

## Les protéines de la morphogénèse osseuse : BMP

Le tissu osseux contient une variété de facteurs de croissance et de différenciation qui contrôlent la formation et la résorption osseuse, mais également qui jouent un rôle important dans le développement, la croissance et la réparation du cartilage et de l'os. Une activité ostéo-inductrice de l'os a été démontrée par la capacité d'os déminéralisé implanté dans un site non squelettique (ectopique) d'induire *de novo* la formation de cartilage et d'os [1, 2]. Ces propriétés ostéoinductrices sont portées par un matériel de nature protéinique isolé et caractérisé et dénommé *bone morphogenic protein* ou BMP [3]. Il est à ce jour possible d'envisager des applications thérapeutiques de ces molécules en chirurgie osseuse où la réparation de grandes pertes de tissu osseux est souvent très aléatoire. Actuellement, le chirurgien dispose d'une large gamme de biomatériaux pour se substituer à des pertes de tissu osseux, qu'elles soient d'origine traumatique, infectieuse, tumorale ou résultant d'une intervention chirurgicale. Ces matériaux peuvent être divisés en deux catégories: les matériaux synthétiques (céramiques de phosphate de calcium, polymères) qui sont ostéoconducteurs, en favorisant par leur architecture la croissance de l'os néoformé, et ceux, à la fois ostéoconducteurs, ostéogènes (présence de cellules ostéoprogénitrices) et ostéo-inducteurs, tels que les autogreffes. L'utilisation de BMP pourrait représenter à l'avenir une alternative aux greffes osseuses et aux problèmes associés (limitation quantitative pour les autogreffes, risques de contamination pour les allogreffes).

### Matrice osseuse déminéralisée et ostéo-induction

L'implantation de BMP sous forme de matrice osseuse déminéralisée ou d'extraits protéiques provoque des

résultats équivalents [2]. En effet, leur implantation chez le rongeur dans des sites sous-cutanés ou intramusculaires entraîne une prolifération de cellules mésenchymateuses pendant les trois premiers jours (Tableau I). Du 4<sup>e</sup> au 7<sup>e</sup> jour, les cellules se différencient en chondroblastes et chondrocytes qui synthétisent une matrice cartilagineuse comportant du collagène de type II ainsi que des protéoglycanes sulfatés de haut poids moléculaire. Cette période de chondrogenèse est suivie d'une maturation des chondrocytes jusqu'au stade hypertrophique et de la minéralisation de la matrice cartilagineuse au 10<sup>e</sup> jour. Les cellules formatrices osseuses (ostéoblastes) font leur apparition sur le site et synthétisent une matrice osseuse tandis que le cartilage minéralisé est résorbé par des ostéoclastes. Enfin, 12 jours après l'implantation, des éléments de la moelle osseuse hématopoïétique apparaissent à l'intérieur du spicule osseux.

Cette séquence d'événements biologiques mise en route par la BMP dans un site ectopique récapitule les différentes étapes de l'ossification endochondrale telle que l'on peut l'observer au cours du développement embryonnaire du squelette ou lors d'une réparation de fracture. Cependant, si la BMP est capable de produire un programme complet de formation osseuse, de nombreuses inconnues demeurent concernant son action au cours des étapes de la différenciation.

### Analyse de l'activité BMP

L'identification des composants actifs dérivés de l'os a été entreprise par plusieurs groupes de recherche et a consisté en des implantations *in vivo* dans des sites ectopiques combinant la BMP avec de la matrice osseuse inactivée par élimination de toute

activité BMP [4]. Le dosage par reconstitution de fraction active est fonctionnel et a permis des investigations plus poussées dans la purification des composants ostéo-inducteurs. La matrice osseuse servant de support est préparée à partir de diaphyses d'os long de rat, réduites en particules, déminéralisées à l'acide chlorhydrique et traitées au chlorure de guanidium et à l'urée. La fraction résultante, essentiellement constituée de collagène, est ensuite combinée à la BMP par lyophilisation ou précipitation à l'éthanol et le composite est implanté en sous-cutané chez le rat. Ce composite induit une formation osseuse en 12 jours indiquant que la spécificité liée à l'espèce est en fait due à la matrice collagénique inactive, et non aux protéines solubles. Le fait que les extraits d'os xénogéniques sont également actifs lorsqu'ils sont reconstitués avec de la matrice osseuse collagénique insoluble, montre que les protéines inductrices d'espèces différentes présentent une forte homologie et ne sont pas spécifiques de l'espèce. En revanche, des vecteurs collagéniques issus d'autres espèces donnent des résultats plus médiocres, probablement à cause de la réponse inflammatoire qui inhibe les effets ostéoinducteurs de la BMP.

Enfin, il a été montré que la matrice dentinaire comme la matrice osseuse présente également une activité ostéo-inductrice [5].

### Purification des BMP

L'os bovin représente la source la plus couramment utilisée pour l'étude de l'activité BMP. Cette activité peut être récupérée par des procédures d'extraction dissociative telles que le chlorure de guanidium ou l'urée. Cette activité peut être purifiée par différentes étapes de chromatographie. C'est ainsi que la chro-

Tableau I

SÉQUENCES DES ÉVÉNEMENTS BIOLOGIQUES OBSERVÉS SUITE A L'IMPLANTATION DE PROTÉINES OSTÉO-INDUCTRICES DANS UN SITE ECTOPIQUE CHEZ LE RAT ET MARQUEURS BIOCHIMIQUES UTILISÉS POUR QUANTIFIER CHAQUE ÉTAPE

Jours	0-3	4-7	8-10	10-12	12
Événements biologiques	Prolifération de cellules mésenchymateuses	Chondrogenèse	Maturation cartilagineuse	• Résorption cartilagineuse • Formation osseuse	Remaniement osseux
Marqueurs	<sup>3</sup> H-thymidine	• Collagène II • Protéoglycanes cartilagineux	Phosphatase alcaline	• Phosphatase alcaline • Ostéocalcine • Incorporation <sup>45</sup> Ca	Phosphatase acide

(Adapté de [2]).

matographie héparine-sépharose a été largement utilisée compte tenu de l'affinité de la BMP pour l'héparine (commune à de nombreux facteurs de croissance) et l'HPLC en fin d'étape. Ces différentes techniques ont permis de déterminer une activité se situant au niveau d'une masse moléculaire d'environ 30 kDa [6]. L'électrophorèse de cette protéine de 30 kDa après réduction donne deux bandes de masses moléculaires respectives de 16 et 18 kDa ainsi que quelques protéines qui demeurent dans la fraction 30 kDa. Pour déterminer quel(s) polypeptide(s) était(ent) responsable(s) de l'activité ostéo-inductrice, l'approche consista à isoler des clones recombinants de chaque protéine (*figure 1*). Le mélange de protéines fut digéré à la trypsine et les fragments séparés par HPLC en phase inverse. Des sondes nucléotidiques, synthétisées à partir de la séquence des acides aminés de chaque polypeptide, permirent de sélectionner, soit des ADNc bovins, soit des clones génomiques [7]. A partir des clones d'ADNc bovins recombinants, la source d'ARNm humain et les ADNc correspondants ont pu être déterminés. Des ADNc humains furent ensuite isolés et chaque clone exprimé dans des systèmes hétérologues pour obtenir des protéines recombinantes. Ces différentes procédures ont permis d'isoler des ADNc humains codant pour huit

nouvelles protéines de BMP-1 à BMP-8 [8, 9].

#### La famille des BMP

Sept de ces protéines, de BMP-2 à BMP-8 présentent des analogies de séquences et font partie de la superfamille des *transforming growth factors-beta* (TGF- $\beta$ ). De plus, à l'intérieur de cette famille, on distingue des sous-groupes: BMP-2 et 4, BMP-3, BMP-5, 6 et 7 (*figure 2*). Comme le TGF- $\beta$ , les BMP sont synthétisées sous forme de précurseurs contenant de 396 à 513 acides aminés. Chaque précurseur possède une séquence hydrophobe en tête des propeptides et une région codant pour le produit actif à l'extrémité carboxy-terminale, contenant 7 résidus cystéine.

Les BMP sont aussi apparentées à des facteurs impliqués au cours du développement comme l'Activine A, le Vg-1 ou le Dpp. Le produit du gène *décapentaplégique* (*dpp*) chez la drosophile règle l'expression de certains gènes homéotiques au cours de la morphogenèse de l'intestin et de la spécification dorso-ventrale [10]. Les BMP-2 et 4 sont apparentées (75 % d'identité) à la protéine Dpp. Le gène *60A* de la drosophile est exprimé au cours du développement embryonnaire et ses produits s'apparentent à la BMP-7. Il est intéressant de noter que les produits des gènes *dpp* ou *60A* induisent *in vivo* la pro-

duction de cartilage et d'os. Le gène *Vg1* code pour une molécule dont les ARNm sont localisés au niveau du pôle végétal de l'ovocyte du xénope [11]. Enfin, certaines BMP ont été identifiées dans d'autres systèmes et sont également connues sous d'autres noms (*Tableau II*). Tous ces résultats démontrent une remarquable conservation des BMP au cours de l'évolution. Finalement, le développement d'une mouche, d'une grenouille et la réparation d'une fracture osseuse chez l'homme utilisent des motifs moléculaires communs comme signaux d'initiation. La BMP-1 ne fait pas partie de la superfamille des TGF- $\beta$  et ne présente pas de propriétés ostéo-inductrices. Elle possède des domaines à activité protéase, des séquences de type EGF et présente de nombreuses similitudes avec le produit du gène *tolloïde* de la drosophile. En fait, de très récentes données indiquent que la BMP-1 est identique à la *procollagen C-proteinase*, l'enzyme qui clive le propeptide carboxyterminal des procollagènes I, II et III pour libérer le constituant fibreux majeur [12].

#### Rôle des BMP dans la morphogenèse

Si les BMP sont présentes dans la matrice osseuse et possèdent des effets chondro-ostéo-inducteurs, il est possible qu'elles interviennent de façon active dans d'autres processus physiolo-

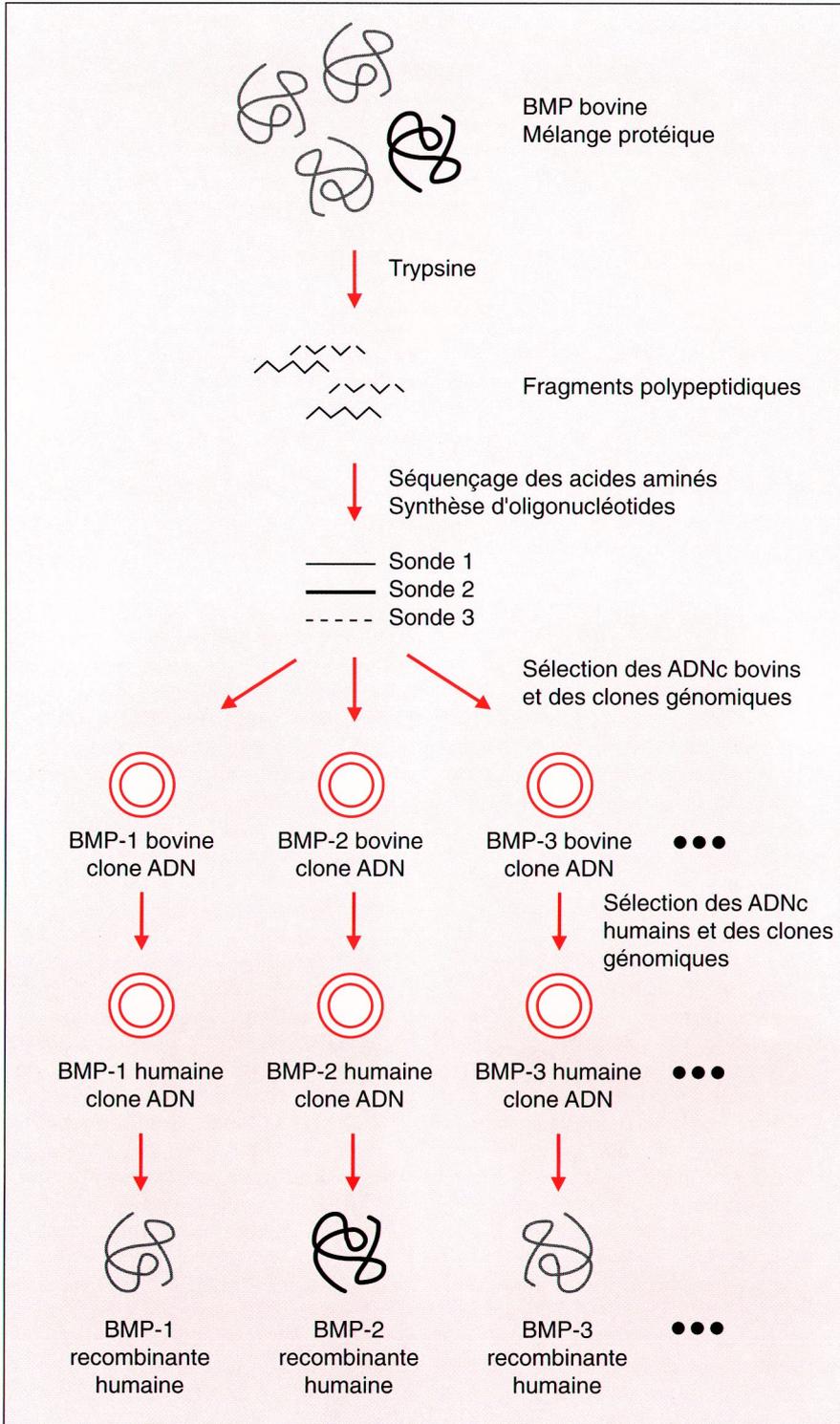


Figure 1. **Représentation schématique du processus d'obtention par génie génétique de BMP recombinantes humaines.** (Adapté de [7].)

giques. Les ARNm des BMP-1, 2 et 4 ont, en effet, été localisés dans des tissus aussi divers que le foie, le cerveau, le poumon ou le rein [7]. Les ARNm des BMP-2, 3 et 4 sont synthétisés en grande quantité par les cellules osseuses, mais la production de certaines BMP a été également observée au cours du développement embryonnaire. L'ARNm de la BMP-2 est présent dans la partie distale de l'épithélium du bourgeon des membres au cours des stades précoces, alors que, dans des stades avancés, ils sont synthétisés dans le mésenchyme entourant les condensations préchondrogéniques [13, 14]. Il existe donc une expression spatio-temporelle de la BMP-2 pour établir la taille et la forme des os, aussi bien que l'induction de cartilage osseux. Contrairement à la BMP-2, la BMP-6 est synthétisée beaucoup plus tardivement lors du développement des membres, c'est-à-dire au stade d'hypertrophie des chondrocytes [15]. Ces résultats suggèrent que la BMP-6 ne serait pas impliquée dans l'induction de la phase cartilagineuse, mais plutôt dans la transition cartilage/os. Les BMP ont été impliquées dans d'autres systèmes dont le développement résulte d'interactions épithéliomésenchymateuses. C'est ainsi que les BMP-2 et 4 sont synthétisées dans l'épithélium entourant le germe dentaire en développement, puis dans le mésenchyme et les odontoblastes de la papille [16]. L'implication des gènes codant pour les BMP au cours de l'embryogenèse a été confirmée par l'examen de mutations squelettiques. C'est ainsi que la mutation récessive, dite *short-ear*, se caractérise par une diminution du nombre des cellules précartilagineuses et une réduction de la taille du squelette. L'étude du chromosome a démontré la présence du gène codant pour la BMP-5 dans le locus du *short-ear* où le gène est délété ou réarrangé dans différentes mutations [17]. Le *brachypodisme* est une mutation qui affecte chez la souris le nombre et le nombre des os des membres, mais pas du squelette axial. La mutation en cause intéresse le gène codant pour le GDF5 (*growth differentiation factor-5*), un membre du sous-groupe des GDF-5, 6 et 7 appartenant à la famille des BMP [18]. Enfin, l'invali-

dation homozygote par recombinaison homologue du gène de la BMP-4 entraîne la mort de l'embryon [19], alors que celle du gène *BMP-7* aboutit à des malformations rénales responsables du décès périnatal des animaux, associées à des troubles du développement de l'œil et, de façon plus modérée, des os [20, 21].

Ces différents résultats confirment le rôle primordial que jouent les gènes des BMP au cours de la morphogenèse du squelette, mais suggèrent également un rôle beaucoup plus étendu durant l'organogenèse de l'embryon.

### Effets des BMP sur les cellules ostéoblastiques

L'une des approches permettant de comprendre l'action des BMP au niveau cellulaire est d'examiner *in vitro* leurs effets sur plusieurs variétés de cellules.

La BMP-2 augmente, en fonction de la dose, la synthèse de la phosphatase alcaline dans une lignée murine de cellules médullaires stromales capables de se différencier en adipocytes ou en ostéoblastes [22]. Elle augmente également l'activité phosphatase alcaline sur la lignée pluripotente ROB-C26 [23]. La BMP-4 stimule la prolifération, l'expression de la phosphatase alcaline et du collagène dans des cultures primaires ostéoblastiques de calvaria de rats [24]. L'ostéogénine (BMP-3) a des effets inhibiteurs sur la réplication de cellules ostéoblastiques et stimule les paramètres de différenciation (phosphatase alcaline, réponse à la PTH, collagènes) [25].

Les BMP semblent jouer un rôle primordial dans la mise en route et le déroulement de l'ostéogenèse par des effets séquentiels et combinés sur le recrutement, la prolifération et la différenciation de cellules ostéogéniques.

### Les récepteurs des BMP

Les avancées dans la caractérisation des récepteurs des BMP proviennent de nombreuses études sur le prototype des récepteurs des TGF- $\beta$  qui servent de point de départ et de paradigme pour les récepteurs des BMP. Les récepteurs des TGF- $\beta$  sont désignées comme I, II, III avec des

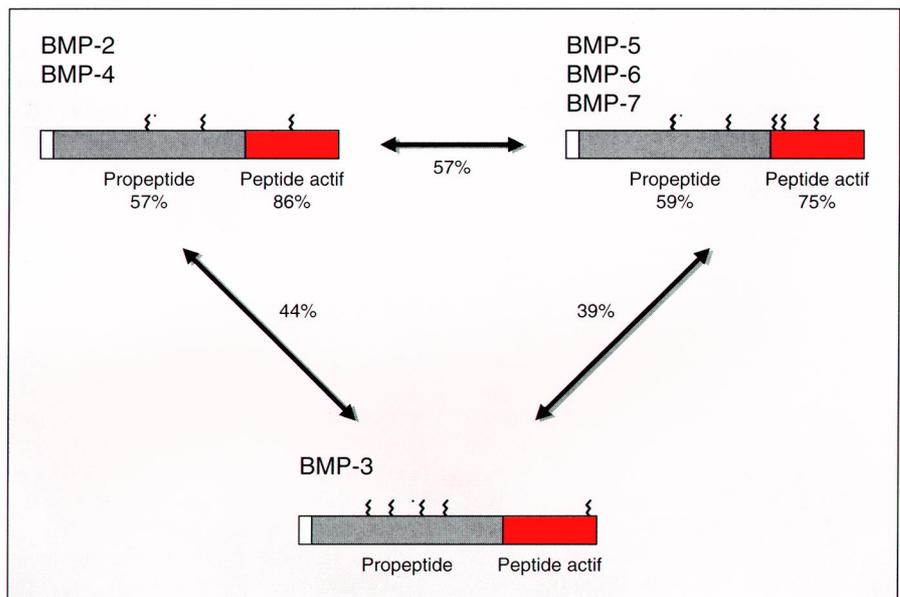


Figure 2. **Sous-groupes de BMP.** Les pourcentages situés sous le propeptide et le peptide actif indiquent l'identité des acides aminés à l'intérieur du groupe pour la région correspondante. Le pourcentage entre les groupes représente l'identité des peptides actifs. Les lignes irrégulières situées sur les barres représentent des sites de N-glycosylation. (Adapté de [7].)

Tableau II		
FAMILLE DES BMP (BONE MORPHOGENETIC PROTEINS)		
BMP	Autre nom	Référence
BMP-1	-	-
BMP-2	BMP-2A	[9]
BMP-3	Ostéogénine	[37]
BMP-4	BMP-2B	[9]
BMP-5	-	-
BMP-6	Vgr-1 (murin)	[15]
BMP-7	OP1 (Osteogenic protein-1)	[38]
BMP-8	OP2 (Osteogenic protein-2)	[39]

masses molaires respectives de 54-70, 80-100 et 300 kDa. Les récepteurs de type I et II sont de type sérine/thréonine kinase, avec un domaine extracellulaire riche en cystéines. Le récepteur de type III, ou bêtaglycan, est un protéoglycane comportant une protéine porteuse insérée dans la membrane plasmique et des chaînes de chondroïtine sulfate et héparane sulfate liées de façon covalente au domaine extracellulaire [26]. Le bêtaglycan joue un rôle important dans la liaison et la présentation du TGF- $\beta$  au récepteur de type II complexé au type I qui permet la transmission du signal.

Récemment, les récepteurs de type I des BMP-4 et BMP-7 (OP1) ont été isolés: ils appartiennent à la famille des récepteurs de type I à activité sérine/thréonine kinase de l'activine (ALK) (figure 3). La BMP-4 se lie à ALK-3 et ALK-6, tandis la BMP-7 se fixe à ALK-2 et ALK-6 [27]. Donc,

ALK-3 et ALK-6 représentent deux récepteurs de BMP dénommés respectivement, BMPR-IA et BMPR-IB. Chacun de ces récepteurs, à la famille desquels appartiennent aussi les produits des gènes *daf-1* et *daf-4* de *Caenorhabditis elegans*, ont un domaine intracellulaire à activité de sérine/thréonine kinase. Le récepteur de type I de la BMP-4 fixe le ligand par lui-même mais cette liaison est augmentée par interaction avec le récepteur de type II qui est l'équivalent de *daf-4* chez les mammifères. La découverte de ces récepteurs des BMP-4 et -7 et le clonage imminent de leurs ADNc devraient permettre une identification des cellules cibles; une priorité de nombreux scientifiques est cependant, à ce jour, la détermination du mode de transmission du signal en aval du récepteur, plus particulièrement au cours des stades précoces de différenciation de cellules cartilagineuses et osseuses progénitrices.

### La BMP-2 dans le traitement de pertes osseuses: perspectives thérapeutiques

La BMP-2 est capable, comme nous l'avons vu, d'induire une formation osseuse chez le rat dans un site ectopique. Pour être applicable dans des thérapeutiques de régénération, elle doit pouvoir être active chez l'homme dans des sites orthotopiques avec un os induit parfaitement intégré dans l'os préexistant.

L'effet de la BMP-2 a été évalué chez le rat [28]. Un segment de 5 mm a été réséqué au niveau du fémur. Deux doses de BMP-2 ont été administrées (1 et 11  $\mu$ g) et de la matrice osseuse inactive a été utilisée comme vecteur de la protéine inductive. Des examens radiographiques et des études histologiques ont montré une augmentation significative de la formation osseuse pour les fortes doses et des tests mécaniques ont révélé une parfaite union fonctionnelle entre les bords du défaut et l'os induit. Un modèle similaire a été utilisé en réséquant un fragment mandibulaire de 3 cm chez le chien et a montré après comblement avec de la BMP-2 combinée à de la matrice osseuse inactive une régénération *ad integrum* du défaut après 6 mois [29]. La BMP-3 s'est également avérée efficace pour stimuler la régénération cémentaire et osseuse parodontale chez le chien [30].

Une autre perspective thérapeutique intéressante est l'utilisation de facteurs inducteurs dans la réparation dentinaire. En effet, la BMP-7 (OP-1) est capable d'induire la formation de dentine réparatrice chez le singe [31]. De toutes ces expérimentations, il ressort que les BMP utilisées dans une perspective clinique nécessitent un vecteur. En effet, l'utilisation de BMP seules, implique de grandes quantités d'extraits et leur diffusion rapide (1/2 vie = 1 min 30) limite leur action dans le temps. Le vecteur doit répondre à trois objectifs: (1) protéger; (2) contrôler la cinétique de relargage et (3) contrôler la quantité de relargage du produit actif.

De nombreux vecteurs sont utilisés dans des expérimentations précliniques. L'hydroxyapatite a donné des résultats intéressants comme support

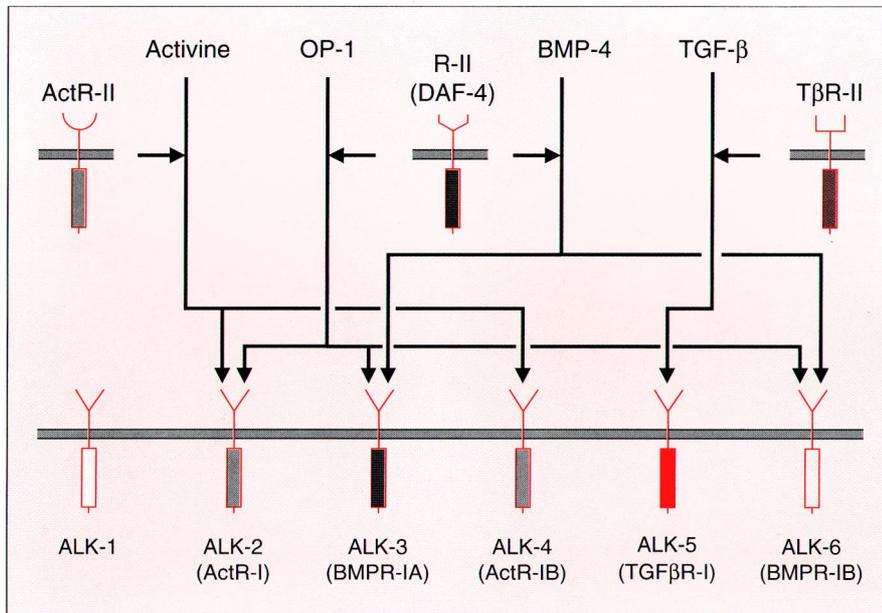


Figure 3. **Représentation schématique illustrant les différents types de liaison du TGF $\beta$ , de l'activine, OP-1 (osteogenic protein-1) et BMP-4 aux récepteurs de type ALK.** Parmi les six récepteurs de type I ALK, le TGF $\beta$  se lie à l'ALK-5 avec une grande affinité en présence de TGF $\beta$ R-II (récepteur de type II), tandis que l'activine se lie à l'ALK-2 et à l'ALK-4 avec une grande affinité en présence de ActR-II. OP-1 et BMP-4 se lient à ALK-3 et ALK-6, désignés respectivement BMPR-1A et BMPR-1B. OP-1 se lie également à ALK-2 qui est le récepteur de l'activine. La liaison de l'OP-1 et de la BMP-4 aux ALK est facilitée par *daf-4*, un récepteur de BMP de type II, homologue du produit du gène *daf-4* de *C.elegans*. Le ligand de ALK-1 n'a pas été identifié. (Adapté de [27].)

de l'ostéogénine chez le rat [32] et le singe [33]. D'autres vecteurs naturels ou synthétiques, organiques ou inorganiques ont donné des résultats inconstants [34-36]. Il semble qu'à ce jour le vecteur idéal reste à inventer. Il devra répondre à un cahier des charges: être biocompatible, biodégradable, permettre une immobilisation de la protéine sans la dénaturer et sa libération lente ■

**Jean-Michel Sautier**  
**Nadine Forest**

Laboratoire de biologie-odontologie, faculté de chirurgie dentaire, université Paris-VII, Institut biomédical des Cordeliers, 15-21, rue de l'École-de-Médecine, 75270 Paris Cedex 06, France.

\* ABRÉVIATIONS \*

**HPLC** : high-performance liquid chromatography  
**RPHPLC** : reverse phase high performance liquid chromatography  
**EGF** : epidermal growth factor  
**PTH** : parathormone  
**BMP** : bone morphogenetic protein  
**ALK** : activin-receptor-like kinase  
**Vg** : vegetal gene

RÉFÉRENCES

- Urist MR. Bone formation by autoinduction. *Science* 1965; 150: 893-9.
- Reddi AH, Huggins C. Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972; 69: 1601-5.
- Urist MR, Iwata H, Ceccotti PL, et al. Bone morphogenesis in implants of insoluble bone gelatin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70: 3511-5.
- Sampath TK, Reddi AH. Dissociative extraction and reconstitution of extracellular matrix components involved in local bone differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7599-603.
- Kawai T, Urist MR. Bovine tooth-derived bone morphogenetic protein. *J Dent Res* 1989; 68: 1069-74.
- Wang EA, Rosen V, Cordes P, et al. Purification and characterization of other distinct bone-inducing factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9484-8.
- Wosney JM. Using purified protein to clone its gene. *Meth Enzymol* 1990; 182: 738-51.
- Celeste AJ, Iannazzi JA, Taylor RC, Hewick RM, Rosen V, Wang EA, Wosney JM. Identification of transforming growth factor  $\beta$  family members present in bone-inductive protein purified from bovine bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 9843-7.
- Wosney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsch LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM, Wang EA. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 1988; 242: 1528-34.
- Padgett RW, St. Johnston RD, Gelbart WM. A transcript from a Drosophila pattern gene predicts a protein homologous to the transforming growth factor- $\beta$  family. *Nature* 1987; 325: 81-4.
- Smith JC, Price BMJ, Van Nimmen K, Huybroeck D. Identification of a potent Xenopus mesoderm-inducing factor as a homologue of activin A. *Nature* 1990; 345: 729-31.
- Kessler E, Takahara K, Biniaminov L, Brusel M, Greenspan DS. Bone morphogenetic protein-1: the type I procollagen C-proteinase. *Science* 1996; 271: 360-7.
- Lyons KM, Pelton RW, Hogan BLM. Organogenesis and pattern formation in the mouse: RNA distribution patterns suggest a role for bone morphogenetic protein-2A (BMP-2A). *Development* 1990; 109: 833-44.
- Rosen V, Wosney JM, Wang EA, et al. Purification and molecular cloning of a novel group of BMP and localization of BMP mRNA in developing bone. *Conn Tissue Res* 1989; 20: 313-9.
- Lyons KM, Pelton RW, Hogan BLM. Patterns expression of murine Vgr-1 and BMP-2a RNA suggest that transforming growth factor  $\beta$ -like genes coordinately regulate aspects of embryonic development. *Genes Dev* 1989; 3: 1657-68.
- Vainio S, Karanova L, Jowett A, Thesleff I. Identification of BMPs as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development. *Cell* 1993; 75: 45-58.
- Kingsley DM, Bland AE, Grubber JM, Marker PC, Russel LB, Copeland NG, Jenkins NA. The mouse short ear skeletal morphogenesis locus is associated with defects in a bone morphogenetic member of the TGF- $\beta$  superfamily. *Cell* 1992; 71: 399-410.
- Storm EE, Huynh TV, Copeland NG, Jenkins NA, Kingsley DM, Lee SJ. Limb alteration in Brachypodism mice due to mutations in a new member of the TGF- $\beta$  superfamily. *Nature* 1994; 368: 639-42.
- Reddi AH. Bone and cartilage differentiation. *Curr Op Genet Dev* 1994; 4: 737-44.
- Luo G, Hofmann C, Bronchers ALJJ, Soghocki M, Bradley A, Karsenty G. BMP-7 is an inducer of nephrogenesis, and is also required for eye development and skeletal patterning. *Genes Dev* 1995; 9: 2808-20.
- Dudley AT, Lyons KM, Robertson EJ. A requirement for bone morphogenetic protein-7 during development of the mammalian kidney and eye. *Genes Dev* 1995; 9: 2795-807.
- Thies RS, Bauduy M, McQuaid D, et al. Bone morphogenetic protein alters W-20 stromal cell differentiation *in vitro*. *J Bone Min Res* 1990; 5: S150.
- Yamaguchi A, Katagiri T, Ikeda T, et al. Recombinant BMP-2A bone induction in a rat orthopedic model. *J Bone Min Res* 1990; 5: S212.
- Chen T, Bates RL, Dudley A, et al. Bone morphogenetic protein 2b stimulates mitogenesis, alkaline phosphatase activity and collagen synthesis in osteoblast-like cells. *J Bone Min Res* 1990; 5: S215.
- Vukicevic S, Luyten FP, Reddi AH. Stimulation of the expression of osteogenic and chondrogenic phenotypes *in vitro* by osteogenin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 8793-7.
- Attisano L, Wrana JL, Lopez-Casillas F, TGF- $\beta$  receptors and action. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1222: 71-89.
- ten Dijke P, Yamashita H, Sampath TK, Reddi AH, Esteve ZM, Riddle DL, Ichijo H, Heldin CH, Miyazono K. Identification of type I receptors for osteogenic protein-1 and bone morphogenetic-4. *J Biol Chem* 1994; 269: 16985-98.
- Yasko RW, Lane JM, Fellingner EJ. Recombinant BMP-2A bone induction in a rat orthotopic model. *J Bone Miner Res* 1990; 5: 5212-21.

TIRÉS À PART

J.M. Sautier.

## RÉFÉRENCES

29. Toriumi DM, Kotler HS, Luxenberg DP, Holtrop ME, Wang E. Mandibular reconstruction with a recombinant bone-inducing factor. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991 ; 117 : 1101-12.
30. Sigurdsson TJ, Lee MB, Kubota K, Turek T, Wozney JM, Wikesjo UME. Periodontal repair in dogs : recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration. *J Periodontol* 1995 ; 66 : 131-8.
31. Rutherford RB, Wahle J, Tucker M, Rueder D, Charette M. Induction of reparative dentin formation in monkeys by recombinant human osteogenic protein-1. *Arch Oral Biol* 1993 ; 38 : 571-6.
32. Ripamonti U, Ma S, Reddi AH. The critical role of geometry of porous hydroxyapatite delivery system in induction of bone by osteogenin, a bone morphogenetic protein. *Matrix* 1992 ; 12 : 202-12.
33. Ripamonti U, Ma S, Cunningham NS, Yeates L, Reddi AH. Initiation of bone regeneration in adult baboons by osteogenin, a bone morphogenetic protein. *Matrix* 1992 ; 12 : 369-80.
34. Katoh T, Sato K, Kawamura M, Iwata H, Miura T. Osteogenesis in scintered bone combined with bovine bone morphogenetic protein. *Clin Orthop* 1993 ; 287 : 266-75.
35. Miamoto S, Takaoka K, Okada T, Yoshikawa H, Hashimoto J, Suzuki S, Ono K. Evaluation of polylactic acid homopolymers as carriers for bone morphogenetic proteins. *Clin Orthop Rel Res* 1992 ; 278 : 274-85.
36. Sato T, Kawamura M, Sato K, Iwata N, Miura T. Bone morphogenesis of rabbit bone morphogenetic protein bound hydroxyapatite fibrin composite. *Clin Orthop* 1991 ; 263 : 254-62.
37. Sampath TK, Muthukumaran N, Reddi AH. Isolation of osteogenin, an extracellular matrix-associated, bone-inductive protein by heparin chromatography. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 7109-13.
38. Özhaynak E, Reuger DC, Drier EA, Corbett C, Ridge RJ, Sampath TK, Opperman H. OP-1 cDNA encodes an osteogenic protein in the TGF- $\beta$  superfamily. *EMBO J* 1990 ; 9 : 2085-93.
39. Özhaynak E, Schnegelsberg PNJ, Jin DF, Clifford GM, Warren FD, Drier EA, Opperman H. Osteogenic protein-2. A new member of the TGF- $\beta$  superfamily expressed in embryogenesis. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 25220-7.