

Neuromeric Concept: Part II

福岡大学 脳神経外科 東 登志夫

1. はじめに

生物の体の成り立ちには単純な規則性が見られる。例えば、「節の繰り返し」や「渦巻き」などである。人為的（つまり合目的）に作られた機械の部品は、その機能に必要な形やマテリアルが用意される。反対に生物は発生や進化の過程で、あらかじめ用意されたパーツから必要な形態や機能を獲得してゆかなければならない。そのため、生物には体のづくり方（発生のしくみ）に規則性がある。このような規則をボディプランと呼び、「脊椎動物は分節性を基調としたボディプランを持っている」というように使われる。

脊椎動物の発生における体節性の特徴は、ひとつの体節パターンからいろいろなバリエーションを作り出すことといえる。例えばロブスターは、それぞれの体節から、感覚器官、摂食器官、はさみ、脚や尾びれといったさまざまな器官をつくりあげている。このような分節構造を発生の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。

さて脊髄や脊柱の分節は明らかなものであるが、このような分節構造が脳や頭にあるのか？ であるとすればその数はいくつなのか？ 最初にこの疑問を提起したのは、「形態学」の父でもあるドイツの文豪ゲーテといわれる。

2. 脳の領域化とその意義

中枢神経系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25000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（大まかなづくり方）に相当するもので、ひとつひとつのシナプスについて詳細に記載された設計図ではない。遺伝子はまず同じ方向性をもったニューロンの集団をつくりだし、その後細かく分化した神経システムをつくってゆく⁽¹⁾。

発生が進行すると、神経上皮細胞から構成される神経板は背側から巻き上がり、神経管を形成する。神経管にくびれが生じることにより、前脳・中脳および菱脳が形成され、その後さらに、前脳は終脳・間脳へ、菱脳は後脳・髄脳へ区分される(Fig.1)。こ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考えられる。このような分節構造はニューロメア（神経分節）とよばれ、すべての脊椎動物にみられる構造である。

ニューロメア(Neuromere)のコンセプトは、1828年にvon Bearによって提唱された。脊椎動物の中枢神経系の発生過程に一過性にみられる分節構造で、脳をつくるための基本的な発生要素と考えられてきた⁽²⁻⁴⁾。ニューロメアは神経管の分節単位で、共通した背腹軸方向の構造 (floor, basal, alar, and roof plates) をもつ。それぞれの分節(領域)はユニークな分子生物学的特徴 molecular identity をもち、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的ユニットとして機能していると考えられる。ニューロメアには、prosomere (secondary prosencephalon, diencephalon), mesomere (mid brain), rhombomere (hindbrain)がある。

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^(5, 6)。つまり、進化の過程における共通して保存されたメカニズムといえる(Fig.9B)。

3. 領域化の分子メカニズム

パターン形成の過程における領域化とは、神経管の中に“番地”がつけられることといえる。地図上の住所のように、脳にもこのようは“番地”があり、領域化の「位置情報」になっている。この位置情報には、「前

後軸」と「背腹軸」の2つの座標軸が使われている。これらは分泌されるタンパク質の濃度勾配によって決められる⁽⁷⁾。

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、腹側には運動ニューロンが存在する。中間部には介在ニューロンが存在する⁽⁸⁾。これら背腹軸の特定には主に2つの分泌タンパク質（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- β (TGF- β)である⁽⁹⁻¹¹⁾。

前後軸の特定には、後述のHox遺伝子群を始めとした転写因子が主なはたらきを担うと考えられている。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とそれに拮抗する転写因子En1, Pax2, Pax5との相互作用により形成される⁽¹²⁾。中脳/後脳の境界形成は、Otx2とGbx2の2つの転写因子による相互作用により形成されている⁽¹³⁾。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いて、各領域の神経上皮細胞が独自の性質を獲得する過程が、脳の初期パターンニングと考えられている。

以上のように、ニューロメアが発生過程における領域特異化の基盤であるなら、そのパターン形成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(Fig.2)。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領域化において重要な意味をもつといえるであろう。

- Fraserの実験 - Fig.3

ニワトリ胚菱脳における神経上皮細胞の標識実験 (fate mapping)。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した。未分化な神経上皮細胞での標識では、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、子孫の細胞が境界を越えることはなかった(B)⁽¹⁴⁾。

細胞系譜が制限されるメカニズムとして、細胞表面分子の作用による細胞の親和性の違いが考えられている。同種類の細胞接着分子cadherinを発現する細胞は親和性が高く、異なるものを発現する細胞どうしは親和性が低い⁽¹⁵⁾。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^(16, 17)。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してゆく(Fig.4)⁽⁸⁾。

- 上記の具体例 - 大脳皮質/線条体境界の形成 -

前脳においてコンパートメント境界であると認識されているものに、PSB (pallial subpallial boundary)と呼ばれる、終脳の大脳皮質/線条体原基の境界がある(Fig.5A)。終脳は将来の大脳皮質と線条体の原基に相当する背側の外套領域(pallium)と腹側領域(subpallium)に分けられる。背側神経上皮細胞はR-cadherinを発現し、腹側上皮細胞はcadherin6を発現している。Cadherin6の遺伝子欠損マウスを用いた培養マウス胚において、cadherin6を導入した細胞は腹側領域へソートされない⁽¹⁵⁾。異なる種類のカドヘリンを発現する細胞は、細胞接着の親和性が異なるため背腹方向に境界面が生じると考えられる。背側領域はさらに4つのドメインに区画化され、腹側領域は内側基底核原基(medial ganglionic eminence, MGE)と外側基底核原基(lateral ganglionic eminence, LGE)に分かれ、それぞれの領域から異なる種類の介在ニューロンが生み出される⁽¹⁸⁾ (Fig.5B)。LGEとMGEの境界はDlx1, 2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⁽¹⁹⁾。Dlx1と2は線条体原基で強く発現する転写因子であるが、これらの遺伝子を二重に破壊したノックアウトマウスでも線条体そのものは発生する。しかし、ここから発生して新皮質へ移動するはずの細胞群の流れが認められず、終脳新皮質にあるはずのGABA含有神経細胞が失われることが報告された⁽²⁰⁾。

4. Hoxコードによるコンパートメントおよび境界形成

ロンボメア rhombomereにおける各分節は、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定される。すなわち転写因子の組み合わせによって、ある領域の性質が決まることが示された。

およそ100年前、William Batesonという英国の遺伝学者が、「ホメオティック突然変異」という概念を提唱した。これは「ある一つの分節のかたちが、本来とは別の分節のかたちにある」ような変異のことである。つまり分節の性質が入れ替わってしまうことを示す。この現象はショウジョウバエにおいてよく知られている。ショウジョウバエには前胸(T1)、中胸(T2)、後胸(T3)があり、これらはみな肢を持つことで他からは区別される。さらにT2とT3には翅が生えているが、T3の翅は平衡桿というものに変化して小さくなっている。例えばウルトラバイソラックス(Ubx)という変異体では、後胸分節(T3)の平衡桿が翅に変化して(もどって)いる。T3の形態的個性がT2のそれに变化するからである。

この現象の原因は複数の遺伝子であり、ショウジョウバエの第三染色体上の二カ所に群をなして存在していることがわかった。こうやって見いだされた遺伝子群は「ホメオティック・セクター遺伝子」と名付けられた。これらの遺伝子群はDNAの下流に位置しているものほど、ショウジョウバエの胚の中では前方に発現している。すなわち、からだの後方ほど多くの遺伝子が組み合わさって発現しており、この発現パターンから変異の生じ方に単純な傾向があることがわかった。

Ubxという遺伝子は正常ではT2の中ほどから後方に発現している(Fig.6A)。Ubxが欠損すると、T2とT3に発現する遺伝子の組み合わせは同じものになる。つまりT3の分子的個性がT2と同じになる。その結果、T2のかたちをもった分節が二つできる(Fig.6B)。このショウジョウバエの変異体では、一对の翅とそれに続く平衡桿のかわりに、二対の翅ができてしまう(Fig.6C)。これを「機能欠失型変異体」と呼ぶ。この機能欠失においては、分節のかたちが本来よりも前に存在する分節のかたちになり、これが「前方化」という現象である。○機能欠失→前方化。

逆に、本来は胸に発現している「触覚・肢」という意味の名をもつAntp(アンテナペディア)遺伝子を頭に発現させると、触覚が肢になってしまう。このような「機能獲得変異体」においては、分節のかたちが本来よりも後ろに存在する分節のかたちになり、これは「後方化」という現象である。○機能獲得→後方化。

これらショウジョウバエのHox遺伝子と類似の配列をもつ遺伝子は、脊椎動物でも認められている。このグループの遺伝子はどれもみな構造が似ており、「ホメオボックス」と呼ばれる保存性の高いドメインを持っている。この部分によってこれらHox遺伝子の産物はDNA上の特定の配列に結合する能力を持つ。このようなタンパク質を一般にDNA結合タンパクと呼び、エピジェネティック因子か他の遺伝子の発現を調節する「転写調節因子 transcriptional factor」として機能する。つまり、Hox遺伝子群は形態発生における一種の「切り替えスイッチ」を作り出す遺伝子であるらしい⁽²¹⁾。

- Lufkinらの実験。Hoxd-4遺伝子の機能獲得による後頭骨の後方化。

Hoxd-4遺伝子(C1/2境界を決める)を本来より前方に発現させることによって、後頭骨の形態が椎骨のようになった(Fig.7)⁽²²⁾。

- Rijiliの実験。Hoxa-2遺伝子を破壊することでマウスの舌骨弓骨格を顎骨弓のかたちを変えることができるか？

仮説：Hoxa-2遺伝子のノックアウトマウスを作成し、ロンボメア3,4(r3,4)の性格をr1,2の性格に変えようと、本来舌骨弓を生じる場所に顎骨弓が生じるのではないかと(Fig.8左)。ノックアウトマウスでは舌骨弓に発生するはずのアブミ骨とライヘルト軟骨が消失し、そのかわりに「かたち」の上からはキヌタ骨、ツチ骨、蝶形骨、偶骨、鼓骨等が前後逆向きに重複していた(Fig.8 右)⁽²³⁾。

5. ロンボメア

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.9)。前述のFraserの実験で示されたように、このロンボメアは独立した“テリトリー”であり、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。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って、多様な神経回路を形成していると考えられる⁽²⁴⁾。

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.10) (25, 26)。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(27)。各ロンボメア境界はHox遺伝子群などの発現境界に一致しており、前述のように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(26, 28)。

6. Hox遺伝子の発現による脊髄の領域化

Hox遺伝子の発現パターンからは、脊髄は6つの機能領域に分けられ、これは運動ニューロンのパターンによって決められる。特徴的なのは、四肢の運動ニューロンを含む領域(マウスではC5からT1、L2からL6)で、他の領域にはないlateral motor columnを有している。それぞれの肢領域の直後にはpreganglionic motor columnが存在し、マウスではT2からL1のsympathetic columnとS1からS2のparasympathetic columnである。残る2つの領域は、頭側のC1からC5と尾側のS3から尾骨までの領域で、頸部と尾部の体軸筋を支配する運動ニューロンのみを持つ。この6領域は、prebrachial, brachial, postbrachial, crural, caudal regionに分類され、chickやmouseの発生過程でのHox遺伝子の発現パターンもこれを支持する結果である。Hox6が上肢領域、Hox10が下肢領域を規定している(29, 30)。

7. 前脳における分節研究の幕開け

FigdorとSternは、菱脳での研究より発生ステージのやや進んだニワトリ胚を用い、Dil等の蛍光色素を局所的に前脳原基に微量注入することで、菱脳分節と同じような神経上皮細胞の「仕切りわけ」(前述のFraiserの実験を参照)が、前脳領域 prosencephalic region (間脳と終脳を含む)にも見られることを報告した(31)。Dilをとり込んだ細胞の広がりが見事な境界を伴い、以前より間脳に認識されていた神経分節と一致したのである。さらに、これらの境界は多くの発生制御遺伝子の発現境界とも重なりあった。

前脳の分節的構成における議論として、①神経上皮の組織発生的性質、②伝導路の原基の発せパターン、③発生制御遺伝子群の局所的な発現パターン、が問題となる。菱脳と前脳はよく似た様式で分節を形成するらしい。しかしながら、神経上皮の段階で明瞭な分節を作る菱脳とは異なり、前脳においては発生後期に細胞系譜の区画化を行うだけで、菱脳とはやや異なっている。また菱脳分節が成体においては残存しないが、前脳に見出された神経分節はそのまま生体における解剖学的領域として分化を続けてゆく。菱脳分節と前脳分節を同質のものと考えられるかどうか、今後の研究が待たれる(32)。

8. 新しいプロソメアモデル

スペインの神経解剖学者Puellesのグループと、米国の分子発生学者RubensteinならびにShimamuraの共同チームが、羊膜類前脳の分子マッピングを提唱した(33-37)。Hisに始まる古典的な神経発生学をベースとし、神経誘導現象とそれに続く特異化を視野に置いたダイナミックなものであり、前脳を理解する図式を一挙に塗り替えてしまった。この画期的な論文以降、様々な遺伝子発現や発生現象が、この図式のもとに解釈されるようになったのである(38)。彼らは終脳を最前方の分節とはみず、前脳の再前方の分節の背側部分であると説明した。これは発生機構の観点からも妥当な解釈であった。

このプロソメアモデルでは、中脳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(Fig.12)。

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。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.12).

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⁽³⁹⁾とHomeobox (Hox)遺伝子の発現により制御されている。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⁽⁴⁰⁾。

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^(30, 41)(Fig.12)。

9. アレン脳科学研究所 Allen Institute for Brain Science

アメリカ合衆国のワシントン州シアトルにある神経科学の研究所。どこの大学に属する機関でもない非営利の独立型研究所である。マイクロソフトの共同設立者の一人であるポール・アレン Paul Gardner Allenが、2003年に1億ドルを寄付して設立した。アレン脳地図 Allen Brain Atlasの制作と、インターネット上での無料公開を行っている (<http://www.brain-map.org>)。アレン脳地図は、マウスやヒトの脳に関する様々なデータで、脳のスライスされた切片画像のデータ、色々な遺伝子の脳の各発達段階での遺伝子発現マップ、神経回路の接続状況に関するコネクティビティのデータ、といった情報を含む。Mouse Brain Atlasは、マウス脳を網羅する21000個以上の遺伝子発現を詳細に示した三次元マップを構築するためのデータベース。マウス脳を数十万個の切片にし、in situ hybridizationを行い、すべての遺伝子の発現パターンを細胞レベルまで示している。ここでは、マウス発生における解剖学的分類にPuellesらのコンセプトが取り入れられている⁽⁴²⁾。

10. 発生生物学の発展と今後の展開

脊椎動物の中樞神経系発生における古典的なコンセプトは、生体における脳の外観（つまり形態）との関係性が基本であった。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の因果関係が明らかになってきた。この新しい概念体系は、中樞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⁽⁴¹⁾。

中樞神経の各領域は、神経管の前後軸方向および背腹軸方向の分化によってグループ化されてきた。放射状、接線方向に移動・階層化する神経細胞群さえ、fate mappingやgene mappingの手法によりその前駆領域から追跡が可能である。さらにこれらのデータによって、胎生期のパターンと生体の構造との関連性を示すことができる。中樞神経系の形態発生における遺伝子による制御は種を越えてよく保存されており、本モデルはすべての脊椎動物において当てはめることができるであろう。

脳における遺伝子発現解析は、single-nucleus RNA sequence等のcomprehensiveな手法により、マウスやヒト脳においてニューロンのグループ化を可能にした⁽⁴³⁻⁴⁶⁾。さらに、類似の手法を用いたエピジェネティックな解析も行われている⁽⁴⁷⁾。これら最新の遺伝子発現解析データから、今後より正確で新しいモデルが構築されると考えられる。

11. まとめ

1. ニューロメアとは、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、脳をつくるための基本的な発生要素と考えられる。
2. 共通した背腹軸方向の構造を有し、それぞれの分節はユニークなmolecular identityおよび独自の分化を示す。
3. その結果、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。
4. 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、遺伝子発現解析やfate mappingの方法論を用いて、脳の各パーツの本来の関係性をより正確に表している。

5. 神経系の形態発生における遺伝子による制御は種を越えて保存されており、これらのもでるはすべての脊椎動物において有効と考えられるが、今後の新しい発見や議論を経てさらに見直されてゆくだらう。

References

1. 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.
2. von Baer, K.E., *Entwicklungsgeschichte der Thiere: Beobachtung und Reflexion*, Borntraeger. 1828.
3. Orr, H.J., Contribution to the embryology of the lizard. *J Morphol* 1:311-372, 1887.
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* 218:1229-1277, 2013.
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* 391:99-114, 1998.
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* 128:3521-3531, 2001.
7. 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.
8. Pasini, A. and Wilkinson, D.G., Stabilizing the regionalisation of the developing vertebrate central nervous system. *Bioessays* 24:427-438, 2002.
9. Briscoe, J., Sussel, L., Serup, P., et al., Homeobox gene Nkx2.2 and specification of neuronal identity by graded Sonic hedgehog signalling. *Nature* 398:622-627, 1999.
10. 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* 127:4855-4866, 2000.
11. 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.
12. Matsunaga, E., Araki, I., and Nakamura, H., Pax6 defines the di-mesencephalic boundary by repressing En1 and Pax2. *Development* 127:2357-2365, 2000.
13. Nakamura, H. and Watanabe, Y., Isthmus organizer and regionalization of the mesencephalon and metencephalon. *Int J Dev Biol* 49:231-235, 2005.
14. Fraser, S., Keynes, R., and Lumsden, A., Segmentation in the chick embryo hindbrain is defined by cell lineage restrictions. *Nature* 344:431-435, 1990.
15. Inoue, T., Tanaka, T., Takeichi, M., et al., Role of cadherins in maintaining the compartment boundary between the cortex and striatum during development. *Development* 128:561-569, 2001.
16. Xu, Q., Mellitzer, G., Robinson, V., et al., In vivo cell sorting in complementary segmental domains mediated by Eph receptors and ephrins. *Nature* 399:267-271, 1999.
17. Wilkinson, D.G., Multiple roles of EPH receptors and ephrins in neural development. *Nat Rev Neurosci* 2:155-164, 2001.
18. Wilson, S.W. and Rubenstein, J.L., Induction and dorsoventral patterning of the telencephalon. *Neuron* 28:641-651, 2000.
19. 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* 126:3359-3370, 1999.
20. Anderson, S.A., Eisenstat, D.D., Shi, L., et al., Interneuron migration from basal forebrain to neocortex: dependence on Dlx genes. *Science* 278:474-476, 1997.
21. 倉谷滋, かたちを決める遺伝子, in *かたちの進化の設計図*. 1997, 岩波書店: 東京. p. 81-114.
22. Lufkin, T., Mark, M., Hart, C.P., et al., Homeotic transformation of the occipital bones of the skull by ectopic expression of a homeobox gene. *Nature* 359:835-841, 1992.
23. Rijli, F.M., Mark, M., Lakkaraju, S., et al., A homeotic transformation is generated in the rostral branchial region of the head by disruption of Hoxa-2, which acts as a selector gene. *Cell* 75:1333-1349, 1993.
24. Lumsden, A., Segmentation and compartmentation in the early avian hindbrain. *Mech Dev* 121:1081-1088, 2004.
25. Lumsden, A. and Keynes, R., Segmental patterns of neuronal development in the chick hindbrain. *Nature* 337:424-428, 1989.
26. Kiecker, C. and Lumsden, A., Compartments and their boundaries in vertebrate brain development. *Nat Rev Neurosci* 6:553-564, 2005.
27. 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* 18:1539-1552, 2004.
28. Pearson, J.C., Lemons, D., and McGinnis, W., Modulating Hox gene functions during animal body patterning. *Nat Rev Genet* 6:893-904, 2005.

29. Philippidou, P. and Dasen, J.S., Hox genes: choreographers in neural development, architects of circuit organization. *Neuron* 80:12-34, 2013.
30. 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.
31. Figdor, M.C. and Stern, C.D., Segmental organization of embryonic diencephalon. *Nature* 363:630-634, 1993.
32. 倉谷滋, 神経分節の統合的理解 in 分節幻想. 2016, 工作舎: 東京. p. 307-312.
33. Puelles, L. and Rubenstein, J.L., Expression patterns of homeobox and other putative regulatory genes in the embryonic mouse forebrain suggest a neuromeric organization. *Trends Neurosci* 16:472-479, 1993.
34. Rubenstein, J.L. and Puelles, L., Homeobox gene expression during development of the vertebrate brain. *Curr Top Dev Biol* 29:1-63, 1994.
35. Rubenstein, J.L., Shimamura, K., Martinez, S., et al., Regionalization of the prosencephalic neural plate. *Annu Rev Neurosci* 21:445-477, 1998.
36. Puelles, L., A segmental morphological paradigm for understanding vertebrate forebrains. *Brain Behav Evol* 46:319-337, 1995.
37. 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* 424:409-438, 2000.
38. 倉谷滋, もう一つの前脳モデル - スペイン学派と日米の共同研究 in 分節幻想. 2016, 工作舎: 東京. p. 313-318.
39. Crossley, P.H., Martinez, S., and Martin, G.R., Midbrain development induced by FGF8 in the chick embryo. *Nature* 380:66-68, 1996.
40. Matsumoto, K., Nishihara, S., Kamimura, M., et al., The prepattern transcription factor *Ir2*, a target of the FGF8/MAP kinase cascade, is involved in cerebellum formation. *Nat Neurosci* 7:605-612, 2004.
41. Puelles, L., Harrison, M., Paxinos, G., et al., A developmental ontology for the mammalian brain based on the prosomeric model. *Trends Neurosci* 36:570-578, 2013.
42. Ng, L., Bernard, A., Lau, C., et al., An anatomic gene expression atlas of the adult mouse brain. *Nat Neurosci* 12:356-362, 2009.
43. Hawrylycz, M.J., Lein, E.S., Guillozet-Bongaarts, A.L., et al., An anatomically comprehensive atlas of the adult human brain transcriptome. *Nature* 489:391-399, 2012.
44. Zeisel, A., Munoz-Manchado, A.B., Codeluppi, S., et al., Brain structure. Cell types in the mouse cortex and hippocampus revealed by single-cell RNA-seq. *Science* 347:1138-1142, 2015.
45. Tasic, B., Menon, V., Nguyen, T.N., et al., Adult mouse cortical cell taxonomy revealed by single cell transcriptomics. *Nat Neurosci* 19:335-346, 2016.
46. Lake, B.B., Ai, R., Kaeser, G.E., et al., Neuronal subtypes and diversity revealed by single-nucleus RNA sequencing of the human brain. *Science* 352:1586-1590, 2016.
47. Luo, C., Keown, C.L., Kurihara, L., et al., Single-cell methylomes identify neuronal subtypes and regulatory elements in mammalian cortex. *Science* 357:600-604, 2017.

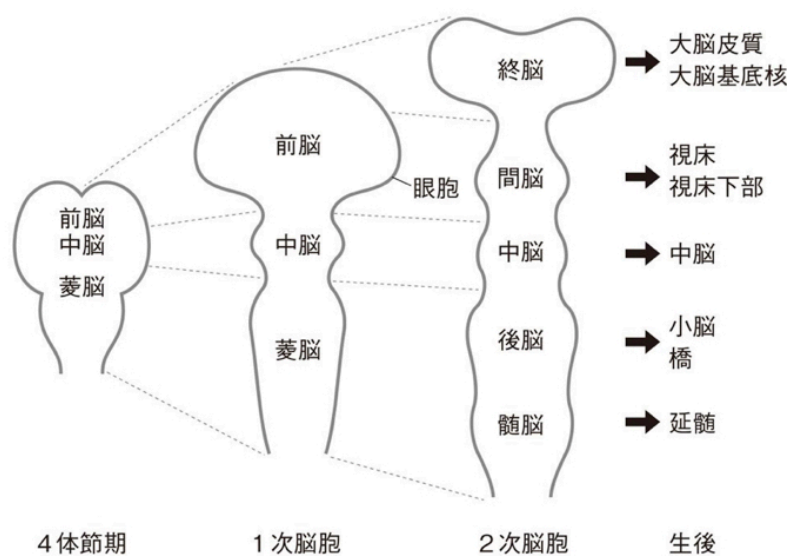


Fig.1 発生過程で神経管がくびれて脳になるまで(7)より引用.

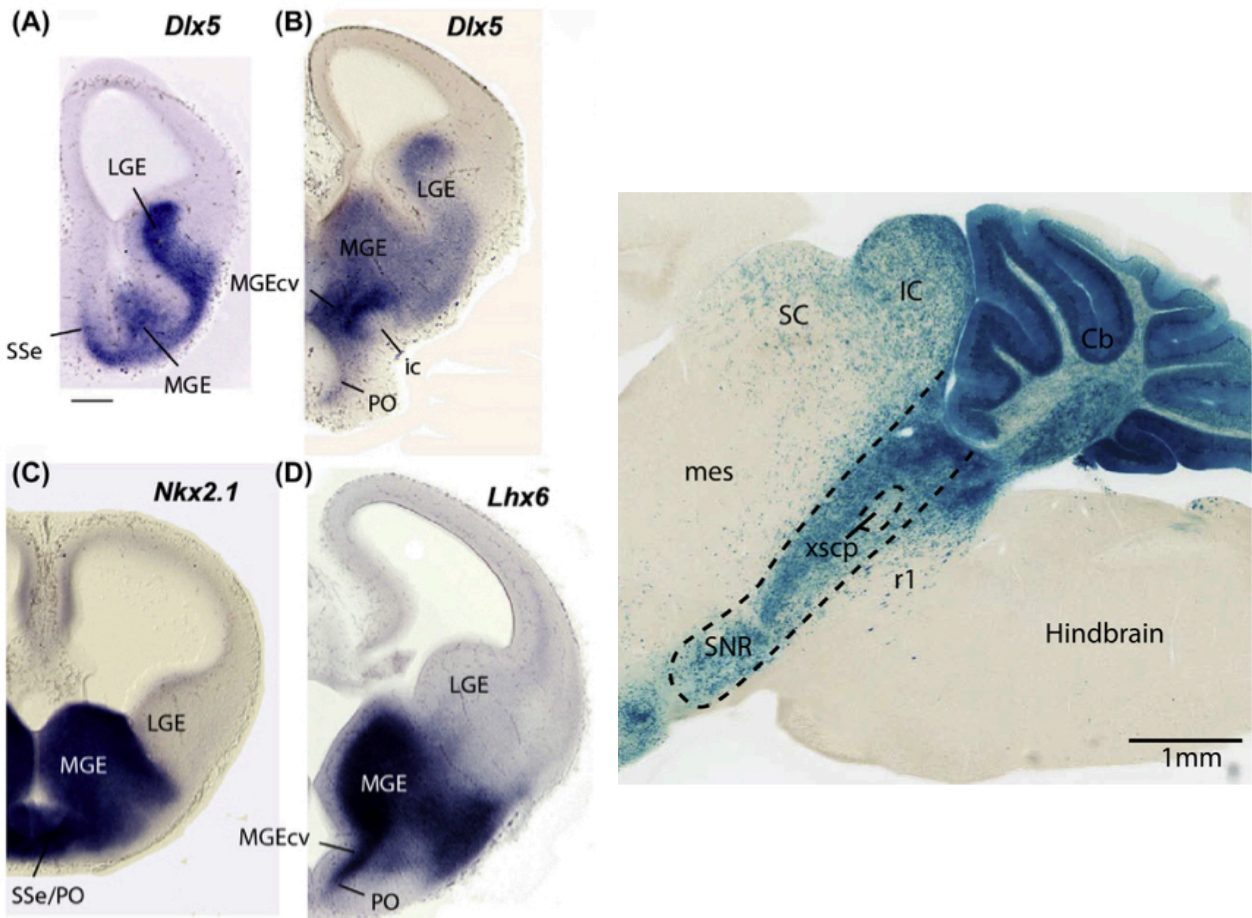


Fig.2 Subpalliumの発生における遺伝子発現.

A, マウス発生過程E12.5における3種類の遺伝子の発現. 外側基底核隆起 lateral ganglionic eminence, LGE (将来線条体を形成する) の細胞は転写因子Dlx5を発現している(A)が、Nkx2.1(C)やLhx6(D)は発現していない. 内即基底核隆起 medial ganglionic eminence, MGE (将来主に淡蒼球を形成する) の細胞は3種すべての転写因子を発現している、Dlx5(A), Nkx2.1(C), Lhx6(D). MGEcv, caudoventral margin of the MGE; PO, preoptic area.

B, Fate mappingの実験. 遺伝子改変により、発生過程でFgf8を発現した細胞をlacZ遺伝子で標識し可視化した. 生後のマウス中脳/後脳境界のsagittal sectionにおけるX-gal染色 (青色). Isthmusはmidbrain (mes)とfirst rhombomere (r1)と境界された分節である. またisthmusからはcerebellar vermis (Cb)および小脳深部核が発生している. Superior cerebellar peduncle, xscp; substantia nigura reticular part, SNR; inferior colliculus, IC; and superior colliculus, SC⁽³⁰⁾.

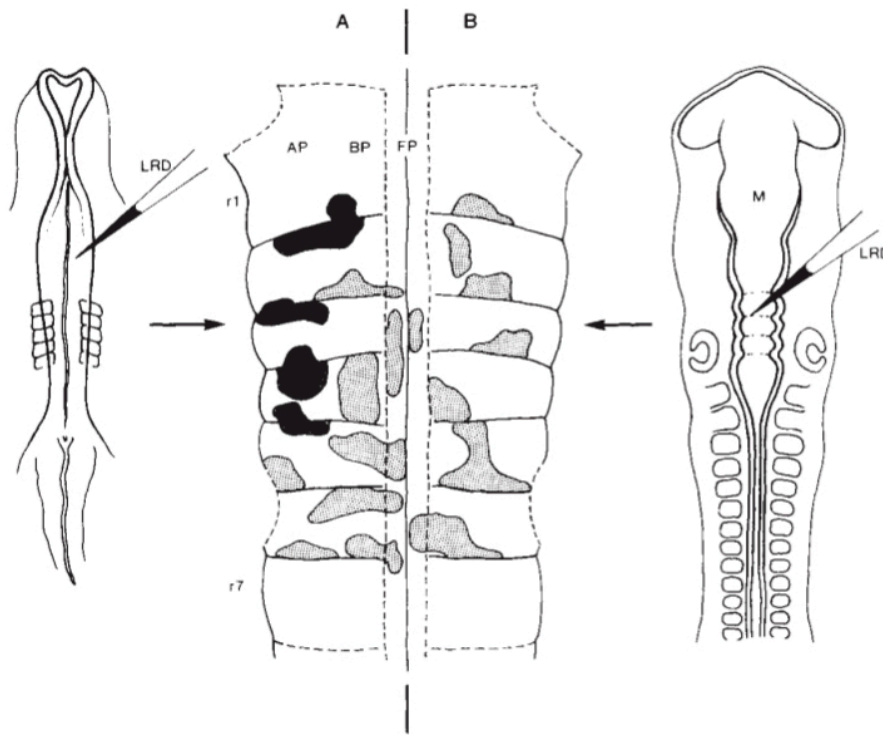


Fig.3 Fraserの実験 - ニワトリ胚菱脳における神経上皮細胞の標識実験。
 神経上皮細胞を蛍光色素によって標識し、その後の分散パターンを解析した。未分化な神経上皮細胞での標識では、その子孫の細胞はロンボメアの境界を越えて存在した(A)。ロンボメア境界が形成された後に細胞を標識すると、子孫の細胞が境界を越えることはない(B) (14)。

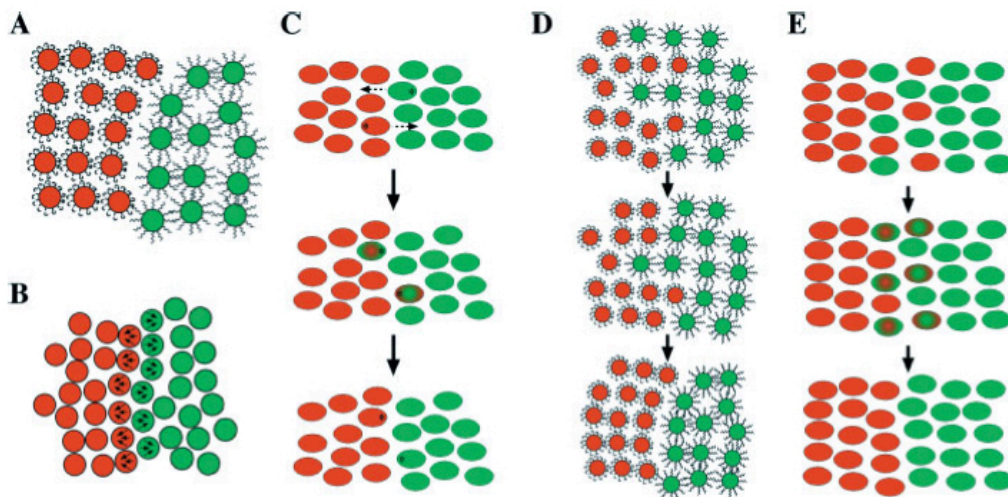


Fig.4 異なる性質を持つ隣接した細胞集団のあいだに、はっきりとした接触面を形成し維持するメカニズム。
 A-C: クリアな接触面を維持する2つのメカニズム。A,B: 接触面での細胞の混じわりは、同種親和性(A)あるいは相互の反発活性(B)により制限される。C: 接触面を越えた細胞の性質は、新たな細胞集団の性質に変換される。D,E: これらのメカニズムによって局所での細胞の再配列が行われ(C)、あるいは細胞の性質が周囲の細胞集団のものに変換され(D)、最初はいまいであった2つの細胞集団の境界がはっきりとしてゆく。その結果、同質の細胞が集まる領域が形成される(E) (8)。

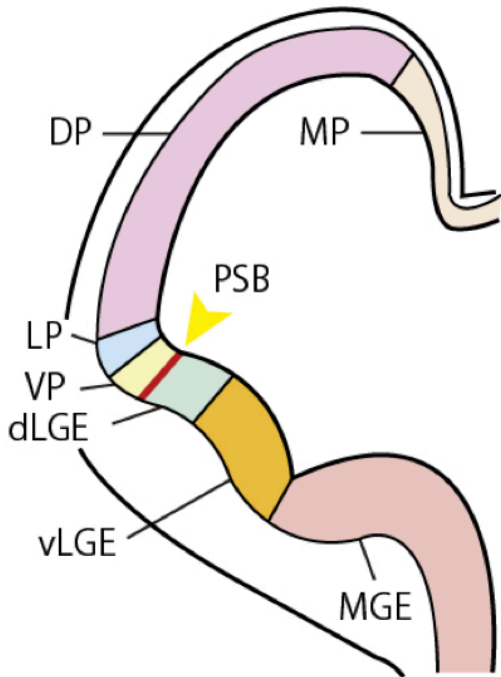
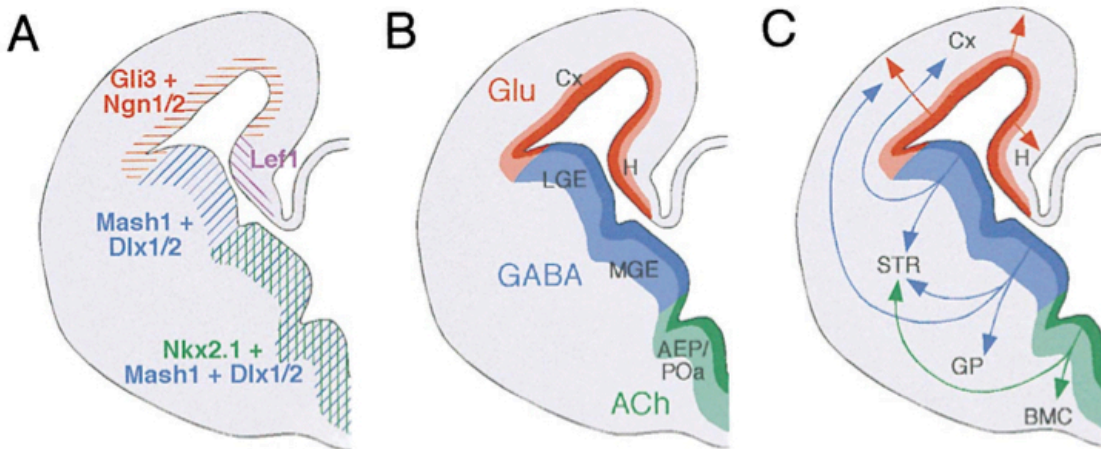


Fig.5 大脳皮質/線条体境界の形成

A, マウス胚終脳原基における区画化. E12.5マウス胚の telencephalic vesicleを含むcoronal sectionを示す. MP, medial pallium; DP, dorsal pallium; LP, lateral pallium; VP, ventral pallium; dLGE, dorsal lateral ganglionic eminence; vLGE, ventral lateral ganglionic eminence; MGE, medial ganglionic eminence; PSB, pallial sub-pallial boundary.



B, 終脳の背腹軸領域における、異なるニューロン群の産生と移動. E14マウス胚の終脳の右側coronal sectionを示す. (A) Progenitor zoneにおける転写因子の発現パターン. 終脳のパターンニングと分化を制御すると考えられている. (B) 終脳proliferative zoneの主な区画. グルタミン酸、GABA、アセチルコリンなどの神経伝達物質を産生する神経の前駆細胞の分布も示している. (C) 終脳のそれぞれの区画への神経細胞の移動経路. 矢印がそれぞれのprogenitor区画からの移動経路を示す. 矢印(直線)は放射状移動 radial migrationを示し、矢印(曲線)は接線方向の移動 tangential migrationを示す. 投射ニューロン projection neuronは一般的にradial migrationを行い、介在ニューロン interneuron (local circuit neuron)はtangential migrationを行う⁽¹⁸⁾.

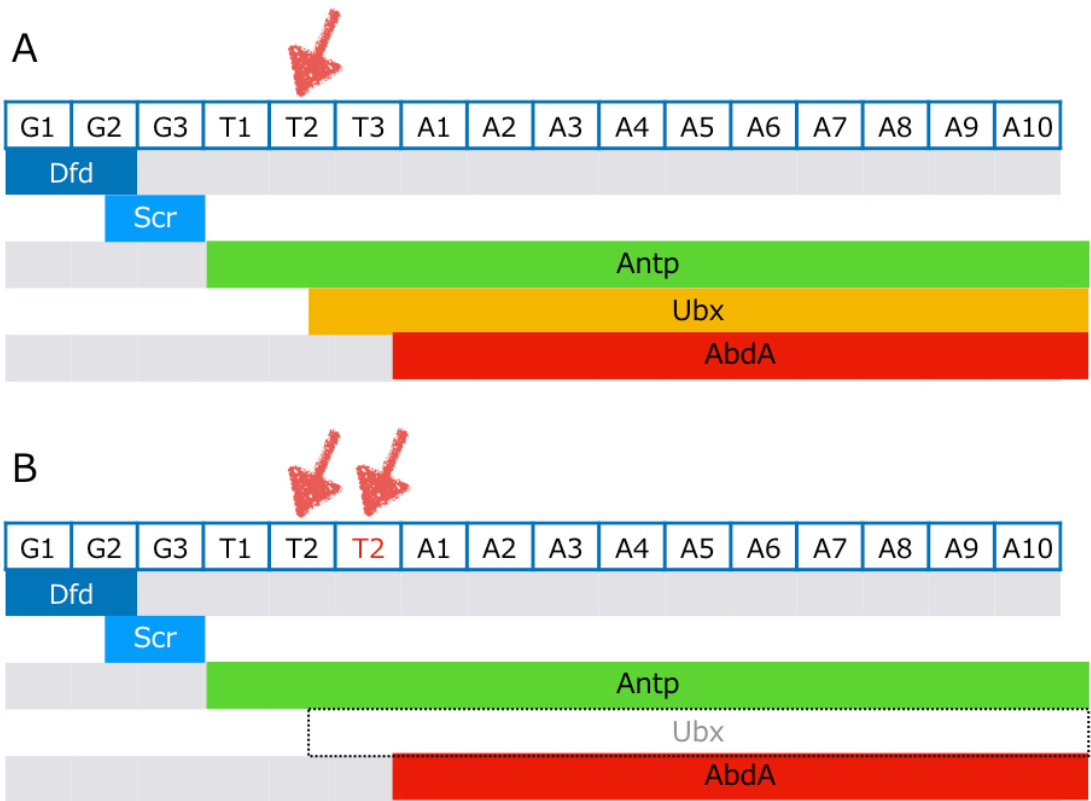


Fig.6 Hoxコードによる分節の形態獲得.

A, ショウジョウバエのには前胸(T1)、中胸(T2)、後胸(T3)があり、これらはみな肢を持つことで他からは区別される。さらにT2とT3には翅が生えているが、T3の翅は平衡桿というものに変化して小さくなっている。

B, ウルトラバイソラックス(Ubx)という変異体では、Ubx遺伝子が欠損し、T3の形態的個性がT2のそれに変化している。その結果、後胸分節(T3)の平衡桿が翅に変化して(もどって)いる。

C, Ubx遺伝子を欠損したショウジョウバエの変異体(右下)とwild-type(左上)。

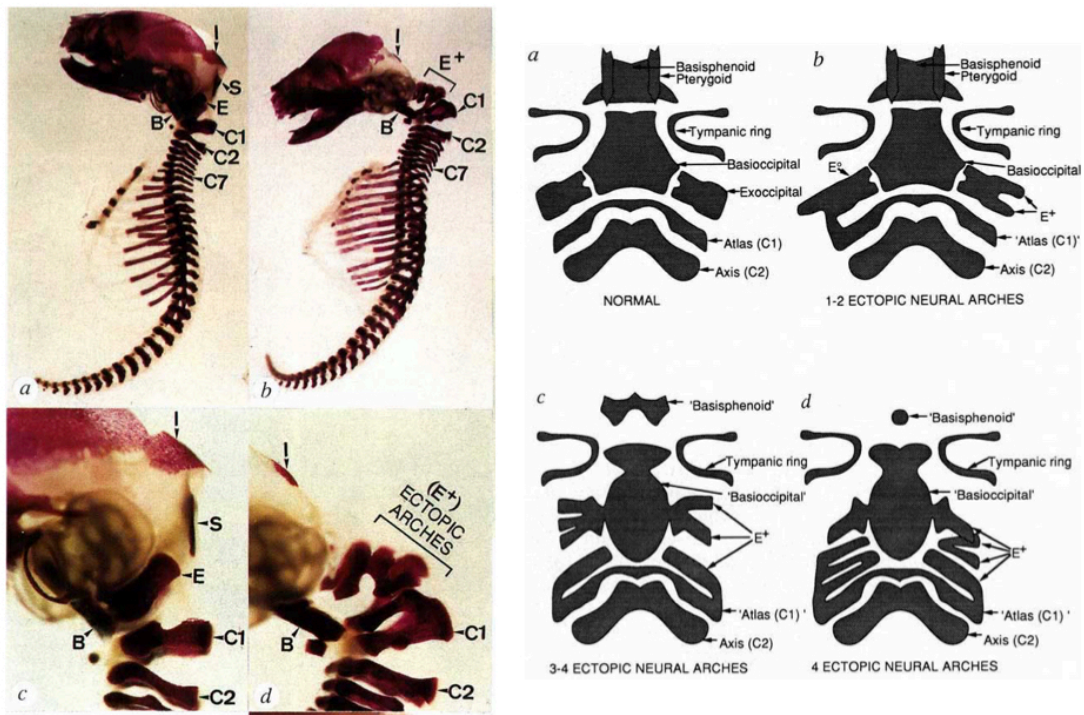


Fig.7 Hoxd-4遺伝子の機能獲得による後頭骨の後方化.

左a, cがwild-type, b,dが強制発現マウス. 遺伝子改変マウス(b,d)においては、interparietal bone, Iのサイズが縮小し、supraparietal bone, Sおよびexoccipital bone, Eが完全に消失している. B, basioccipital bone; E+, ectopic neural arch. 後頭骨の形態が一部椎骨化していることがわかる. 右はそのスキームを示す(22).

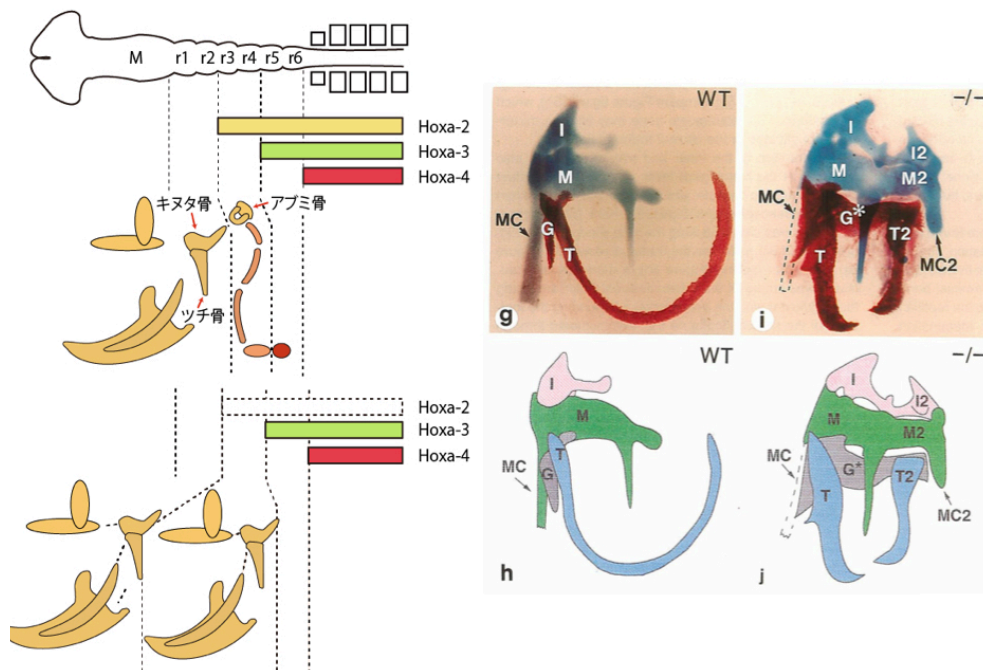


Fig.8 Hoxa-2遺伝子ノックアウトマウスにおける、舌骨弓骨格の顎骨化.

左、仮説のスキーム. 右、実際の実験結果, g,h, wild-type; i,j, Hoxa-2ノックアウトマウス. マウス胚 18.5 dpc. Hoxa-2遺伝子のノックアウトマウスを作成し、ロンボメア3,4(r3,4)の性格をr1,2の性格に変えると、

本来舌骨弓を生じる場所に顎骨弓が生じるのではないか(Fig.8左). ノックアウトマウスでは舌骨弓に発生するはずのアブミ骨とライヘルト軟骨が消失し、そのかわりに「かたち」の上からはキヌタ骨、ツチ骨、蝶形骨、偶骨、鼓骨等が前後逆向きに重複していた(Fig.8 右) (23).

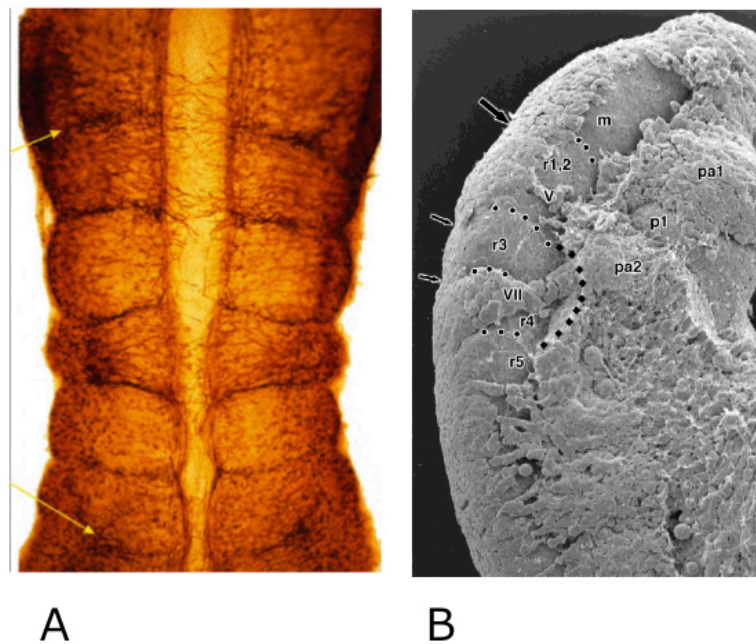


Fig.9 ロンボメア

A, ニワトリ胚のロンボメア. ニワトリ3日目胚の菱脳、ニューロフィラメント抗体による免疫染色像. ロンボメアの境界は、脳の反対側へと伸びる軸索の経路となっている(24). 矢印上, r1/r2境界、矢印下, r6/r7境界を示す. B, 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 (5).

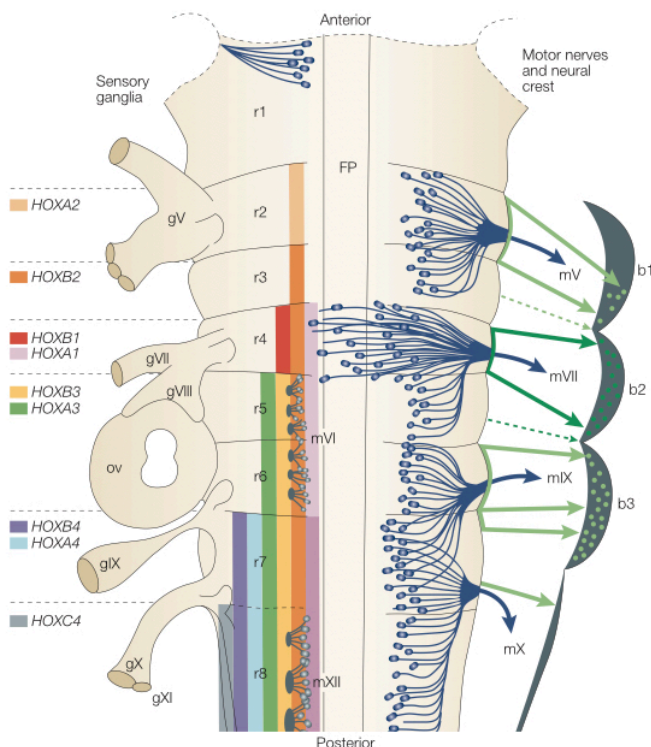


Fig.10 後脳のsegmentation.

脊椎動物(鳥類)の後脳からroof plateを除いて背側から見たスキーム. 運動ニューロンとその遠心性神経のexit pointが、第2,4,6,7ロンボメアに存在する(右側). 三叉神経(mV), 顔面神経(mVII), 舌咽神経(mIX)が各々第1(b1), 第2(b2), 第3(b3)鰓弓に投射しており、迷走神経(mX)は身体の広い範囲を支配している. 対応するロンボメアからの神経堤細胞は末梢へ分節性をもって移動している(緑色矢印). 感覚脳神経核(gVとgVII-gXI)とotic vesicle (ov)の位置を左側に示す. 分節へ入れ子状態に発現しているHOX遺伝子を色分けした. FP, floor plate; mVI, mXII, somatic motor neurons (26).

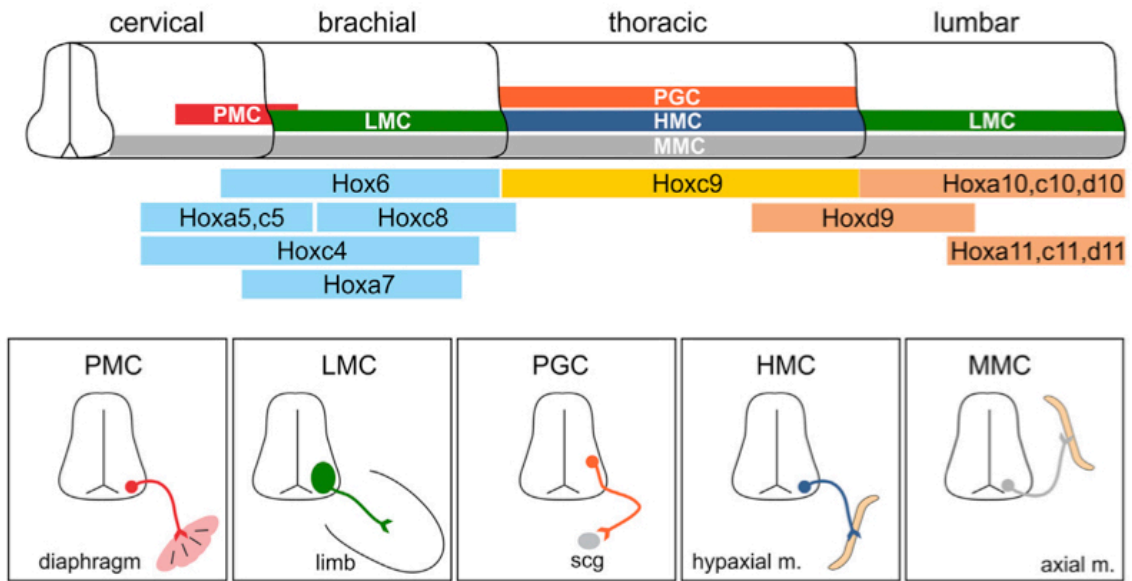


Fig.11 Hox遺伝子の発現による脊椎の領域化

脊椎ではHOX4-HOX11遺伝子が運動ニューロンの配列を規定している。PMC, phrenic motor column; LMC, lateral motor column; HMC, hypaxial motor column; PGC, preganglionic motor column; MMC, medial motor column (29).

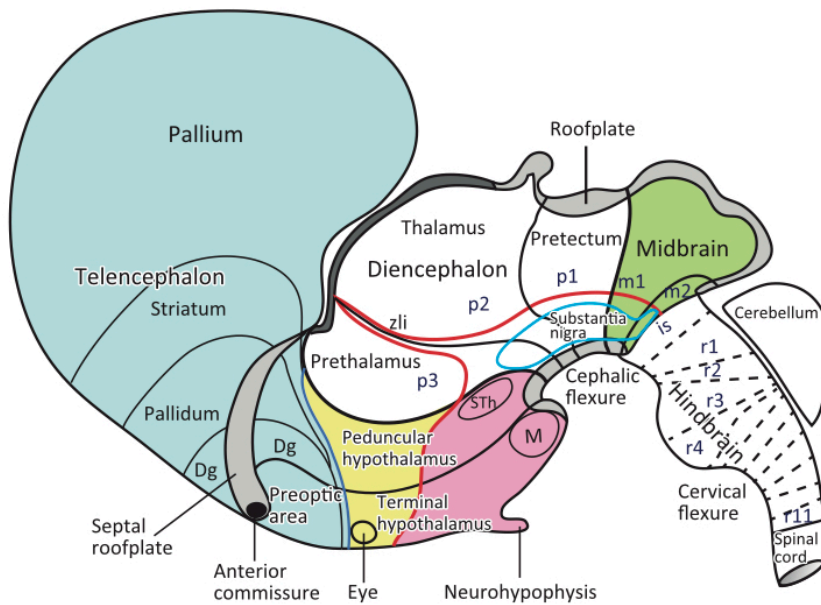


Fig.12 新しいプロソメアモデル

発生過程の脳における分節構成(lateral view). Telencephalonはpalliumとsubpallial regions (striatum, pallidum, diagonal domain (Dg)とpreoptic area)に区画される。Septal roof plate (grey shading)が telencephalic roofからanterior commissure (ac)へ伸展している。Terminal hypothalamusでは、eye vesicle, neurohypophysisおよびmamillary body (M) が分化している。Peduncular hypothalamusでは、subthalamic nucleus (Sth)が発生している。赤線はalar-basal boundaryを示す。Diencephalonにおける分子境界には zona limitans (zli)があり、alar plateにおいてp2とp3を区分している。Cephalic flexure上のgrey areaは、floor plateにおけるSonic hedgehog (Shh)遺伝子発現の最も頭側領域を示す (41).