

# Kraniosinostozda Moleküler Genetik

## Molecular Genetics in Craniosynostosis

Murat BAŞARIR

Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Pediatrik Nöroşirürji Bölümü, Acıbadem Altunizade Hastanesi, İstanbul, Türkiye

### ÖZ

Kraniosinostozların moleküler genetiği ile ilgili çalışmalar son 20 yılda önem kazanmıştır. Kalvarial sütürlerin gelişimi ve erken kapanması ile ilgili oldukça detaylı genetik mekanizmalar gösterilmiştir. Çok sayıda yolağın bu süreçte rol oynadığı ortaya konmuştur. Non-sendromik ve sendromik kraniosinostozlarda 60'a yakın gen mutasyonunun bu patolojilere neden olduğu ispatlanmıştır. Günümüzde kraniosinostozların primer tedavisi cerrahidir. Asıl amaç kozmetik nedenler değil mevcut intrakranial basıncın azaltılması ve çocuğun nöromotor gelişiminin zarar görmeden devam etmesidir. Bu majör cerrahilerin mortalitesi %1,5-2 aralığındadır. Önümüzdeki yıllarda bu gen mutasyonları üzerine etkili olabilecek yeni terapötik yöntemler ile cerrahi morbiditeyi azaltmak ve postoperatif süreçte tekrar sütür kapanmasını önlemek esas hedef olacaktır.

**ANAHTAR SÖZCÜKLER:** Kraniosinostozis, Moleküler genetik, Sütür kapanması, MSX2

### ABSTRACT

The molecular genetics of craniosynostosis has become an important topic in the last 20 years. Detailed genetic mechanisms related to the development and early closure of calvarial sutures have been described. Many genetic pathways have been reported to play a role in this process. There are 60 gene mutations that have been proven to cause these pathologies in syndromic and non-syndromic craniosynostosis. The treatment for craniosynostosis is surgery at present. The main aim is not to solve the cosmetic problems but to decrease intracranial pressure and it has been shown that neuromotor development is less affected afterwards. The mortality rate of such surgery is 1.5-2%. New therapeutic methods will help manage these gene mutations and decrease surgical morbidity. The problem of postoperative reclosure of calvarial sutures will hopefully be solved in the near future.

**KEYWORDS:** Craniosynostosis, Molecular genetics, Suture closure, MSX2

### ■ GİRİŞ

Virchow, 1850'lerde kalvarial sütürün erken füzyonu ile kapanan sütüre paralel bir düzlemde büyümenin olduğunu, beraberinde bu büyüme doğrultusunda dik düzlemde de minimal büyümenin ortaya çıktığını ilk olarak belirtmiştir (29). Günümüzde de bu önemli teori ana hatları ile güncelliğini korumaktadır. Genetik bilimi ile kraniosinostozlar arasındaki ilk ilişkilendirme 1912 yılında Crouzon tarafından yapılmıştır. Moss 1959'da kalvarial gelişimde kafa tabanının

esas sorumlu faktör olduğunu ortaya koymuştur. Kapanan sütürün çıkartılmasının her zaman anormal kafatası gelişimini düzeltmediğini ve daha kompleks cerrahilere gereksinim olduğunu belirtmiştir (1). Yüz yılı aşkın süredir bu patolojinin genetik bağlantıları araştırılmakta, yeni neden sonuç ilişkileri ortaya konmasına rağmen birçok soru işareti de halen mevcuttur.

Bir ya da birden çok kranial sütürün erken kapanması 2250 çocuğun 1'inde görülür (3,14). Gebeliğin son 3 ayından ilk



Yazışma adresi: Murat BAŞARIR

E-posta: drmbasarir@hotmail.com

yaşın sonuna kadar olan süreçte hastanın fenotipi belirgin hale gelir. Kraniosinostoz cerrahilerindeki ilk hedef kafatasını yeniden şekillendirerek beyne ekstra hacim kazandırmak ve ikincil olarak da hastanın psikososyal gelişimine yardımcı olmaktır. Günümüzdeki cerrahi prosedürler halen %1,5-2 oranında mortaliteye sahiptir. Bununla beraber ciddi kan kayıpları, enfeksiyon, beyin omurilik sıvısı (BOS) kaçakları ve uzun hastane kalış süreleri gibi istenmeyen sonuçlara da neden olabilmektedir. Uzun dönemde ise opere edilen hastada sütürün tekrar kapanması ve yeniden cerrahiye giden süreçler ile karşılaşmaktadır. Açıkça görülmektedir ki, güncel tedavi stratejilerinin optimize edilmesinden ziyade kraniosinostozların yönetiminde yeni biyolojik terapiler bulunmalıdır. Bu sayede amaç, cerrahi yöntemlerin dışında tedavi süreçleri ortaya koymak ve hatta kraniosinostozların biyolojik olarak tanısı konarak daha ortaya çıkmadan engellemek olabilmelidir. Günümüzde sütür kapanmasını engelleyen herhangi bir farmakolojik ajan bulunmamaktadır.

Genel olarak birbiriyle etkileşim gösteren 3 faktör sütürlerin anormal füzyonuna neden olmaktadır:

1. Büyüyen beyin tarafından iletilen mekanik kuvvetlerin sütür açıklığını sağlaması.
2. Sütürün intrinsek özelliği (genetik nedenler).
3. Özellikle fetal dönemde kafatası üzerine etkili olan ekstresek kuvvetler (genellikle non-sendromik, tek sütür sinostozlarına neden olur).

Müльтиpl sütür füzyonları, pozitif aile öyküsü ve ek sendromik bulguların varlığı altta yatan genetik problemlerin olduğunu göstermektedir. Son 20 yılda kraniosinostozlardaki moleküler süreçlerin anlaşılması ve normal sütür gelişiminin ortaya konması, çalışmaları insan genetiği üzerindeki araştırmalara doğru yönlendirmiştir. Günümüzde kraniosinostozlarda 60'a yakın gen mutasyonu tanımlanmıştır. Son yıllarda ekzomların hızlı analizi sayesinde bu gen sayılarında artış olmuştur (33).

## ■ KLİNİK GENETİK İPUÇLARI

### Kraniosinostozların Monogenik Nedenleri

1993'te MSX2 (MIM:123101) nokta mutasyonunun tanımlanmasından sonra günümüze kadar 60'a yakın insan geninde kraniosinostozlar ile ilgili kanıta dayalı (en az 2 etkilenmiş bireyde görülen uyumlu fenotip) mutasyon bildirilmiştir. Tüm bu genler 2 ana gruba ayrılabilir:

1. Özel moleküler tipin mutasyonlarının olduğu genler (%50'den fazla bağımsız mutasyon) genellikle kraniosinostozlar ile ilişkilidir. Bu nedenle özel gen/mutasyon kombinasyonunun çekirdek karakteristiği olarak kabul edilebilirler.
2. Kraniosinostozun varlığında muhtemelen ilişkili olsa da gen mutasyonu azınlık bir grupta görülür.

MSX2 – muscle segment homebox – geni bir transkripsiyon faktörüdür, DNA'nın spesifik noktalarına bağlanarak çeşitli genlerin aktivitesini kontrol eder. Bu gen, hücrelerin ve dokuların uygun şekilde gelişmesi için ihtiyaç duyulan bir proteini

üretmede kullanılan bilgileri sağlamaktadır. “Kemik Morfojenik Protein” yolağındaki kimyasal sinyallerin regülasyonunda rol alır. Kafatasının gelişiminde de kritik görevi vardır.

Twigg ve ark. kraniosinostozların genetik-patofizyolojik iskeletini tanımladıkları çalışmalarında kalvarial sütürlerin formasyonunu 5 ana basamağa ayırmışlardır (33). Bu sayede hangi aşamalarda ne tür genetik hasarların ortaya çıktığını ve sonuçlarını tanımlamada kolaylıklar sağlanmıştır.

1. Kök Hücre Spesifikasyonu ve Göçü: Uzun süredir sütürlerin kök hücreye benzer andiferansiye osteojenik hücreler içerdiği düşünülmüştür (15,37). Hedgehog sinyalizasyonunun klasik belirteci (marker) olan Gli1'in varlığı gösterilmiştir. Sütürdeki kök hücreleri tanımlar. Hayvan deneylerinde Gli1 eksprese eden hücrelerin yokluğunda koronal sinostozun ortaya çıktığı izlenmiştir (42).
2. Soy Taahhüdü: Nöral krestten (gelecekteki frontal kemik) köken alan osteojenik potansiyele sahip hücreler ve mezoderm (gelecekteki parietal kemik) birbirlerinden paraksial mezodermin bir bölgesinde lokalize olmuş andiferansiye kök hücreler tarafından ayrılırlar. Bu süreçte rol alan anahtar transkripsiyon faktörleri; EN1, MSX2 ve TWIST1'dir. Hepsi supraorbital regülatör merkezde yer alırlar (7).
3. Sınır Oluşumu ve Bütünlüğün Sağlanması: Bahsedilen süreçler sırasında hücre göçlerinin doğru yolda ilerlediklerini teyid etmek için kılavuzlara ihtiyaç vardır. Koronal sütür için önemli olan, farklı embriyonal kökenlerden kaynaklanan dokular arasındaki sınırdaki yer almasıdır. Bu farklı dokular; trigeminal nöral krest (frontal kemik) ve sefalik mezoderm (parietal kemik). Wnt1-Cre/R26R sistemi ile yapılan soy incelemesinde koronal sütürün mezodermden kaynaklandığı görülmüştür (13,40). Metopik sütür benzersiz bir şekilde nöral krestin içerisinden oluşur. Sagittal ve lambdoid sütürler ise koronal sütür gibi nöral krest/mezodermal kaynaklardan köken alırlar (23). Bu nedenle nörokognitif anormallikleri olan ve dismorfik değişikliklerin de eşlik ettiği metopik sinostozlu hastalarda nöral krest gelişiminde bir sorun olduğu düşünülmektedir (18). Koronal sütür kök hücreleri içerir. Bu hücreler sayesinde yakınında yer alan parietal ve frontal kemikler beslenirler. Sütür sınırlarını besleyecek ve tüm bu süreçlerin devamında rol alacak transkripsiyon faktörleri; EN1, TWIST1, MSX2, EPHRIN/EPH reseptörü ve JAGGED/NOTCH aileleridir. Tüm bu moleküller doku sınırlarının da oluşmasında rol oynarlar (22,32,39).
4. Osteojenik Proliferasyon ve Farklılaşma: Kraniosinostozlar, sıklıkla anahtar hücre bölünme genlerindeki defektler ile ilişkilidir. Koronal sütürdeki mid-sütüral mezenkimde eksprese olan TWIST1 direkt olarak RUNX2 ile antagonisttir. RUNX2, mid-sütüral hücrelerin osteogeneze gitme mekanizmasında önemli bir rol almaktadır (2). Kalvarial büyümede etkili ikinci anahtar faktör osteoiddir. Bu, osteoblastlar tarafından üretilen, kollajenöz ve mineralize olmaması matriksdir (23). Sütürlerin altında bulunan dura ise FGF2, BMP4 ve TGFβ1 gibi büyüme faktörlerini üretir (17). Kartilaginöz kemiklerde, Runx2 transkripsiyon faktörü terminal osteojenik farklılaşmanın pozitif regülasyonunda önemli rol

oyun. İntramembranöz kemikleşmeye uğrayan kemiklerde (kafatası kubbesi gibi) daha yüksek doz RUNX2'ye ihtiyaç vardır. Endokondral kemikleşme gösterenlerde ise bu doz daha azdır. Kraniosinostozlarda RUNX2 duplikasyonu izlenir (21,35). Genetik çalışmalarda osteoblast farklılaşmasında retinoik asidin de rolü ortaya konmuştur. POR'da (MIM: 124015) görülen resesif mutasyonlar sonucunda Antley-Bixler Sendromu (MIM: 201750) ortaya çıkmaktadır. Bu tabloda kraniosinostozla eşlik eden anormal steroidogenez de izlenmektedir (9). Mekanik kuvvetlerin proliferasyon/farklılaşma cevabına nasıl entegre oldukları tam bilinmemektedir. Ancak primer siliaların anahtar rolü oynadığı düşünülmektedir (20). Kalvarial kültürlerde, gerilmiş sütürlerin FGF2 salgıladıkları ve kalsiyuma geçirgenliğin aniden arttığı gösterilmiştir (41).

5. Rezorpsiyon/Homeostazis: Olgun sütürdeki istikrarlı evre osteogenez ve rezorpsiyon arasındaki denge ile kurulmuştur. Jeneralize iskelet displazileri ile ilişkili genler çok nadir olarak kraniosinostozlara neden olurlar. Buradaki denge etkilenir. Örneğin osteopetrozis mevcudiyetinde klinik olarak kraniosinostotik bulgular da görülmektedir. Kıkırdığın kraniosinostozlardaki rolü tam olarak açığa çıkmamıştır. Kafatası kemikleri intramembranöz kemikleşme ile oluşurlar dense de geçici kıkırdak ara ürünleri meydana gelmektedir (12).

En sık olarak non-sendromik kraniosinostozlar ile karşılaşmamıza rağmen bunların genetik etiyojileri hakkında oldukça zayıf bilgiler mevcuttur. EphrinA-4 (EFNA-4), mutasyona uğradığında non-sendromik kraniosinostozlar ile ilişkisi ortaya konan ilk genlerden biridir (22). Hastalarda; FGFR-1, -2, -3, ve TWIST-1 genlerinin de rolü olduğu gösterilmiştir (6,16,21). Sendromik sinostozlarda ise sütür gelişimi ve kapanması hakkında önemli mekanizmaların bulunması ile detaylı bilgilere ulaşılmıştır. Bu sayede kraniosinostozlardaki moleküler etyopatoloji ile ilgili çalışmaların önü açılmıştır. En az 150 sendromun kraniosinostozlar ile majör klinik ilişkisi olduğu ortaya konmuştur. Ailesel olgularda bağlantı analizleri yapılmış olup kromozomal değişikliklerin moleküler analizleri ile birçok genin mutasyona uğradığında sendromik kraniosinostozlar ile yakın ilişkileri gösterilmiştir. Bu genler; FGFR-1, FGFR-2, FGFR-3, TWIST-1, EFNB-1, MSX2 ve RAB-23'tür (Tablo I) (26).

FGFR ailesi 4 adet sinyal transdüksiyon reseptör kinazı içerir. Bunlar en çok ilgiyi çeken grup olmuştur. Üç tanesinin birçok sendromik kraniosinostozlarla yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir (26). Dimerizasyon sonrasında bu reseptörler otofosforilize olurlar. Sinyal transdüksiyonunu birçok yol vasıtasıyla başlatırlar. Bu sayede hücre proliferasyonu, farklılaştırması, migrasyonu ve apoptozunu kontrol ederler (8,26). FGFR-1, FGFR-2 ve FGFR-3 mutasyonları, her zaman fonksiyon mutasyonlarıdır. Igll-Iglll bağlayıcı bölgelerinde lokalizedirler. Bu sayede gelişmiş bağlayıcı özellik kazanmış olurlar. Bu mutasyonlar arasında; FGFR-2'deki (Cys342Tyr) nokta mutasyonu Crouzon Sendromu, Ser252Trp Apert Sendromu, FGFR-1 Pro252Arg Pfeiffer Sendromu ve analog FGFR-3 mutasyonları da Muenke Sendromu ile ilişkilidir (Tablo II) (24,27,38).

TGF-b'nın kemik biyolojisindeki rolü iyi anlaşılmıştır. FGF sinyal yollarının aksine, TGF-b yolunun kraniosinostozlar ile yakın ilişkilendirilmesi yapılamamıştır. Hunter-Thompson Kondrodisplazisi'nin TGF-b süper aile mutasyonu ile bağlantısı kraniosinostozlarda ilk ortaya konan klinik tablodur (31). TGF-b reseptörlerinde bulunan yeni bir fonksiyonel mutasyon tanımlanmıştır. Bunun direkt olarak klinik sendromlardaki rolü tanımlanmamıştır, ancak hem insan hem de fare çalışmalarında TGF-b sinyalizasyonunun sütür morfogenezinde ve açıklığının sağlanmasındaki önemi ortaya konmuştur. TGF-β2 için artmış immünoreaktivite, sinostotik sütürlerin analizlerinde gösterilmiştir (28). Klinik çalışmalar TGF-b için kraniosinostozların patogenezinde bir rol tanımlamaya çalışırken mevcut bilgiler doğrultusunda bu yolun tedavide önemli bir hedef olduğu anlaşılmıştır.

## ■ GELECEKTEKİ TEDAVİ YÖNTEMLERİ

Günümüzde kraniosinostozların tedavisi cerrahidir. Klinik ve hayvan çalışmalarından elde edilen yeni bilgiler doğrultusunda gelecekte kraniosinostozlarda medikal tedavinin mümkün olabileceğine dair ipuçları elde edilmektedir. Biyomoleküler mekanizmaların sütür füzyonundaki rolleri anlaşıldıkça cerrahi yaklaşımlar ile birlikte kombine tedaviler de ortaya çıkabilir. Geliştirilmiş cerrahi yaklaşımlar ile birlikte farmakolojik ya da genetik destekleyici ajanlar kullanılarak total kalvarial yeniden

**Tablo I:** Tek Sütür Kraniosinostozlar İle İlişkili Genler ve Genetik Varyantlar (11)

Nonsendromik Kraniosinostoz Tipi	Gen	Lokus	Mutasyon
Sagittal	FGFR2	10q26	A344A K526E
	TWIST1	7p21	S188L S201T
	IGF1R	15q26	R406H N857S
Unikoronar	TWIST1	7p21	A186T R39G DEL
	FGFR2	10q26	A315S A337T
	FGFR3	4p16	C749G P250R
Bikoronar	IGF1R	15q26	R595H P190S M446V
	FGFR2 FGFR3	10q26 4p16	A344A P250R
Metopik	RUNX2	6p21	Gen duplikasyonu

**Tablo II:** Sendromik Kraniosinostozların Genetik Bağlantıları (16)

Sendrom	Genetik
Muenke	FGFR3 p.Pro250Arg Otozomal dominant
Crouzon	FGFR2 FGFR3 (akantozis nigrikans ile birlikte) Otozomal dominant
Apert	FGFR2 (olguların %98'inde Ser252Trp, Ser252Phe, Pro253Arg à ekzon7; diğer olgular FGFR2 ekzon9) Otozomal dominant, çoğu olgu sporadik mutasyon
Pfeiffer	Tip I à FGFR1 & FGFR2 Tip II ve Tip III à FGFR2 (olguların çoğu sporadik mutasyon) Otozomal dominant
Antley-Bixler	Tip I à FGFR2 (heterozigot mutasyonlar) Tip II à POR (homozigot mutasyonlar)
Hallermann-Streiff	Genetik kaynağı bilinmiyor Otozomal resesif
Saethre-Chotzen	TWIST1 Otozomal dominant
Kraniofrontonazal	EFNB1 X'e bağlı bozukluk
Jackson-Weiss	FGFR2

şekillendirme cerrahilerinin mortalitelerini en aza indirmek hedeflenecektir.

Kraniosinostozların etiyopatolojisinde FGF sinyalizasyonunun rolü iyi olarak bilinmektedir. Bu sayede, FGF reseptör aşağı regülasyonunun ya da sinyalizasyon kaskadına müdahale ile farmakolojik tedavide gelişmeler sağlanabilir. Ueno ve ark. ilk olarak kesilmiş FGFR1'in kullanımını tanımlamışlardır. Burada sitoplazmik alan ortadan kaldırılmıştır. Bu sayede FGF ligandları tarafından sinyal transdüksiyonu inhibe edilmiştir (34). Greenwald ve ark. tarafından yapılan çalışmada kesilmiş bir reseptör kullanılarak FGF sinyallerinin fizyolojik seviyesi azaltılmış ve anormal sütür füzyonu engellenmiştir (10).

FGF sinyal transdüksiyonunun downstream (aşağı akım) modülasyonu hedeflendirilmiş farmakolojik tedavi ile amaçlanmaktadır. Apert Sendromu'nda osteoblastların MAP kinaz inhibitörü PD98059 ile tedavisi IL-1a ekspresyonunu azaltmıştır. IL-1a bu osteoblastlarda patolojik olarak fazladır (19). Shukla ve ark. Apert Sendromu olan mutant fareyi, gebe anneye intraperitoneal olarak U0126 enjekte ederek görsel olarak tedavi etmişlerdir. U0126, MEK1/2 inhibitörüdür. Bu tedavi ile bazı heterozigot mutant farelerde koronal sinostoz ve infertilite geri dönmüştür (30). TGFb sinyal yolları da farmakolojik tedavi için önemli bir anlam kazanmıştır. Opperman ve ark. bu

konuda çalışmalar yapmışlar ve TGF-β2 antikorlarının sütürlerin füzyonunda gerileme ya da düzelmeye neden olduğunu göstermişlerdir (25).

Biyomoleküler yolları hedef alan farmakolojik tedavilerden ayrı olarak cerrahi ve sonrasındaki sürece yardımcı olacak farklı tedavi yaklaşımları da ortaya konmuştur. Warren ve ark. BMP antagonisti Noggin'in aşırı üretimi ile farelerde fizyolojik sütür füzyonunun engellendiğini göstermişlerdir (36). Cooper ve ark. postoperatif dönemde Noggin'in eksojen olarak verilmesi ile re-stenozun farelerde ve tavşanlarda inhibe edildiğini ortaya koymuşlardır (4,5). Bu veriler doğrultusunda Noggin, cerrahiye ek potansiyel bir yardımcı tedavi ajanı olarak tekrar füzyon olmasını engellemek amacı ile kraniosinostozlu çocuklarda kullanılabilir.

## ■ SONUÇ

Kraniosinostozların moleküler genetiği hakkındaki bilgimiz her geçen gün artmaktadır. Son 20 yılda, birçok klasik sendromdaki patojenik mutasyonlar gösterilmiştir. Moleküler genetik araştırmalarında tüm ekzon ve genomların 2010 yılından itibaren ortaya konması ile kraniosinostozlardaki mutajen genlerin tanımlanması ile ilgili süreç oldukça hızlanmıştır.

Erken sütür füzyonunun farmakolojik ya da genetik yönden tedavisinde ileriye dönük belirgin gelişmeler olacağı da aşikardır. Sütürlerin gelişiminde ve kapanmasında birçok yolak görev aldığından dolayı şu anda tedavide tek ajanın varlığından bahsetmek yanlış olacaktır. Güncel tedavi seçeneği cerrahidir. Amaç, cerrahinin morbiditesini minimum düzeye indirmek ve postoperatif dönemde ise sütürün tekrar kapanmasını mümkün olduğunca geciktirmek ya da engellemektir. Devam eden klinik genetik ve biyomoleküler mekanizma çalışmaları ile erken sütür kapanmasının ileride cerrahi olmayan tedavilerin gelişmesi ile ilgili büyük beklentiler doğmuştur.

## ■ KAYNAKLAR

1. Baird LC, Proctor MR: Craniosynostosis. In: Albright AL, Pollack IF, Adelson PD (eds). Principles and Practice of Pediatric Neurosurgery, üçüncü baskı. New York: Thieme, 2015:237-248
2. Bialek P, Kern B, Yang X, Schrock M, Sosis D, Hong N, Wu H, Yu K, Ornitz DM, Olson EN, Justice MJ, Karsenty G: A twist code determines the onset of osteoblast differentiation. Dev Cell 6:423-435, 2004
3. Boulet SL, Rasmussen SA, Honein MA: A population-based study of craniosynostosis in metropolitan Atlanta, 1989-2003. Am J Med Genet A 146A:984-991, 2008
4. Cooper GM, Curry C, Barbano TE, Burrows AM, Vecchione L, Caccamese JF, Norbutt CS, Costello BJ, Losee JE, Moursi AM, Huard J, Mooney MP: Noggin inhibits postoperative resynostosis in craniosynostotic rabbits. J Bone Miner Res 22:1046-1054, 2007
5. Cooper GM, Usas A, Olshanski A, Mooney MP, Losee JE, Huard J: Ex vivo Noggin gene therapy inhibits bone formation in a mouse model of postoperative resynostosis. Plast Reconstr Surg 123:94S-103S, 2009

6. Cunningham ML, Horst JA, Rieder MJ, Hing AV, Stanaway IB, Park SS, Samudrala R, Speltz ML: IGF1R variants associated with isolated single suture craniosynostosis. *Am J Med Genet A* 155A:91-97, 2011
7. Deckelbaum RA, Holmes G, Zhao Z, Tong C, Basilico C, Loomis CA: Regulation of cranial morphogenesis and cell fate at the neural crest-mesoderm boundary by engrailed 1. *Development* 139:1346-1358, 2012
8. Eswarakumar VP, Lax I, Schlessinger J: Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 16:139-149, 2005
9. Fluck CE, Tajima T, Pandey AV, Arlt W, Okuhara K, Verge CF, Jabs EW, Mendonça BB, Fujieda K, Miller WL: Mutant P450 oxidoreductase causes disordered steroidogenesis with and without Antley-Bixler syndrome. *Nat Genet* 36:228-230, 2004
10. Greenwald JA, Mehrara BJ, Spector JA, Warren SM, Fagenholz PJ, Smith LE, Bouletreau PJ, Crisera FE, Ueno H, Longaker MT: In vivo modulation of FGF biological activity alters cranial suture fate. *Am J Pathol* 158:441-452, 2001
11. Hwang SK, Park KS, Park SH, Hwang SK: Update of diagnostic evaluation of craniosynostosis with a focus on pediatric systematic evaluation and genetic studies. *J Korean Neurosurg Soc* 59:214-218, 2016
12. Iseki S, Wilkie AO, Morriss-Kay GM: Fgfr1 and Fgfr2 have distinct differentiation- and proliferation-related roles in the developing mouse skull vault. *Development* 126:5611-5620, 1999
13. Jiang X, Iseki S, Maxson RE, Sucov HM, Morriss-Kay GM: Tissue origins and interactions in the mammalian skull vault. *Dev Biol* 241:106-116, 2002
14. Lajeunie E, Le Merrer M, Bonaiti-Pellie C, Marchac D, Renier D: Genetic study of nonsyndromic coronal craniosynostosis. *Am J Med Genet* 55:500-504, 1995
15. Lana-Elola E, Rice R, Grigoriadis AE, Rice DP: Cell fate specification during calvarial bone and suture development. *Dev Biol* 311:335-346, 2007
16. Lattanzi W, Bukvic N, Barba M, Tamburrini G, Bernardini C, Michetti F, Di Rocco C: Genetic basis of single-suture synostoses: Genes, chromosomes and clinical implications. *Childs Nerv Syst* 28:1301-1310, 2012
17. Levi B, Wan DC, Wong VW, Nelson E, Hyun J, Longaker MT: Cranial suture biology: From pathways to patient care. *J Craniofac Surg* 23:13-19, 2012
18. Liu B, Chen S, Johnson C, Helms JA: A ciliopathy with hydrocephalus, isolated craniosynostosis, hypertelorism, and clefting caused by deletion of Kif3a. *Reprod Toxicol* 48:88-97, 2014
19. Lomri A, Lemonnier J, Delannoy P, Marie PJ: Increased expression of protein kinase Calpha, interleukin-1alpha, and RhoA guanosine 5'-triphosphatase in osteoblasts expressing the Ser252Trp fibroblast growth factor 2 receptor Apert mutation: identification by analysis of complementary DNA microarray. *J Bone Miner Res* 16:705-712, 2001
20. Mathieu PS, Bodle JC, Loba EG: Primary cilium mechanotransduction of tensile strain in 3D culture: Finite element analyses of strain amplification caused by tensile strain applied to a primary cilium embedded in a collagen matrix. *J Biomech* 47:2211-2217, 2014
21. Mefford HC, Shafer N, Antonacci F, Tsai JM, Park SS, Hing AV, Rieder MJ, Smyth MD, Speltz ML, Eichler EE, Cunningham ML: Copy number variation analysis in single-suture craniosynostosis: Multiple rare variants including RUNX2 duplication in two cousins with metopic craniosynostosis. *Am J Med Genet A* 152A:2203-2210, 2010
22. Merrill AE, Bochukova EG, Brugger SM, Ishii M, Pilz DT, Wall SA, Lyons KM, Wilkie AO, Maxson RE Jr: Cell mixing at a neural crest-mesoderm boundary and deficient ephrin-Eph signaling in the pathogenesis of craniosynostosis. *Hum Mol Genet* 15:1319-1328, 2006
23. Morriss-Kay GM, Wilkie AO: Growth of the normal skull vault and its alteration in craniosynostosis: Insights from human genetics and experimental studies. *J Anat* 207:637-653, 2005
24. Muenke M, Gripp KW, McDonald-McGinn DM, Gaudenz K, Whitaker LA, Bartlett SP, Markowitz RI, Robin NH, Nwokoro N, Mulvihill JJ, Losken HW, Mulliken JB, Guttmacher AE, Wilroy RS, Clarke LA, Hollway G, Adès LC, Haan EA, Mulley JC, Cohen MM Jr, Bellus GA, Francomano CA, Moloney DM, Wall SA, Wilkie AOM, Zackai EH: A unique point mutation in the fibroblast growth factor receptor 3 gene (FGFR3) defines a new craniosynostosis syndrome. *Am J Hum Genet* 60:555-564, 1997
25. Opperman LA, Chhabra A, Cho RW, Ogle RC: Cranial suture obliteration is induced by removal of transforming growth factor (TGF)-beta 3 activity and prevented by removal of TGF-beta 2 activity from fetal rat calvaria in vitro. *J Craniofac Genet Dev Biol* 19:164-173, 1999
26. Rice DP: Craniofacial sutures. Development, disease and treatment. Preface. *Front Oral Biol* 12:xi, 2008
27. Robin NH, Feldman GJ, Mitchell HF, Lorenz P, Wilroy RS, Zackai EH, Allanson JE, Reich EW, Pfeiffer RA, Clarke LA, Warmani ML, Mulliken JB, Brueton LA, Winter RM, Price RA, Gasser DL, Muenke M: Linkage of Pfeiffer syndrome to chromosome 8 centromere and evidence for genetic heterogeneity. *Hum Mol Genet* 3:2153-2158, 1994
28. Roth DA, Gold LI, Han VK, McCarthy JG, Sung JJ, Wisoff JH, Longaker MT: Immunolocalization of transforming growth factor beta 1, beta 2, and beta 3 and insulin-like growth factor I in premature cranial suture fusion. *Plast Reconstr Surg* 99:300-309; discussion 310-316, 1997
29. Senarath-Yapa K, Chung MT, McArdle A, Wong VW, Quarto N, Longaker MT, Wan DC: Craniosynostosis: Molecular pathways and future pharmacologic therapy. *Organogenesis* 8:103-113, 2012
30. Shukla V, Coumoul X, Wang RH, Kim HS, Deng CX: RNA interference and inhibition of MEK-ERK signaling prevent abnormal skeletal phenotypes in a mouse model of craniosynostosis. *Nat Genet* 39:1145-1150, 2007
31. Thomas JT, Lin K, Nandedkar M, Camargo M, Cervenka J, Luyten FP: A human chondrodysplasia due to a mutation in a TGF-beta superfamily member. *Nat Genet* 12:315-317, 1996
32. Ting MC, Wu NL, Roybal PG, Sun J, Liu L, Yen Y, Maxson RE Jr: EphA4 as an effector of Twist1 in the guidance of osteogenic precursor cells during calvarial bone growth and in craniosynostosis. *Development* 136:855-864, 2009
33. Twigg SR, Wilkie AO: A genetic-pathophysiological framework for craniosynostosis. *Am J Hum Genet* 97:359-377, 2015

34. Ueno H, Gunn M, Dell K, Tseng A Jr, Williams L: A truncated form of fibroblast growth factor receptor 1 inhibits signal transduction by multiple types of fibroblast growth factor receptor. *J Biol Chem* 267:1470-1476, 1992
35. Varvagiannis K, Stefanidou A, Gyftodimou Y, Lord H, Williams L, Sarri C, Pandelia E, Bazopoulou-Kyrkanidou E, Noakes C, Lester T, Wilkie AO, Petersen MB: Pure de novo partial trisomy 6p in a girl with craniosynostosis. *Am J Med Genet A* 161A:343-351, 2013
36. Warren SM, Brunet LJ, Harland RM, Economides AN, Longaker MT: The BMP antagonist noggin regulates cranial suture fusion. *Nature* 422:625-629, 2003
37. Wilkie AO: Craniosynostosis: Genes and mechanisms. *Hum Mol Genet* 6:1647-1656, 1997
38. Wilkie AO, Slaney SF, Oldridge M, Poole MD, Ashworth GJ, Hockley AD, Hayward RD, David DJ, Pulleyn LJ, Rutland P, Malcolm S, Winter RM, Reardon W: Apert syndrome results from localized mutations of FGFR2 and is allelic with Crouzon syndrome. *Nat Genet* 9:165-172, 1995
39. Yen HY, Ting MC, Maxson RE: Jagged1 functions downstream of Twist1 in the specification of the coronal suture and the formation of a boundary between osteogenic and non-osteogenic cells. *Dev Biol* 347:258-270, 2010
40. Yoshida T, Vivatbutsiri P, Morriss-Kay G, Saga Y, Iseki S: Cell lineage in mammalian craniofacial mesenchyme. *Mech Dev* 125:797-808, 2008
41. Yu JC, Lucas JH, Fryberg K, Borke JL: Extrinsic tension results in FGF-2 release, membrane permeability change, and intracellular Ca<sup>++</sup> increase in immature cranial sutures. *J Craniofac Surg* 12:391-398, 2001
42. Zhao H, Feng J, Ho TV, Grimes W, Urata M, Chai Y: The suture provides a niche for mesenchymal stem cells of craniofacial bones. *Nat Cell Biol* 17:386-396, 2015