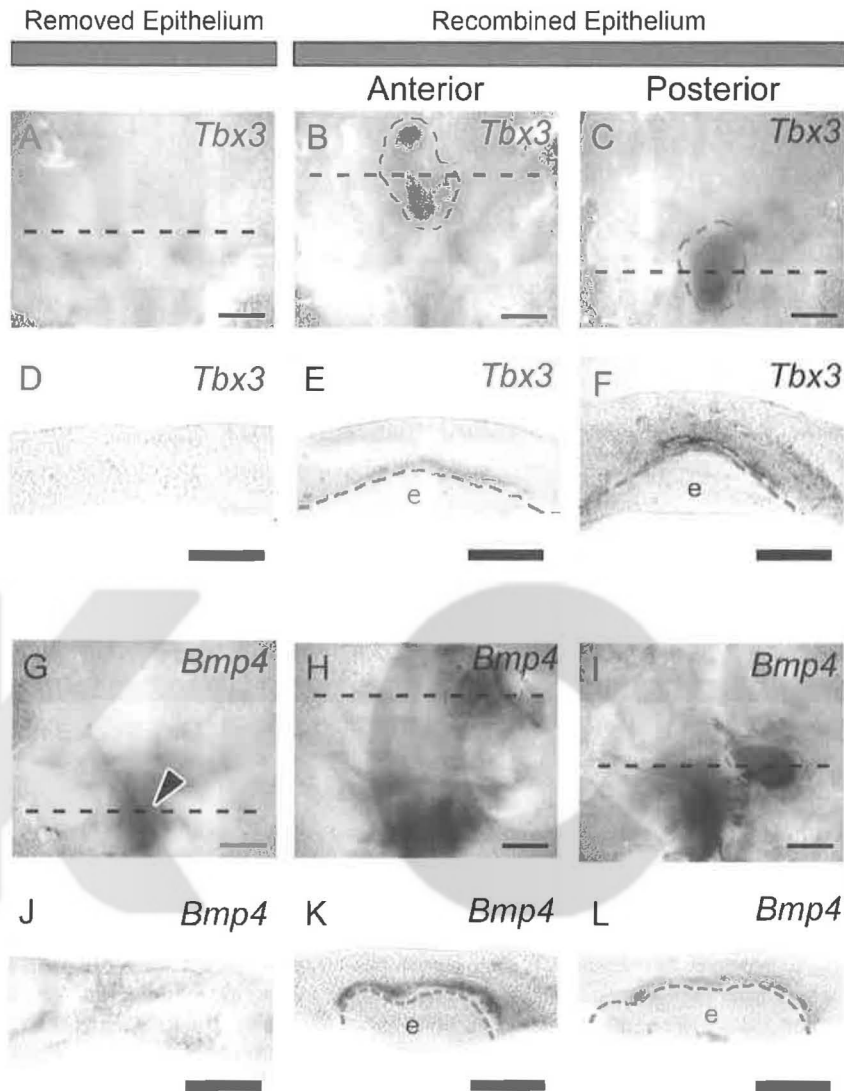
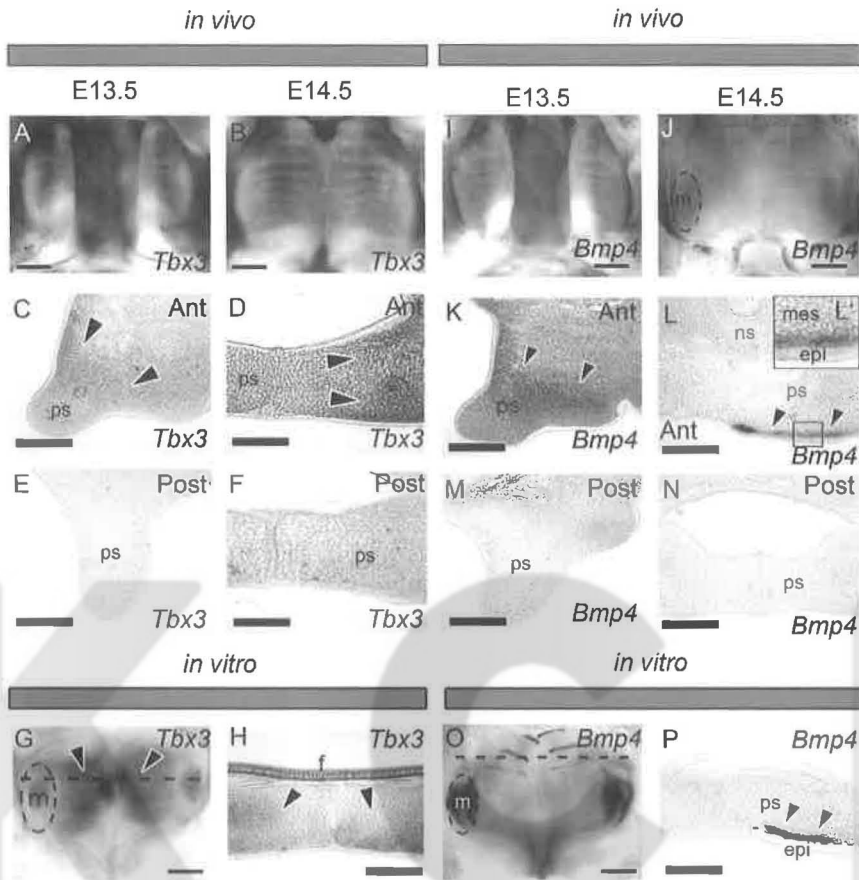


Fig. 2. Changes in some expression and rescue after removal and recombination of palate mesenchyme.

All black dotted lines show section plane, and gray dotted lines indicate basement membrane between oral epithelium and beneath mesenchyme. All gray dotted circles indicate recombined epithelium region. (A, D, G, J) Epithelium removed. (A, D) *Tbx3* expression was not detectable, even in section. (G) *Bmp4* expression was not observed in anterior, but strongly expressed in posterior region (arrowhead). (J) See also section showing *Bmp4* expression in mesenchyme. (B, C, H, I) Palate epithelium recombination. (B) In anterior, *Tbx3* expression rescued by recombined epithelium (gray dotted circle). (E) Frontal sectioning showed that *Tbx3* expression was rescued in the mesenchyme near recombined palate epithelium. (C) Epithelium also induced expression of *Tbx3* (gray dotted circle) in posterior palate. (F) Section shows rescued *Tbx3* expression in mesenchyme. (H) Recombined epithelium (gray dotted circle) led to recovery of *Bmp4* expression in anterior of the palate. (K) After frontal sectioning, strong expression of *Bmp4* observed in anterior mesenchyme adjacent to recombined palate epithelium region. (I) Strong *Bmp4* expression induced by palate epithelium (gray dotted circle) in posterior palate. (L) Frontal sectioning revealed strong *Bmp4* expression adjacent to recombined palate epithelium. e, epithelium. Scale bars in A-C, G-I = 500 μ m; D-F, J-L = 200 μ m.



Supplementary Fig. 6J (A) At E13.5, Tbx3 expressed only in anterior to middle region of palatal shelves. (C, E) Frontal sections: Tbx3 expression in anterior palate in mesenchyme (arrowheads), (B) At E14.5, Tbx3 expression still detected in anterior to middle region of palate, but not in posterior. (D, F) After sectioning, Tbx3 expression detected anterior palate mesenchyme (arrowheads), (G) After 48 hours culture, Tbx3 expression maintained at high levels in the anterior region but not posterior (arrowheads), (H) After frontal sectioning, the palate was seen to be fused and Tbx3 expression was observed in the anterior region of palate mesenchyme (arrowheads). (I) At E13.5, Bmp4 was expressed only in anterior to middle region of secondary palate. (J) At E14.5, Bmp4 expression detected in the rugae of the anterior palatal region, (K, M) After frontal sectioning, strong expression of Bmp4 observed throughout mesenchyme of anterior palatal shelf (arrowheads), but not in posterior at E13.5. (L, M) Frontal sectioning revealed that at E14.5 expression of Bmp4 concentrated in mesenchyme just below the epithelium in palatal rugae (arrowheads). (O, P) Culture at 48 hours in vitro E13.5 palate, Bmp4 strongly expressed in mesenchyme near the epithelium in anterior palate (arrowheads). Black dotted line indicates the section plane, epi, epithelium; ns, nasal septum; mes, mesenchyme; ps, palatal shelf. Scale bars in A, B, G, I, J, O = 500 μ m; C-F, H, K-N, P = 200 μ m.

2. 입천장 발생에서의 상피-중배엽 상호작용

포유동물의 외배엽성기원기관은 발생중인 중배엽으로부터 일련의 신호가 신호전달물질에 의해 상부의 상피세포로 전달되면서 epithelial placode를 형성하며 상피는 신호를 다시 하부의

중배엽에 전달하게 되는데, 이러한 과정을 통하여 성장과 패턴화 (patterning)가 이루어진다.¹⁴⁾ 이러한 상피-중배엽의 상호작용이 이차구개의 발생과정에도 중요한 역할을 한다는 사실이 알려져 있다.^{4,5,7)} 이전연구에 의하면 구개판의 간엽 조직은 세포의 증식을 유지하고, 상피에 위치한

상피세포성장인자와 그 수용체의 작용에 의하여 상피세포의 세포사멸 (apoptosis)이 일어난다고 보고되었다.^{15,16)}

본 연구의 결과에 따르면, 구개상피를 제거 하였을 때, *Tbx3*와 *Bmp4*의 발현양상이 현저히 변화하였다. *Tbx3*는 배양된 구개조직의 앞쪽과 뒤쪽 모두에서 나타나지 않았다. 결과적으로 상피 내의 어떠한 인자가 앞쪽 구개판에의 중배엽에서의 *Tbx3* 발현을 유도하고 조절한다고 할 수 있다. *Bmp4* 또한 상피를 제거하고 배양한 구개조직의 앞쪽 구개에서는 전혀 발현되지 않은 반면, 뒤쪽 부위에서는 강하게 발현되었다. 결국, 구개상피가 앞쪽 구개부위에서 *Bmp4*의 발현을 유도하고 반면에, 뒤쪽 구개부위에서는 정상 구개발생과정 중에 구개상피에 의하여 *Bmp4*의 발현이 억제된다고 할 수 있다.

*Tbx3*는 이차구개판의 발생 과정에서 방향성을 가지고 발현되며 이러한 유전자의 방향성은 입천장이 정상적으로 형성되도록 하는데 기여한다. 또한 상피-중배엽 상호작용은 이차구개판의 발생, 특히 성장에 중요한 역할을 한다고 알려져 있는 *Tbx3*와 *Bmp4*의 발현을 조절한다. 본 연구에서 상피를 재조합 할 때 이차구개판 앞쪽의 상피만을 사용하였다. 이차구개판의 앞쪽 상피를 뒤쪽의 중배엽과 재조합한 결과 원래는 발현되지 않던 부위인 이차구개판의 뒤쪽 중배엽에서 *Tbx3*와 *Bmp4*의 발현이 확인되었다. 이는 이차구개판 상피의 앞쪽과 뒤쪽은 다른 신호전달체계를 조절하고 있음을 의미한다. 이러한 유전자 수준에서의 발현양상과 조직 재결합 방법을 이용하여 이차구개판의 정확한 발생과정을 확인한 연구결과는 다른 기관의 발생 및 분화과정에도 그 연구결과를 활용할 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

1. Ferguson MW : Palate development: mechanisms and malformations. Ir J Med Sci 156:309-315, 1987.
2. Alappat SR, Zhang Z, Suzuki K, Zhang X, Liu H, Jiang R, Yamada G, and Chen Y : The cellular and molecular etiology of the cleft secondary palate in Fgf10 mutant mice. Dev Biol 277:102-113, 2005.
3. Zhang Z, Song Y, Zhao X, Zhang X, Fermin C, Chen Y : Rescue of cleft palate in Mx1-deficient mice by transgenic

- Bmp4 reveals a network of BMP and Shh signaling in the regulation of mammalian palatogenesis. Development 129: 4135-4146, 2002.
4. Tudela C, Formoso MA, Martinez T, Perez R, Aparicio M, Maestro C, Del Rio A, Martinez E, Ferguson M, Martinez-Alvarez C : TGF-beta3 is required for the adhesion and intercalation of medial edge epithelial cells during palate fusion. Int J Dev Biol 46:333-336, 2002.
5. Lee JM, Kim JY, Cho KW, Lee MJ, Cho SW, Zhang Y, Byun SK, Yi CK, Jung HS : Modulation of cell proliferation during palatogenesis by the interplay between Tbx3 and Bmp4. Cell Tissue Res 327:285-292, 2007.
6. Pispas J, Thesleff I. Mechanisms of ectodermal organogenesis. Dev Biol 262:195-205, 2003.
7. Rice R, Spencer-Dene B, Connor EC, Gritli-Linde A, McMahon AP, Dickson C, Thesleff I, Rice DP : Disruption of Fgf10/Fgfr2b-coordinated epithelial-mesenchymal interactions causes cleft palate. J Clin Invest 113:1692-1700, 2004.
8. Tumpel S, Sanz-Ezquerro JJ, Isaac A, Eblaghie MC, Dobson J, Tickle C : Regulation of Tbx3 expression by anteroposterior signalling in vertebrate limb development. Dev Biol 250:251-262, 2002.
9. Suzuki T, Takeuchi J, Koshiba-Takeuchi K, Ogura T : Tbx Genes Specify Posterior Digit Identity through Shh and BMP Signaling. Dev Cell 6:43-53, 2004.
10. Francis-West P, Ladher R, Barlow A, Graveson A : Signalling interactions during facial development. Mech Dev 75:3-28, 1998.
11. Winnier G, Blessing M, Labosky PA, Hogan BL : Bone morphogenetic protein-4 is required for mesoderm formation and patterning in the mouse. Genes Dev 9:2105-2116, 1995.
12. Li H, Corrales CE, Wang Z, Zhao Y, Wang Y, Liu H, Heller S : BMP4 signaling is involved in the generation of inner ear sensory epithelia. BMC Dev Biol 5:16-27, 2005.
13. Kim JY, Cho SW, Lee MJ, Hwang HJ, Lee JM, Lee SI, Muramatsu T, Shimono M, Jung HS : Inhibition of connexin 43 alters Shh and Bmp-2 expression patterns in embryonic mouse tongue. Cell Tissue Res 320:409-415, 2005.
14. Cho KW, Kim JY, Song SJ, Farrell E, Eblaghie MC, Kim HJ, Tickle C, Jung HS : Molecular interactions between Tbx3 and Bmp4 and a model for dorsoventral positioning of mammary gland development. Proc Natl Acad Sci U S A 103:16788-16793, 2006.
15. Tyler MS, Pratt RM : Effect of epidermal growth factor on secondary palatal epithelium in vitro: tissue isolation and recombination studies. J Embryol Exp Morphol 58:93-106, 1980.
16. Miettinen PJ, Chin JR, Shum L, Slavkin HC, Shuler CF, Derynck R, Werb Z : Epidermal growth factor receptor function is necessary for normal craniofacial development and palate closure. Nat Genet 22:69-73, 1999.

- ABSTRACT -

Expression patterns of *Tbx3* and *Bmp4* through tissue interaction during secondary palate development

Jong-Min Lee, Jae-Young Kim, Han-Sung Jung

*Department of Oral Biology, Oral Science Research Center, College of Dentistry,
Brain Korea 21 Project, Yonsei University, Korea*

Craniofacial malformation is the most common birth defects that occur in humans. During the secondary palate development, two shelves elevated to a horizontal position above the tongue, then they completely fused in developing embryo. In this study, the precise morphological changes in control and reverse culture (180 degree rotation) of the developing palate were examined that could find the key features of morphological differences between control and reverse culture. Moreover, for reveal the function of epithelium in palatogenesis, we removed and recombined palatal epithelium. Our results show that epithelial-mesenchymal interactions are essential to *Tbx3* and *Bmp4* signalling because after remove the palatal epithelium, expression of *Tbx3* and *Bmp4* were not detected in developing palate. The present study shows interaction between these molecules in palatal development. Furthermore, our results demonstrate that development of the anterior palate may have completely different signalling network independently of development in the posterior palate.

Key Words: Palatogenesis, Morphogenesis, Epithelial-mesenchymal interactions, *Tbx3*, *Bmp4*.