

## Neuromeres of the CNS axis

福岡大学 脳神経外科 東 登志夫

### 1. はじめに

脊椎動物の発生における体節とは、胚発生において前後軸に分節した中胚葉性の構造物をいう。体節の原則は、ひとつの体節のパターンからいろいろなバリエーションをつくりだすことである。このような分節構造を発生過程で用いることによって、形態学的あるいは機能的多様性を獲得することができる。中枢神経系においても、同様の分節構造が発生における役割を果たしているのであろうか。脊髄や脊柱の分節は誰が見てもはっきりしたものである。このような分節が、脳や頭にあるのか？ あるとすればその数はいくつなのか？ といった問題が古くから考えられてきた。最初にこの疑問を提起したのは、ドイツの文豪ゲーテといわれる。

脊椎動物の中枢神経系における発生の古典的なコンセプトの構築は、成体における脳の外観（形態）との関係性を基本としていた。しかしながら、近年の発生生物学における遺伝子発現解析やfate mappingの方法により、脳の構造と発生過程での各パーツとの新たな因果関係が明らかになってきた。この新しい概念体系は、中枢神経系の発生における分節パターンを明らかにしつつある<sup>(1)</sup>。

### 2. ニューロメアとは

ニューロメア (Neuromere)とは、脊椎動物の脳の発生期に一過性にみられる分節構造であり、1828年にvon Baerによって見いだされ、脳をつくるための基本的な発生要素と考えられてきた<sup>(2) (3) (4)</sup>。具体的には、神経管の分節単位で、共通した背腹軸方向の構造を持つ(floor, basal, alar, and roof plates)。それぞれの分節はユニークな分子生物学的特徴 (molecular identity)を持ち、独自の分化を示す。すなわち、個々のニューロメアが特定のニューロンを生み出す基本ユニットとして機能しているのである。ニューロメアには、prosomeres (secondary prosencephalon, diencephalon), mesomeres (mid-brain), rhombomeres (hindbrain)がある。このように、前後軸および背腹軸に沿った脳の区画にもとづき、区画化された各領域の神経上皮細胞が独自の性質を獲得する課程が、脳の初期パターンングと考えられる(Fig. 1)。



Fig. 1, ニワトリ胚のロンボメア（菱脳分節）。(A)ニワトリ3日目胚の後脳（菱脳）。蓋板は除去してあり、神経上皮の形態的な分節パターンが見える。r1/r2の境界を上矢印、r6/r7の境界を下矢印で示す。(B)同じステージのニワトリ後脳のニューロフィラメント抗体による免疫染色像。ロンボメアの境界が際だって見えるが、これは境界が脳の半対側へと伸びる軸索の経路となっているからである<sup>(21)</sup>。

脊椎動物で最初にニューロメアが確認できるのは無顎類である。古生代シルル紀やデボン紀の水中で繁栄していた動物群であり、原生の無顎類であるヤツメウナギ胚の脳にはニューロメアが観察され、そのマーカーとなる遺伝子群も顎口類ときわめてよく似たパターンで発現している<sup>(5)</sup> <sup>(6)</sup>。つまり、進化の過程においても、中枢神経の発生における共通の保存されたメカニズムといえる(Fig. 2)。

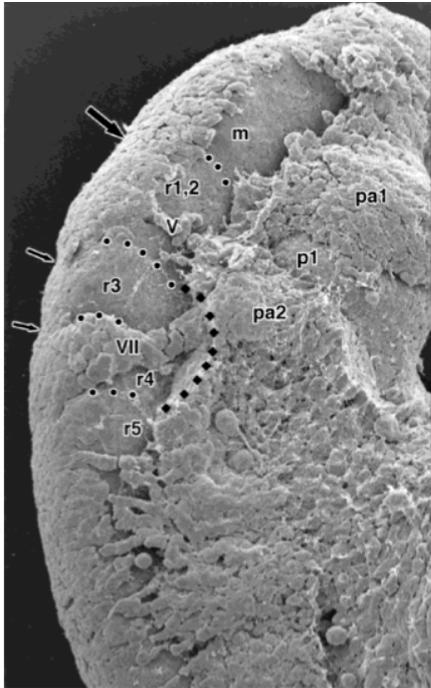


Fig. 2, ヤツメウナギ胚 (stage23)、神経管の走査電子顕微鏡写真。右側からの観察、上方が前方。ドットはニューロメア分節、小矢印はロンボメア分節、大矢印は中脳/後脳境界を示す。r4表面に第VII神経の原基を認める。r3, r5にはない。Scale bar = 100um. <sup>(5)</sup>

### 3. 脳の領域化

脳の発生は膨大な数の遺伝子の作用によって決定される。哺乳類は約25,000種の遺伝子を持っており、その約半数が脳をつくりあげ、維持しているとされる。しかしながら、成人の脳には約860億個のニューロンがあり、それぞれが数千の結合をもっている。つまり、遺伝子はレシピ（大まかなつくり方）に相当するものであって、ひとつひとつすべてのシナプスについて記載された設計図ではないことは明らかである。遺伝子はまずニューロンの基本的な集団をつくりだし、その後、化学的な濃度の勾配を利用して、分化した神経システムをつくってゆく<sup>(7)</sup>。

発生が進行すると、神経板は神経管と呼ばれる管状の構造物に変化する。この形態変化の際に生じる神経管のくびれが、初期脳に区画を与える。「領域化（パターン形成ともよばれる）」とは、神経管のそれぞれの領域が、将来どのような神経組織として分化するかを決定する、解剖学的な区域に依存した運命決定機構といえる。これには、オーガナイザー分子によって誘導される転写因子の発現、転写因子同士の発現抑制機構、転写因子によって誘導される細胞表面分子等が関与する。

パターン形成の過程を考えると、領域化とは、神経管の中に“番地”がつけられることといえる。地図上の位置や住所のように、脳にもこのような番地があり、それぞれの領域の「位置情報」になっている。この脳の番地には、「前後軸」と「背腹軸」という2つの座標軸が使われている。この座標軸は、分泌されるタンパク質の濃度勾配を表現したものである<sup>(8)</sup>。

### 4. 転写因子によるコンパートメントおよび境界形成

ロンボメアにおける各分節の特性は、Hoxコードと呼ばれるHox遺伝子の発現の組み合わせにより決まることが確立された。これは転写因子群の組み合わせによりある領域の性質が決まることを示した画期的なものであった。Hox遺伝子群はショウジョウバエのアンテナペディア遺伝子群と相同なもので、ショウジョウバエでも体節の特性を決めるものである。その後ショウジョウバエでクローニングされた遺伝子の相同遺伝子のクローニングと機能解析が劇的に進行することとなった。ショウジョウバエの頭部を決めるotd (orthodenticle)やetd (empty spiracle)の相同遺伝子Otx1/2, emx1/2, セグメントポラリティ

遺伝子群のen (engrailed), wg (wingless), hh (hedgehog)の相同遺伝子Shhなどがクローニングされ、脊椎動物でも重要な役割を担っていることが示された<sup>(9)</sup>。

ニューロメアが脳原基の領域特異化の基盤であるなら、そのパターン形成過程はニューロメア特異的制御遺伝子の発現として可視化できるであろう。発生学的には、細胞の移動が起こらない境界面によって囲まれた細胞集団のことを「コンパートメント」と定義している。遺伝子発現境界がコンパートメント境界であることは、細胞系譜の制限を確かめて初めていえることであるが、転写因子の領域特異的発現は、脳の区画化において重要な意味をもつといえる。

細胞系譜が制限されるメカニズムとしては、神経上皮細胞表面分子の作用により、細胞の親和性の違いが生じることが原因と考えられている。たとえば、同種類の細胞接着分子 cadherinを発現する細胞は細胞親和性が高く、異なるものを発現する細胞どうしは親和性が低い<sup>(10)</sup>。またEphrinを発現する細胞とその受容体Ephを発現する細胞の間には反発活性が生じ、細胞は混じり合わない(Fig. 3)<sup>(11, 12)</sup>。さらに、2つのコンパートメントが接する付近の細胞は、両者の間に「ボーダー細胞」または「境界細胞」とよばれる細胞集団をつくり出し、新たに分泌性因子を産生しコンパートメント細胞の増殖や分化を制御するシグナリングセンターとして機能している。こうして、区画された各コンパートメントには領域特異性が生まれ、異なる領域の神経上皮細胞は、神経前駆細胞として異なる性質をもつニューロンを生み出すこととなる<sup>(13)</sup>。

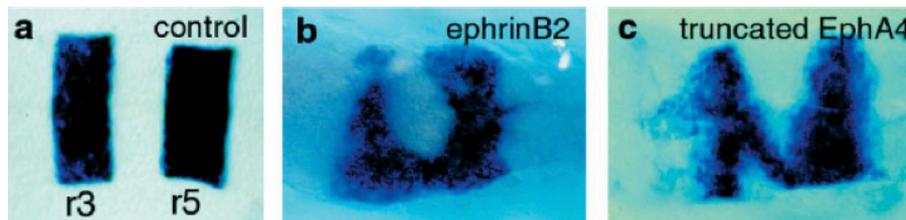


Fig. 3 エフリンとその受容体シグナルによるロンボメアコンパートメント境界の形成。a, ゼブラフィッシュ胚におけるロンボメア、ロンボメア r3とr5はKrox20の発現により示される。b, c, ephrinB2 (エフリン分子) とtruncated formのEphA4 (レセプターのdominant negative form) を全体に発現させると、ロンボメア境界が曖昧になる。

## 5. 背腹軸パターンに沿った領域化

脊髄では、背側のニューロンは感覚ニューロンからの入力を受けるが、腹側には運動ニューロンが存在する。中間部に分布するのは無数の介在ニューロンで、感覚ニューロンと運動ニューロン間の情報伝達を担う<sup>(14)</sup>。

背腹軸の特定化は、2つの主要な傍分泌因子（分泌されて他の細胞に作用するシグナル）によって開始される。これらは、脊索から分泌されるソニックヘッジホッグ Sonic hedgehog (Shh)タンパク質と、背側の外胚葉に由来するTransforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )タンパク質である。どちらも二次的なシグナルセンターを、神経管内に誘導する。

Shhは脊索より分泌され、中央屈曲点の細胞を神経管の底板 floor plateへと誘導する。底板の細胞からはShhが分泌され、神経管内に腹端部を頂点とする濃度勾配が形成される<sup>(15)</sup>。神経管の背側の形質は、TGF- $\beta$ スーパーファミリーのタンパク質、とりわけBMP4, BMP7, ドーサリン、アクチビンによって確立される<sup>(16)</sup>。BMP4, BMP7は最初は表皮で発現している。表皮は神経管の蓋板 (roof plate)にBMP4の発現を誘導し、二次シグナルセンターを形成する。この蓋板から分泌されるBMP4は、神経管の隣接する細胞で一連のTGF- $\beta$ 因子のカスケードを誘導する。

神経管の細胞運命は、これらのシグナルセンターからの距離（相対的な位置関係）によって決まる(Fig. 4)。高濃度のShhを受ける細胞は、転写因子Nkx6.1とNkx2.2を発現し、腹側介在ニューロンになる。これより背側の細胞は、若干少量のShh（かつより多くのTGF- $\beta$ 因子）を受けてPax6とOlig2を発現

し、運動ニューロンとなる。さらに背側の2グループの細胞は、低濃度のShhを受けてPax6のみを発現し、腹側よりそれぞれV2, V1介在ニューロンとなる<sup>(17)</sup> <sup>(14)</sup>。この背腹軸の形成とその領域化は、神経管全体にわたって共通であると考えられる。

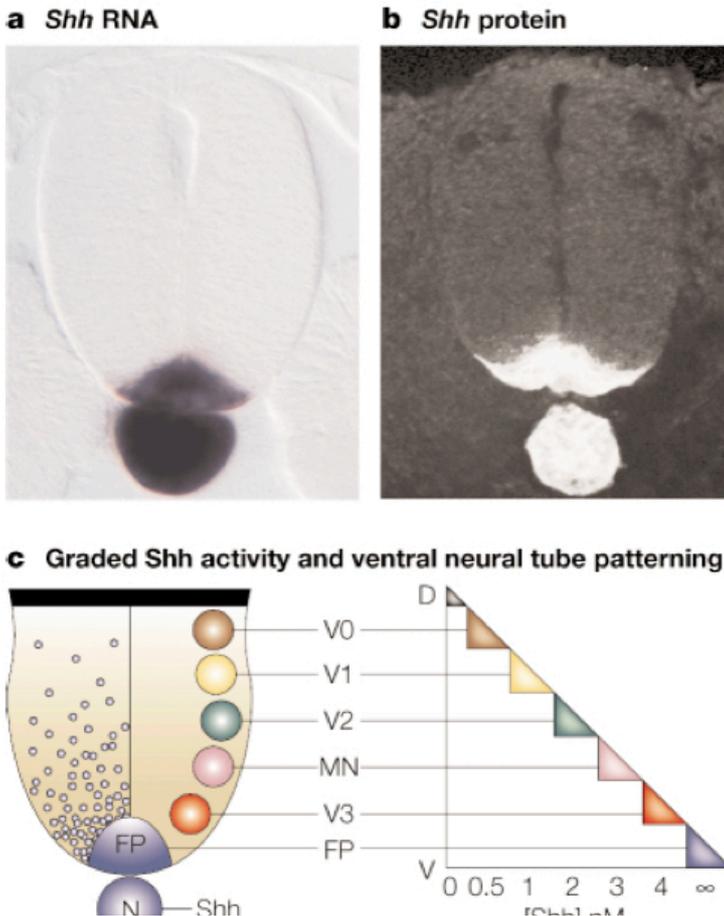


Fig. 4. Notochordとfloor plateにおけるshhの発現が腹側パターンをコントロールしている。ニワトリ胚(stage18)の横断面。N, notochord, FP, floor plate. Shh mRNA (a), タンパク質 (b)の発現が、notochordとfloor plateに認められる。腹側神経細胞の運命決定におけるShhの影響を示したモデル (c)。神経管の腹側から背側へむかって、shhの濃度勾配を認め、神経上皮細胞の運命を決める。V0-V3, 異なるクラスの腹側介在神経、MN, 運動神経を示す<sup>(36)</sup>。

## 6. 前後軸パターンに沿った領域化

脳の発生は脊椎動物間によく似ている。後方の神経管が形成される前に、前方の神経管は劇的に変化している。神経管の前部は3つの膨張部（脳泡）を形成する。大脳半球を生ずる前脳 (prosencephalon)、中脳 (mesencephalon)、小脳や延髄となる後脳 (菱脳, rhombencephalon)である。神経管の後端が閉じるまでに、さらに二次的な脳泡が形成される。前脳は終脳 (telencephalon)と間脳 (diencephalon)となり、菱脳から後脳 (metencephalon)と髄脳 (myelencephalon)が生じ、5領域に分かれる。

前脳と中脳の境界は、前脳領域で発現している転写因子Pax6と、それと拮抗する転写因子との相互作用により形成される。マウス胚では、前脳でPax6の発現を生じると、中脳領域では別の転写因子En1およびPax2, Pax5が発現する。これらの転写因子の発現領域が明瞭になることで、前脳/中脳の境界が形成される (Fig. 5)<sup>(18)</sup>。

中脳/後脳の境界形成は、前脳/中脳境界の形成直後に開始される。前脳および中脳では転写因子Otx2が発現しており、その尾側の後脳では転写因子Gbx2が発現している<sup>(19)</sup>。中脳/後脳境界は、Otx2とGbx2の両転写因子による抑制的な相互作用に基づき形成されていると考えられる (Fig. 5)。次に、菱脳、中脳、前脳について詳説する。

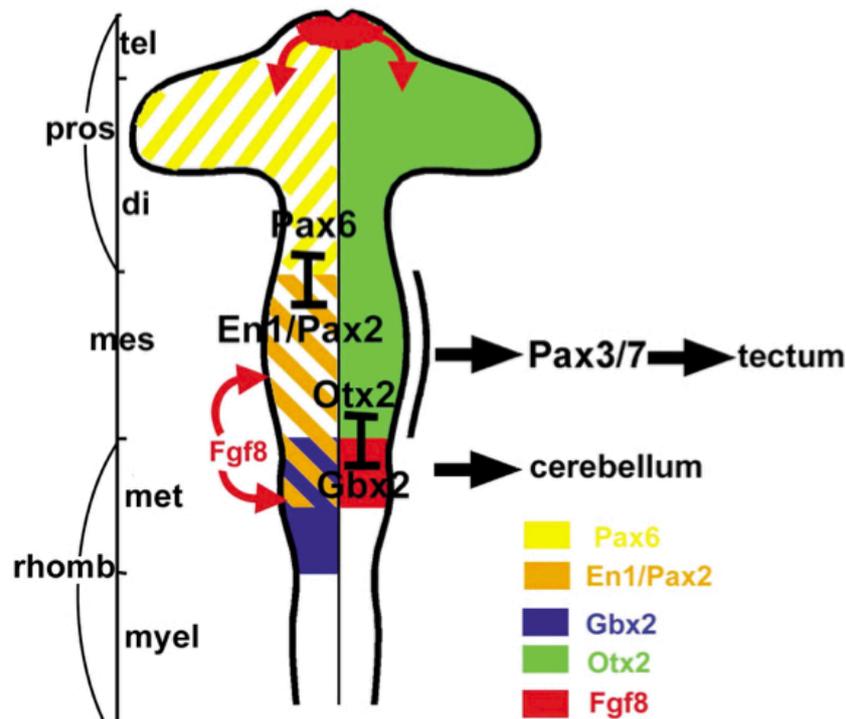


Fig. 5. 拮抗する転写因子の発現領域による、前後軸方向のパターニング。発生の初期に前脳胞、中脳胞、菱脳胞という3つの脳胞ができ、それぞれ決められた領域へと分化してゆく。前脳前端と中脳/後脳境界部はオーガナイザーとしてはたらし、シグナル分子であるFGF8が発現している。前脳/中脳境界はPax6とEn1/Pax2の、中脳/後脳境界はOtx2とGbx2の抑制的相互作用により決まる。En1, Pax2, Otx2の発現している領域で後にPax3/7の発現する領域は視蓋として分化する<sup>(37)</sup>。

## 7. ロンボメア

菱脳は分節パターンで発生し、それによって特定の場所に特定の神経が生じる。菱脳は、ロンボメア (rhombomere, 菱脳分節)と呼ばれる反復的な膨らみによって小区画に分かれている。ロンボメアは脊椎動物の脳で最初に明らかにされたコンパートメントである (Fig. 1, 2)。

くびれが生じる前の発生段階において、未分化な神経上皮細胞を蛍光色素によって標識し、その後分散パターンを解析すると、その子孫の細胞はロンボメアの境界を越えて存在していたが、ロンボメア境界が形成された後に細胞を標識するとその子孫が境界を越えることはなかった (Fig. 6)<sup>(20)</sup>。このロンボメアは独立した“テリトリー”であり、他のロンボメアの細胞とは混じり合わない。したがって、各ロンボメアは細胞系譜が制限されたコンパートメントを形成しているということになる<sup>(21)</sup>。この結果、各々の分節に特異的な神経細胞が生まれ、決まった領域に移動することにより、多様な神経回路を形成していると考えられる。左右12対の脳神経のうち、嗅神経、視神経および動眼神経以外は各ロンボメアに由来する。例えば、三叉神経は第2ロンボメア、顔面神経は第4ロンボメアから形成される (Fig. 2)。第4ロンボメアに発現している。Hoxb1のノックアウトマウスでは、顔面神経の形成に異常が起こることが報告されている<sup>(22)</sup>。前述のように、各ロンボメアの境界はHox遺伝子群などの発現の境界に一致しており、これらの転写因子の発現領域の組み合わせにより、各ロンボメアの性質が規定されていると考えられる<sup>(23)</sup>。

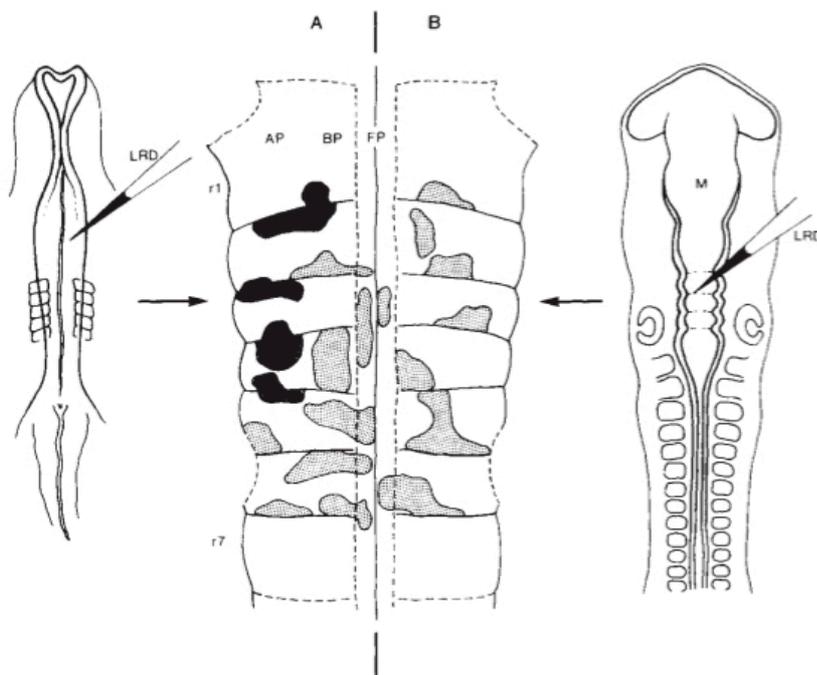


Fig. 6. ニフトリ胚菱脳における神経上皮細胞の標識実験。分節を生じる以前に、未分化な神経上皮細胞を蛍光色素によって標識しその後の分散パターンを解析すると、その子孫の細胞はロンボメアの境界を越えて存在した(A)。ロンボメア境界が形成された後に細胞を標識すると、その子孫の細胞が境界を越えることはなかった<sup>(20)</sup>。

#### 8. シグナリングセンターとしての中脳

中脳はシグナリングセンターによる神経上皮細胞の運命決定と脳のパターン形成のモデルのひとつとして注目されてきた。中脳/後脳の境界部は峡 (isthmus)とよばれる明瞭なくびれにより視覚化される。境界付近の組織を間脳に移植すると、本来の間脳が小脳に分化する。その誘導因子として繊維芽細胞増殖因子8 (FGF8) が同定された<sup>(24)</sup>。Fgf8は小脳へ分化する菱脳の第1分節(r1)に発現しており、高濃度のFGF8はr1に発現する転写因子Irx2のリン酸化を促し、小脳への分化を誘導する(Fig. 5)<sup>(25)</sup>。

中脳/後脳境界はOtx2とGbx2の2つのホメオドメイン(HD)型転写因子の発現境界で規定されるのは前述の通りである。Wnt-CreER, LacZマーカー発現システムによるマウスでの実験や、ゼブラフィッシュ胚における経時的な細胞系譜の観察実験により、この境界はコンパートメント境界であることが明らかになった<sup>(26, 27)</sup>。

#### 9. 前脳におけるパターン形成

Rubinstein, Puellesらは、それまでの遺伝子発現と形態的特徴を体系的に構築し、前脳を前後軸に沿ったプロソメア(P1-P6)に分けるモデルを提唱した<sup>(28) (29)</sup>。P2/P3境界付近には、Shhを発現するシグナリングセンター (Zli, zona limitans intrathalamica)が形成され、視床のパターン形成に関与するため、プロソメアの境界形成のなかでも最も解析が進んでいる。2つのHD型転写因子Six3とIrx3は相互抑制関係にあり、両者の明瞭な発現境界はP2/P3境界に相当している<sup>(30)</sup>。

終脳においても、将来の大脳皮質の原基に相当する背側の外套領域 (pallium)と線条体の原基に相当する腹側領域 (subpallium)の境界、PSB (pallial subpallial boundary)において、R-cadherinやcadherin 6<sup>(10)</sup>, Pax6, Gsh2<sup>(31)</sup>の役割が報告されている。前脳における背腹軸方向の領域化として、背側領域は、MP (medial pallium), DP (dorsal pallium), LP (lateral pallium), VP (ventral pallium)の4つのドメインに分けられる。Palliumにおいては、Pax6, Emxの発現領域がパターン形成の基本単位となっている<sup>(32) (33)</sup>。腹側領域は隆起し、MGE (medial ganglionic eminence)とLGE (lateral ganglionic eminence)に分けられ、それぞれの領域から異なる種類の介在ニューロンが生まれ出される。この境界はDlx1, Dlx2およびNkx2.1の発現により特異化される。Nkx2.1ノックアウトマウスでは、MGEが形成されない<sup>(34)</sup>。

10. 新しいプロソメアモデルにもとづいた脳の発生におけるオントロジー

最近のプロソメアモデルでは、中脳に2つのセグメント (mesomereあるいはmidbrain prosomere, mp1-2)があり、間脳は3つのセグメント (diencephalic prosomere, dp1-3)からなる。また間脳以外の前脳 (hypothalamus, telencephalon)において、2つのセグメント (hypothalamotelencephalic prosomere, hp1-2)が認められる。これら前後軸方向の区分に、背腹軸方向の区分 (floor, basal, alar, roof plateといった分化パターン)を加えることで、さらに細区域化される。

このコンセプトには多くの新しい特徴がある。例えば、secondary prosencephalonは、telencephalonとhypothalamusから構成されるが、遺伝子発現のパターンから厳密な意味でのdiencephalonからは区別された。Holoprosencephalyがtelencephalonとhypothalamusのみに変化をもたらすことや、Otx2-/-Emx1+/-ミュータントマウスにおいて、diencephalonのみを失いhypothalamusとtelencephalonを保っている実験結果もこの仮説を支持する。古典的な概念においては、hypothalamusはdiencephalonに含まれていた。なぜなら、hypothalamusがthalamusのbasal, floor plateに相当すると誤解されていたからである (Fig. 7)。最近のfate mappingや分子的解析の結果からは、hypothalamusは形態的にはthalamusや他のdiencephalonのパートより頭側に位置する考えられる。そして、telencephalic vesicleやeye vesicleこそがhypothalamusのalar evaginationとなる (Fig. 8)。

後脳においては、12のセグメント (isthmusと11 rhombomeres)を認め、これはFgf8とHomeobox (Hox)遺伝子の発現による。一方古典的なコンセプトでは、ロンボメアと関係なくponsとmedulla oblongataに分類された。いくつかのfate mappingの結果から、cerebellumは底部のponsとは区別され、isthmusと1st rhombomereの派生によると考えられる。

Telencephalonはこれまでと同様、palliumとsubpalliumに分けられるが、新しい subpalliumはpreoptic areaを含んでいる。Hypothalamusはterminalおよびpeduncular hypothalamusに分けられ、その背側ではそれぞれpreoptic areaとtelencephalic hemisphereに続いている。

Diencephalonは3つのニューロメア (pretectum, p1, thalamus, p2, prethalamus p3)に分けられる (1) (35)。

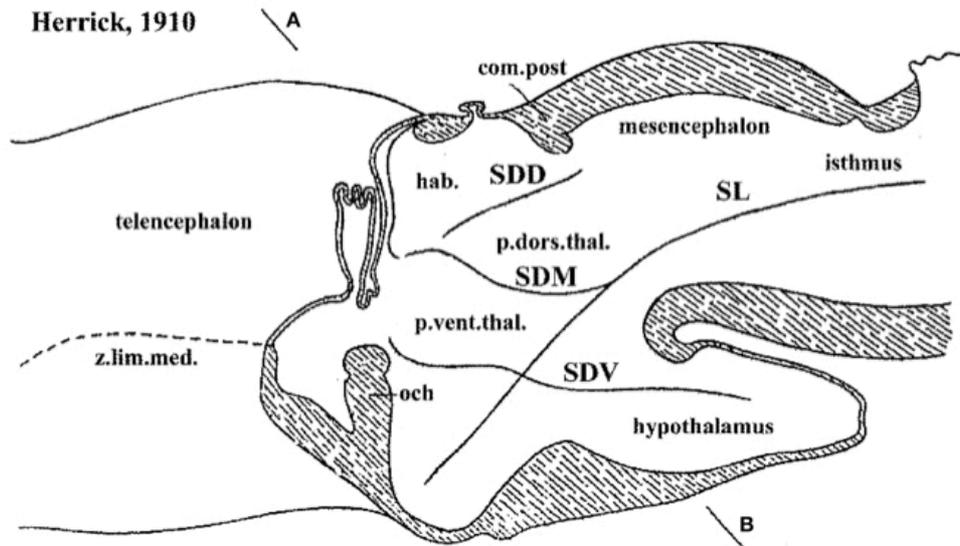


Fig. 7 Herrickの提唱した'columnar' forebrain axisの概念図。脳幹の軸が単純に直線的に頭側に伸展し、前脳に達するとするモデル。Thalamus- hypothalamus complex (当時の diencephalon)は、頭側にtelencephalonに接し、尾側でmidbrainに接している。(38)

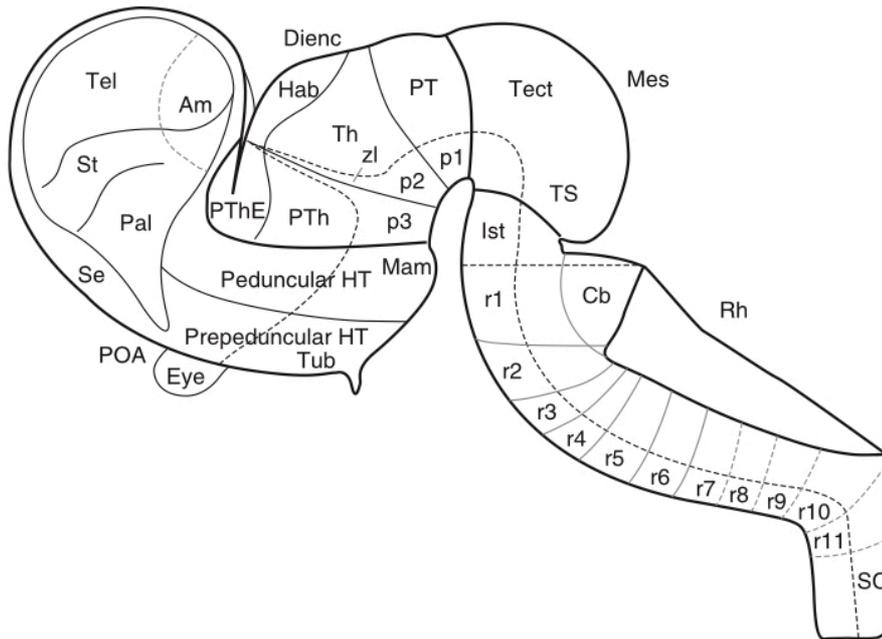


Fig. 8 PuellesとRubensteinによる新しいプロソメアモデル。Hypothalamusはdienephalonから分けられ、thalamusや他のdiencephalonのパートより頭側に位置する。Telencephalic vesicleやeye vesicleがhypothalamusのalar partとなる。縦（前後）方向のalar-basal boundaryを点線で示す。The secondary prosencephalon (Sec.Pro.s.) は最も頭側に位置し、telencephalon (Tel), eye and hypothalamus (HT: divided in two parts). Septum (Se), striatum (St), pallidum (Pal), preoptic area (POA), and amygdala (Am)から構成される。<sup>(39)</sup>Diencephalonはp1-p3の3つのプロソメアから、rhombencephalon (Rh)はisthmus(Ist)およびrhombomere 1(r1)からrhombomere 11(r11)の12のニューロアから構成される。

## 11. まとめ

新しい発生学やモデルがもたらした神経発生のコンセプトは、脳の各パーツの本来の形態学的関わりをより正確に表している。中枢神経の各領域は、神経管の頭尾軸方向および背腹軸方向の分化にもとづいてグループ化されてきた。放射状に移動・階層化する神経細胞群さえ、fate mappingやgene mappingにより、その前駆領域から追跡可能である。そしてこれらのデータは、神経発生のオントロジーに表現されているように、胎生期のパターンと成体の構造との一貫性をもった関連を示すことができる。神経の形態発生における遺伝子によるコントロールはよく保存されているため、本モデルはすべての脊椎動物において有効と考えられる。これらの新しいコンセプトは、議論を経て、今後の新たな発見により、また見直されなければならないだろう。

## References

1. Puelles, L., Harrison, M., Paxinos, G., et al., A developmental ontology for the mammalian brain based on the prosomeric model. Trends Neurosci, 2013. 36(10): p. 570-8.
2. von Baer, K.E., Entwicklungsgeschichte der Thiere: Beobachtung und Reflexion, Borntrager. 1828.
3. Orr, H.J., Contribution to the embryology of the lizard. J Morphol, 1887. 1: p. 311-372.

4. Alonso, A., Merchan, P., Sandoval, J.E., et al., Development of the serotonergic cells in murine raphe nuclei and their relations with rhombomeric domains. *Brain Struct Funct*, 2013. 218(5): p. 1229-77.
5. Kuratani, S., Horigome, N., Ueki, T., et al., Stereotyped axonal bundle formation and neuromeric patterns in embryos of a cyclostome, *Lampetra japonica*. *J Comp Neurol*, 1998. 391(1): p. 99-114.
6. Murakami, Y., Ogasawara, M., Sugahara, F., et al., Identification and expression of the lamprey Pax6 gene: evolutionary origin of the segmented brain of vertebrates. *Development*, 2001. 128(18): p. 3521-31.
7. Watson, C., M., K., and Paxinos, G., 脳と脊髄の発生, in 脳「かたち」と「はたらき」. 2012, 共立出版: 東京. p. 150-160.
8. 大隅典子, 脳はどのように発生発達するのか, in 脳からみた自閉症「障害」と「個性」のあいだ. 2016, 講談社: 東京.
9. Gilbert, S.F., 脊椎動物の初期発生 鳥類と哺乳類, in ギルバート発生生物学 10th Edition. 2015, メディカル・サイエンス・インターナショナル: Tokyo. p. 291-338.
10. Inoue, T., Tanaka, T., Takeichi, M., et al., Role of cadherins in maintaining the compartment boundary between the cortex and striatum during development. *Development*, 2001. 128(4): p. 561-9.
11. Xu, Q., Mellitzer, G., Robinson, V., et al., In vivo cell sorting in complementary segmental domains mediated by Eph receptors and ephrins. *Nature*, 1999. 399(6733): p. 267-71.
12. Wilkinson, D.G., Multiple roles of EPH receptors and ephrins in neural development. *Nat Rev Neurosci*, 2001. 2(3): p. 155-64.
13. Pasini, A. and Wilkinson, D.G., Stabilizing the regionalisation of the developing vertebrate central nervous system. *Bioessays*, 2002. 24(5): p. 427-38.
14. Gilbert, S.F., 外胚葉の出現, in ギルバート発生生物学 10th Edition. 2015, メディカル・サイエンス・インターナショナル: Tokyo. p. 339-379.
15. Briscoe, J., Sussel, L., Serup, P., et al., Homeobox gene Nkx2.2 and specification of neuronal identity by graded Sonic hedgehog signalling. *Nature*, 1999. 398(6728): p. 622-7.
16. Liem, K.F., Jr., Jessell, T.M., and Briscoe, J., Regulation of the neural patterning activity of sonic hedgehog by secreted BMP inhibitors expressed by notochord and somites. *Development*, 2000. 127(22): p. 4855-66.
17. Lee, S.K. and Pfaff, S.L., Transcriptional networks regulating neuronal identity in the developing spinal cord. *Nat Neurosci*, 2001. 4 Suppl: p. 1183-91.
18. Matsunaga, E., Araki, I., and Nakamura, H., Pax6 defines the di-mesencephalic boundary by repressing En1 and Pax2. *Development*, 2000. 127(11): p. 2357-65.
19. Nakamura, H., Regionalization of the optic tectum: combinations of gene expression that define the tectum. *Trends Neurosci*, 2001. 24(1): p. 32-9.
20. Fraser, S., Keynes, R., and Lumsden, A., Segmentation in the chick embryo hindbrain is defined by cell lineage restrictions. *Nature*, 1990. 344(6265): p. 431-5.
21. Lumsden, A., Segmentation and compartition in the early avian hindbrain. *Mech Dev*, 2004. 121(9): p. 1081-8.
22. Arenkiel, B.R., Tvrdik, P., Gaufo, G.O., et al., Hoxb1 functions in both motoneurons and in tissues of the periphery to establish and maintain the proper neuronal circuitry. *Genes Dev*, 2004. 18(13): p. 1539-52.
23. Pearson, J.C., Lemons, D., and McGinnis, W., Modulating Hox gene functions during animal body patterning. *Nat Rev Genet*, 2005. 6(12): p. 893-904.

24. Crossley, P.H., Martinez, S., and Martin, G.R., Midbrain development induced by FGF8 in the chick embryo. *Nature*, 1996. 380(6569): p. 66-8.
25. Matsumoto, K., Nishihara, S., Kamimura, M., et al., The prepatterning transcription factor *Irx2*, a target of the FGF8/MAP kinase cascade, is involved in cerebellum formation. *Nat Neurosci*, 2004. 7(6): p. 605-12.
26. Zervas, M., Millet, S., Ahn, S., et al., Cell behaviors and genetic lineages of the mesencephalon and rhombomere 1. *Neuron*, 2004. 43(3): p. 345-57.
27. Langenberg, T. and Brand, M., Lineage restriction maintains a stable organizer cell population at the zebrafish midbrain-hindbrain boundary. *Development*, 2005. 132(14): p. 3209-16.
28. Rubenstein, J.L. and Puelles, L., Homeobox gene expression during development of the vertebrate brain. *Curr Top Dev Biol*, 1994. 29: p. 1-63.
29. Puelles, L. and Rubenstein, J.L., Forebrain gene expression domains and the evolving prosomeric model. *Trends Neurosci*, 2003. 26(9): p. 469-76.
30. Kobayashi, D., Kobayashi, M., Matsumoto, K., et al., Early subdivisions in the neural plate define distinct competence for inductive signals. *Development*, 2002. 129(1): p. 83-93.
31. Yun, K., Potter, S., and Rubenstein, J.L., *Gsh2* and *Pax6* play complementary roles in dorsoventral patterning of the mammalian telencephalon. *Development*, 2001. 128(2): p. 193-205.
32. Puelles, L., Kuwana, E., Puelles, E., et al., Pallial and subpallial derivatives in the embryonic chick and mouse telencephalon, traced by the expression of the genes *Dlx-2*, *Emx-1*, *Nkx-2.1*, *Pax-6*, and *Tbr-1*. *J Comp Neurol*, 2000. 424(3): p. 409-38.
33. Redies, C. and Puelles, L., Modularity in vertebrate brain development and evolution. *Bioessays*, 2001. 23(12): p. 1100-11.
34. Sussel, L., Marin, O., Kimura, S., et al., Loss of *Nkx2.1* homeobox gene function results in a ventral to dorsal molecular respecification within the basal telencephalon: evidence for a transformation of the pallidum into the striatum. *Development*, 1999. 126(15): p. 3359-70.
35. Watson, C., Mitchell, A., and Puelles, L., A New Mammalian Brain Ontology Based on Developmental Gene Expression, in *Evolution of Nervous Systems*. 2017, Elsevier. p. 53-75.
36. Jessell, T.M., Neuronal specification in the spinal cord: inductive signals and transcriptional codes. *Nat Rev Genet*, 2000. 1(1): p. 20-9.
37. Nakamura, H. and Watanabe, Y., Isthmus organizer and regionalization of the mesencephalon and metencephalon. *Int J Dev Biol*, 2005. 49(2-3): p. 231-5.
38. Herrick, C.J., The morphology of the forebrain in Amphibia and Reptilia. *J Comp Neurol*, 1910. 20: p. 413-547.
39. Puelles, L., Forebrain development : prosomere model, in *Encyclopedia of Neuroscience*, L.R. Squire, Editor. 2009, Academic Press, Elsevier: Massachusetts. p. 315-319.