神経回路網形成の細胞機構, 分子機構

藤 澤 肇*

1. はじめに

「神経細胞はどのようにして遠く離れた標的を探し出し、これと特異的に結合するのであろうか?」、これは古くから生物学上の大きなナゾであるとともに、今日の神経科学の最もホットなテーマの1つでもある。

19世紀末から今世紀の当初にかけて、スペインの神経解剖学者である Ramon y Cajal は、さまざまな神経組織を、鍍銀法と呼ばれる特殊な染色方法で染め、神経系が従来信じられていたような、細胞が融合してできた網目様構造をとっている（このような考え方を網状説と呼んでいる）のではなく、個別の神経細胞やその突起が互いに近接して、組み合わせあった構造であること（これをニューロン説と呼ぶ）を明らかにした。さらに、Ramon y Cajal は幼若な神経組織の鍍銀を行い、神経結合の成立に先だって、伸長しつつある神経突起の先端がふくれ、それから細かな突起が出ている成長円錐（growth cone）と呼ばれる構造をとることを明らかにした¹⁾。いっぽう Harrison は、神経細胞を培養して成長円錐を生きた状態で観察し、神経突起の伸長や標的の識別が、この成長円錐の働きにもとづいていることを最初に明らかにした²⁾。この2人の偉大な神経科学の先駆者の発見により、最初に述べたナゾはより具体的な生物学的解析のまな板に乗せられるようになったのである。神経回路網の形成の問題は、次のような設問に置きかえることができる。「神経突起の成長円錐は、特定の道筋をたどって標的にたどりつくのであろうか? もしそうなら、その道筋や標的はどのように標識されおり、また、どのような方法で成長円錐はこの標識を読み取るのであろうか?」

この十数年の生物学の技術の進歩は、この問題を細胞レベル、分子レベルで解析することを可能に

してきている。ここでは、神経回路発生のもっと基本的な機構を、主としてバッタの胚の神経系と、私自身が行っている両生類の視覚神経回路とを例にして述べてみる。

2. 神経線維の伸長路

図1は、培養したアフリカツメガエル胚の、網膜の小片から伸び出した視神経線維を示している。それぞれの線維の先端には、ボタン状の成長円錐が見られる。成長円錐からは、細い糸状の filopodia と呼ばれる突起や、これより幅の広い lamellipodia と呼ばれる突起が多数出ている。これらの突起は、さかんに伸長と収縮をくりかえしている。filopodia の伸長速度は1秒間におよそ0.1~0.2 μm であり、filopodia 中のアクチンフィラメントの付加重合が、この運動性のもととなっていると考えられている³⁾。filopodia は、神経細胞が自己の置かれている環境を認知するための、センサーの役目をはたしている。培養皿の表面を、糖タンパク質の1つであるラミニン（laminin）で基盤の目状にコートすると、神経線維はラミニンでコートされた領域を選択的に選んで伸長する⁴⁾。また、培養中に種々の細胞や、パラフィン滴などの異物を加えると、filopodia はこれらを触診する。不適當なものと接触した filopodia は、ただちに収縮し別の方向に新たに伸び出してゆく⁵⁾。

このように培養下で観察できる filopodia のふるまいや、それによって生ずる神経線維の伸長が、生体内でも起っていることは想像にかたくない。実際、Spidel は1930年代にすでに、オタマジャクシの尾のヒレに侵入する神経線維が、上に述べた培養下での神経線維とほとんど同じやりかたで、伸長してゆくことを観察しているのである⁶⁾。生体においても、filopodia は自己を取りまく微小環境を認識し、特定

* Hajime FUJISAWA, 京都府立医科大学第二解剖学教室（〒602 京都市上京区河原町通広小路上ル 梶井町465）

図1 培養下での視神経線維 Stage 27のアフリカツメガエル胚の網膜小片をラミニンでコートしたガラスの上で培養したときに見られる視神経線維。ex：網膜小片，矢印：成長円錐，バー：10 μ m

の方向に伸長すると考えることができる。Sperryは1963年に、このような考え方を洗練して、“化学的親和性仮説” (chemoaffinity hypothesis) を提出した⁷⁾。これによれば、個々の神経は高度に生化学的に特異化されており、この生化学的な特異性に基づく神経細胞相互の親和性が、特異的な神経結合の成立をもたらすのである。神経線維の成長端の filopodia はその環境を探索し、より親和性の高い方向へと神経線維の伸長をうながし、ついには正しい標的に達することとなるのである。

それでは、filopodia が探索する環境はどのようなものであろうか。その1つは、物理的ないしは機械的な環境である。発生初期の脊髄の断面を電子顕微鏡で観察すると、脳軟膜直下で、神経上皮細胞の突起間に脊髄の長軸方向につながつた空所が形成されている。このような空所は、脊髄の神経線維の伸び出しに先だって形成され、神経線維を特定の場所に導く機械的なチャンネルとしての役割をはたしているとする仮説 (blue print hypothesis ; Singer, 1979) が出されている⁸⁾。同様な神経上皮細胞の空所は、マウスの網膜でも知られており、このような空所の形成が不全であるある種の突然変異種では、視神経

線維が視神経乳頭に向って正しく伸長できない⁹⁾。

しかしながら、このような機械的なチャンネルは、神経線維の伸長を保障する一般的な環境の1つにすぎなく、これだけでは、神経線維の標的に向う特異的な伸長を説明することはできない。BateやBentleyのグループは、バッタの神経線維が、きわめて巧妙な手段で特定の方向に伸長することを明らかにした^{10) - 12)}。昆虫の末梢の知覚神経細胞は、体表をおおう上皮から分化し、その線維を中枢に伸ばす。肢の知覚神経線維の中枢への走行経路には、上に述べたような機械的なチャンネルは見られない。この神経線維は、上皮と中枢との間にあるいくつかの特定の細胞 (将来神経細胞に分化する) を、飛び石として利用して中枢に達するのである (図2A)。このような飛び石となる細胞を、“道標細胞” (guidepost cell) と呼んでいる。知覚神経の軸索は、最初は上皮に沿って伸長するが、やがて第1番目の道標細胞に向ってその道筋を変える。この伸長経路の変更は、軸索の先端の成長円錐からの filopodia が道標細胞を認識し、これと選択的に接着することによっておこる。filopodia はその長さが50~100 μ m ほどなので、半径50~100 μ m の範囲に入るものは触診可能となる。知覚神

図2 道標細胞とパイオニアニューロン A バッタ胚の肢芽のパイオニアニューロン (Ti1) の軸索が道標細胞 (F1, F2, CT1) を飛び石に中枢に伸び出す様子を模式的に表わしたもの。胚発生の後期に出現するニューロン (白ぬき) は, Ti1ニューロンの軸索に沿って伸長する (文献10, 11, 12をもとに作図)。B 脊髄 (SC) 中のローン・ベアードニューロン (RB) の突起が、発生後期に出現する脊髄神経節ニューロン (D) の突起をガイドする可能性を示す。SO: 体節, e: 皮膚

経線維は、上皮よりは道標細胞との接着性がより高いため、道標細胞が filopodia の探索可能な範囲に入ってきたとき、その伸長経路を急激に道標細胞に向けて変更すると考えることができる。第1番目の道標細胞から第2番目の道標細胞へ向けて伸長路を変更する場合も、同じように説明できる。このように知覚神経の軸索は、次々により接着性（ないしは親和性）の高い飛び石をたどりながら、ついには中枢に達するのである。ちなみに、道標細胞の1つを紫外線を照射して取り除くと、軸索の伸長経路にみだれが生ずるのである。つまり、バッタの知覚神経の特異的な伸長路は、道標細胞が一定のパターンで配列していること、上皮やそれぞれの道標細胞、あるいは中枢と知覚神経軸索の filopodia との間の接着性に、ある一定のヒエラルキーがあることの、2つの

要素に基づいて決められるのである。昆虫では、細胞の配列パターンは細胞系譜 (cell lineage) に基づいて、かなり厳密に決められていることが知られている¹³⁾。filopodia と道標細胞との接着性の実体はまだ明らかになっていないが、この点については、この小論のあとの部分で別の角度から述べる。

ところで、上に述べた知覚神経は、肢の上皮と中枢とを結ぶ最初のニューロン (パイオニアニューロン: pioneer neuron) である。これよりあとに分化する種々のニューロンは、このパイオニアニューロンの軸索を手がかりにして、中枢から末梢へ、あるいは末梢から中枢へと軸索を伸ばすのである。脊椎動物の神経系で、道標細胞やパイオニアニューロンの存在は実験的に確認されていない。しかしながら、発生初期の脊髄にのみ見られるローン・ベアードニ

図3 日本産イモリの網膜視蓋投射 A 右眼球網膜の部位 (D:背側, V:腹側, N:鼻側, T:側頭側, DN:背鼻側, VN:腹鼻側) からの視神経線維の左視蓋への投射の様子を模式的に示している。B 眼球の各部位で網膜を傷つけ (図Aの眼球上の黒線) たのちに眼球に HRP を注入すると、傷をつけた部位からの視神経線維が HRP で選択的にラベルされる。B図は背側網膜からの線維を HRP でラベルすると、HRP 陽性線維が間脳側壁の視索 (ot) の腹側を通過したのちに、視蓋 (t) の腹側に投射していることを知ることができる。c: 視交叉 (Chiasma), 80倍

ニューロン (Rohon-Beard neuron) は、パイオニアニューロンとしての役割をはたしているようである。この神経細胞は、脊椎動物の中樞神経系では最も早期に分化する知覚神経細胞であり、両生類でよく調べられている¹⁴⁾。図2Bに示すように、発生初期の脊髄の背側正中に近いところに並んだローン・ベアードニューロンは、脊髄の長軸に沿って突起を伸ばしている。この突起は、先に述べた神経上皮細胞の脳軟膜側の突起が形作る、チャンネルを通過して伸びている。この神経細胞の突起の途中から分枝が形成され、脊髄の軟膜側の基底膜を貫ぬき、体節の間を通りぬけて皮膚に達している。アフリカツメガエルでは、発生段階47という時期のオタマジャクシ (この時期では、すでに泳ぎまわり自分で餌をとっている) までは、脊髄神経節の発達が見られず、皮膚知覚はローン・ベアードニューロンが司っているものと思われる。脊髄神経節の形成にともない、ローン・ベアードニューロンは次第に数が減少し、変態したカエルでは全く認められなくなる。あとから発生する脊髄神経節細胞の脊髄への突起 (これが集合し

て後根を形成する) が、すでに存在しているローン・ベアードニューロンの突起をガイドロープにして伸長するの可否かは明らかにされていない。脊椎動物の神経系では特定の細胞 (この場合はローン・ベアードニューロン) だけを取り除くような実験は、かなり困難である。しかしながら、上に述べたような、発生にともなうローン・ベアードニューロンと脊髄神経節細胞の消長や、両者の空間的な配置は、ローン・ベアードニューロンが知覚神経回路のパイオニアニューロンである可能性を示しているように思える。

3. 視神経線維の伸長路

両生類では、一側の眼球から伸び出した視神経線維は、視交叉部を通過し、反対側の間脳や中枢にある視中枢に投射する。眼球から視中枢までの視神経線維の走行経路がきわめて秩序だっていることは、視神経線維の一部を西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) などのトレーサーで、ラベルすることによって示すことができる^{15), 16)}。両生類では、中脳の視

蓋 (tectum) が最も主要な視中枢であり、網膜の背側部から伸び出した視神経線維は、視索の腹側を通過した後、視蓋の腹側に達する。また、網膜の腹側部からの視神経線維は、視索の背側を通過した後、視蓋の背側部に達する。網膜の鼻側部と側頭側部からの視神経線維は、視索のほぼ全域にわたって走行し、それぞれ視蓋の尾側と吻側に達する (図3)。両生類で認められるこのような秩序だった視神経線維の走行経路や、視蓋への投射パターンは、ほぼそのまま鳥類や哺乳類 (哺乳類では上丘が下等脊椎動物の視蓋に相当する) にもあてはめられる。

このような種をこえて強固に保持されている視神経線維の特異的な走行経路は、どのようにして定められているのであろうか? 残念ながら、バッタの神経系で知られているような明快な答えは得られていない。網膜内に視神経線維を視神経乳頭へ導ぶ機械的なチャンネルがあることは既に述べたが、同じようなチャンネルが視神経線維の脳への最初の通路である眼柄 (optic stalk) や、間脳表層の視索が形成される領域に形成されているのかもしれない。ニワトリ胚の発生初期で、まだ視神経線維が伸び出していない時期に、将来の視神経線維の通路である視交叉を機械的に傷つけると、視神経線維の走行経路がみだされるという実験事実¹⁷⁾は、このようなチャンネルの存在を示しているのかもしれない。パイオニアニューロンの存在は知られていないが、視神経線維同士の接着性が、線維の走行経路の決定に関与しているらしいことが報告されている。神経細胞の接着分子の1つであるN-CAM (neuronal cell adhesion molecule) に対する抗体を、発生途上のニワトリ胚の眼球に投与すると、視神経線維の配列がみだされるのである¹⁸⁾。この他、視神経線維の通路が視神経線維を導ぶために特異的な標識をほどこされている可能性や、視神経線維の産生が時間的・空間的に秩序だっているために、線維の配列が特異的なパターンをとるようになるという考え方が出されている。

ところで、ここで注目すべきことは、再生視神経線維は、このような秩序だった走行を示さないという事実である^{19)~21)}。イモリやカエルの視神経を切断して再生させると、再生視神経線維は間脳表層のさまざまな場所を通過して、視蓋に達する。それにもかかわらず、各々の再生視神経線維は視蓋内の正しい投射部位を識別し、これと結合するのである。つまり再生視神経線維は、正しい道筋に乗りそこねても、なんとかやりくりをして自己の標的を探し出す

ことができるのである。我々は、このように一旦まちがった部位に侵入したのち正しい投射部位に達する線維を、mis-routing fiberと呼んでいる。mis-routing fiberの存在は、正常発生の過程でも認められている²²⁾。バッタの神経系と異なり、両生類の視覚路形成時では、視神経線維が適切な伸長路を取ることが、正しい標的に達するための不可欠の条件ではないのである。おそらく、視神経線維は全く異なった方法で、伸長路と標的を識別するのであろう。

4. 伸長路識別、標的識別の分子機構

伸長しつつある神経線維の filopodia は、どのようにして適切な伸長路や標的を見分けるのであろうか。単に機械的なチャンネルだけでは、伸長路の選択や標的の識別は説明できない。もっとも魅力的な作業仮説は、神経線維の伸長路や標的がそれぞれ特異的に標識されており、これにもとづいて伸長路の選択や標的の特異的な認識がおこなうとする考えである。このような作業仮説は、次に述べるようないくつかの細胞レベルでの観察から導き出される。

再びバッタの神経系に戻る。バッタの中樞神経系は、脳といくつかの神経節が縦横に走る神経線維の束で結ばれた梯子状の形態をとっている。Goodmanら²³⁾は、胚の時期の特定の神経節細胞に注目し、この神経細胞の軸索が、縦方向に走る神経線維の束のうちの、特定のものに沿って伸長することを見いだした。この神経細胞の filopodia は、縦方向の神経線維のどの束とも接着することが物理的に可能であるにもかかわらず、つねに特定の線維束とのみ接着するのである。レーザーマイクロビームを使って、この神経線維束の元となる神経細胞を殺してしまうと、他の線維束が近傍にあるにもかかわらず、神経線維の伸長は停止してしまう。このような事実は、特定の神経線維の filopodia は、特定の神経線維の束を選択的に認識していることを物語っている。

すでに述べたように、両生類の視覚路では、視神経線維がどのようにして特定の伸長路を選択するのかは明らかでない。しかしながら、個々の視神経線維が、脳の特定の部位を自己の標的として、選択的に脳の他の部位から見分けていることが明らかになっている。発生途上のアフリカツメガエルのオタマジャクシの視神経線維を HRP でラベルすると、視索や視中枢で、成長円錐を具えた視神経線維の終末を観察することができる (図4A)。大変興味深いことは、これらの視神経線維は、その先端が視中枢に

図4 視神経線維による視中枢の識別 アフリカツメガエルのオタマジャクシ (Stage 50) の視神経線維を HRP でラベルし、これらの線維がどのようにして視中枢を識別するのかを解析した結果。A 視中枢に見られる成長円錐 (矢印) を具えた視神経線維, バー: 20 μm B 視神経線維が視中枢 (T: 視蓋, PT: 視蓋前域, NB: Nucleus of Belonci, BON: Basal Optic Nucleus) に達したときはじめて分岐することを示す模式図。ot: 視索, bot: Basal Optic Nucleus への投射路 C 鼻側網膜からの線維が、本来の投射部位である視蓋尾側部に達したときにはじめて分岐を開始することを示している。線維 a は分岐開始直後のものを、線維 b はより発達した終末を具えたものを示す。いずれの線維もカメラルシダのトレースによる。側頭側網膜からの線維は視蓋の吻側で、背側ならびに腹側の網膜からの線維は、それぞれ、視蓋の腹側ならびに背側に達したときはじめて分岐を開始する。バー: 200 μm

達した時にはじめて分岐をはじめる。両生類では、視蓋のほかに、視蓋前域 (pretectal area), Nucleus of Belonci, Corpus Geniculatum Thalamicus, Basal Optic Nucleus などの視中枢があるが、ある視神経線維は視蓋に達したときに、また別の線維は別の視中枢に達したときにはじめて、その先端がこまかな枝に分岐する²⁴⁾ (図4 B)。さらに、視蓋に投射する線維の場合、分岐開始点はトポグラフィックなパターンを示す (図4 C)。網膜の背側からの線維は視蓋の腹側で、網膜の腹側からの線維は視蓋の背側で、分岐を開始する²⁵⁾。このような観察結果は、個々の視神経線維の filopodia が、間脳や中脳の特定位を、さらには1つの視中枢内の特定の領域を自己の標的として、選択的に認識していることを示している。

視神経線維が脳の特定位を選択的に見分けていることは、in vitro の系を用いて実験的に示されている。Bonhoeffer らは、ニワトリ胚の網膜を脳のさまざまな部位、あるいは視蓋の各領域と組み合わせて培養し、網膜から伸び出す視神経線維が視中枢を、

さらには視中枢の特定の領域を、識別することを明らかにしている^{26), 27)}。おそらく脳の各部位は、それぞれ何らかの特異的な標識を具えており、視神経線維の成長端の filopodia は、この標識を読み取ることにより、適切な標的を見つけているのであろう。

それでは神経線維の伸長路や標的は、どのような分子で標識されているのであろうか。少し前までは、このような仮想上の未知の分子を同定する有効な手段を、我々は持ち合わせていなかった。しかしながら、モノクローナル抗体産生技術の開発は、このような分子の検索を可能にした。モノクローナル抗体法のノウハウとその利点については、多くの解説書が出されているので参照していただきたい。ここでは、つぎの点だけを強調しておきたい。通常の抗体産生法 (血清抗体) では、特異抗体を得るためには、前もって抗原分子を精製しておかなければならない。いっぽう、モノクローナル抗体法では、抗原分子の精製は必ずしも必要でない。多種の抗原の混合物でマウスを感作したのち、リンパ球を取り出し、ミエロマ細胞と細胞融合させて、増殖クローン (ハイ

図5 モノクローナル抗体 (MAb-1C3) の結合パターン モノクローナル抗体 (MAb-1C3) が視蓋の表層と選択的に結合することを示している (点線で囲んだ領域)。100倍

ブリドーマクローン) を作り出す。こののち適当な方法で、自分の目的にかなった抗体を産生するクローンを選り出し出せばよいのである。

我々は、視中枢の標識分子を探し出す目的で、アフリカツメガエルのおたまジャクシの視中枢を抗原にしてマウスを感作し、多くのハイブリドーマクローンを得た。視神経線維の filopodia による視中枢の識別は、おそらく視中枢細胞の表面にある分子を手がかりにしているはずである。このような仮定の上に立って、なるべく細胞表面分子に対する抗体を産生するハイブリドーマを、効率よく得ることができるよう、単に機械的に分散しただけの視蓋細胞を抗原にしたのである。また、ハイブリドーマの選択は、それが産生する抗体が、視中枢と結合するかどうかを指標とした。

過去2年間でおよそ3000種のハイブリドーマの探索を行い、いくつかの興味深い抗体産生のクローンを得ることができた^{24), 28), 29)}。そのうち、1C3と名付けられた抗体 (MAb-1C3) は、間脳や中脳の視中枢と選択的に結合する。しかもこの抗体は、視中枢のうちでも、実際に視神経線維が終末している領域に限って結合するのである。たとえば、視蓋では8層、9層と呼ばれる脳表面に近い2層が視神経の終末部位であるが、MAb-1C3はこの2層のみに結合するのである。(図5)。視神経を全て取り除いたおたまジャクシでも、視中枢はMAb-1C3と結合すること、ならびに視神経や網膜にはこの抗体が結合しないことなどから、MAb-1C3が認識する抗原分子 (1C3分子) は、視中枢に局在していることがわかる。種々の免疫化学的な解析から、MAb-1C3の抗原は、細胞表面上のタンパク質分子であることも明らかになっている。いっぽう、2B9と名付けられた抗体 (M

Ab-2B9) も、おたまジャクシの間脳や中脳の細胞表面分子 (2B9分子) を認識する。大変おもしろいことに、間脳や中脳では、1C3分子と2B9分子の分布が完全に相補的である。1C3分子が発現している視神経線維の終末部位では、2B9分子は発現していないのである。2B9分子は、視蓋の深層部 (1層から7層まで) のニューロピルで発現しているが、表層の8・9層では発現していない。

ところで、モノクローナル抗体法を用いて未知の分子を探し出すストラテジーの最大の泣き所は、得られた抗体が認識する、抗原分子の生理機能が明らかでないことである。とくに、上に述べたように、ハイブリドーマの選択を、免疫組織化学的手法にたよって行う場合には、抗原分子の脳内での分布はわかっていても、その生物学的意味は明らかにできないのである。現在までのところ、1C3分子や2B9分子が、視覚神経回路の形成に直接関与している分子であるかどうか明らかでない。しかしながら、アフリカツメガエルの個体発生時で、視神経線維が視蓋に侵入しはじめるのとほぼ時を同じくして、視蓋で1C3分子が発現してくることから、この分子が視中枢の標識分子があるものと推定している。

モノクローナル抗体法を用いて特異的な標識分子を探し出そうとする試みは、いくつかの研究グループで行なわれている。Goodmanらは、バッタやショウジョウバエの胚の神経で、特定の神経線維束にのみ発現するいくつかの細胞表面分子を同定している³⁰⁾。

5. おわりに

この小論では、神経線維がどのようにして適切な伸長路を見わけ、標的を識別するのかに焦点をあわせて述べた。もちろん、これらは神経回路形成のご

く初期過程での出来事であり、標的に達した神経線維は、どのようにして標的との間にシナプス結合を形成するのか、シナプス結合はどのようにして維持されるのか、シナプス結合の組み替えや、シナプス機能の変更はどのようにしておこるのかなど、多くの興味深い問題がある。これらの事柄については、他の解説書を参考にさせていただきたい。

Sperry が化学的親和性仮説を提出してから、20 年以上が経過したが、この間の神経発生生物学の発展は目ざましく、最初は単なる仮説にすぎなかった神経細胞間の親和性を、具体的な分子の言葉で語ることも可能になってきている。現在までに、N-CAM や L-1 など神経細胞の接着に関与している分子が知られているが、特定の神経回路の形成を規定することが、確実に証明されている分子は、明らかになっていない。近い将来、このような特異性の高い分子が、次々に発見されてくるものと思われる。さらに、このような分子が同定されれば、この分子をコードする遺伝子を分離することが可能となり、発生過程や再生過程で、この分子の発現がどのように調節されているのかを、明らかにすることもできるようになる。現在、我々は、視中枢に発現する 1C3 分子の精製を行っている。もし、我々の予測のように、1C3 分子が視中枢の標識分子であるならば、精製した 1C3 分子に対する血清抗体を発生途上の脳に投与することで、視覚神経回路の形成が阻害されることが期待される。いま、我々が手にしているモノクローン抗体 MAb-1C3 を脳に投与しても、視覚神経回路の形成は阻害されない。モノクローン抗体は単一のエピトープ（抗原決定基）しか認識しない。我々の MAb-1C3 は、標識分子の生理活性部位と異なった部分に対する抗体であるため、阻害効果を示さないと考えられる。

文 献

- 1) Ramón y Cajal, S. : Anat. Anz., 5, 609-613 (1890)
- 2) Harrison, R.G. : J. Exp. Zool., 9, 787-846 (1910)
- 3) Argiro, V., Bunge, M.B. & Johnson, M.I. : J. Neuroscience Res., 13, 149-162 (1985)
- 4) Rogers, S.L. & Letourneau, P.C., Palm, S.L., Ma-Carthy, J. & Pucht, L.T. : Develop. Biol., 98, 212-220 (1983)
- 5) Nakai, J. & Kawasaki, Y. : Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 51, 108-122 (1959)
- 6) Speidel, C.C. : Amer. J. Anat., 52, 1-79 (1935)
- 7) Sperry, R.W. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 50, 703-710 (1963)
- 8) Singer, M., Nordlander, R.H. & Egar, M. : J. Comp. Neurol., 185, 1-22 (1979)
- 9) Silver, J. & Sidman, S. : J. Comp. Neurol., 189, 101-111 (1980)
- 10) Bate, L.M. : Nature, 260, 54-55 (1976)
- 11) Bentley, D. & Keshishian, H. : Science, 218, 1082-1088 (1982)
- 12) Bentley, D. & Candy, M. : Nature, 304, 62-65 (1983)
- 13) Goodman, C.S. : Neuronal Development, pp. 171-212, Plenum Press (1982)
- 14) Roberts, A. & Patton, D.T. : J. Neuroscience Res., 13, 23-38 (1985)
- 15) Fujisawa, H., Watanabe, K., Tani, N. & Ibata, Y. : Brain Res., 206, 9-20 (1981)
- 16) Fujisawa, H., Watanabe, K., Tani, N. & Ibata, Y. : Brain Res., 206, 21-26 (1981)
- 17) Fujisawa, H., Thanos, S. & Schwarz, U. : Develop. Biol., 102, 356-367 (1984)
- 18) Fraser, S.E., Murray, B., Choung, C.M. & Edelman, G.M. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 4222-4226 (1984)
- 19) Fujisawa, H. : Brain Res., 206, 27-37 (1981)
- 20) Fujisawa, H. : Develop. Growth Differ., 23, 215-219 (1981)
- 21) Fujisawa, H., Tani, N., Watanabe, K. & Ibata, Y. : Develop. Biol., 90, 43-57 (1982)
- 22) Fujisawa, H. : Develop. Growth Differ., 26, 545-553 (1984)
- 23) Raper, J.A., Bastiani, M.J. & Goodman, C.S. : Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 48, 587-598 (1984)
- 24) Fujisawa, H. : New Discoveries and Technologies in Developmental Biology, Alan R. Liss INC (in press)
- 25) Fujisawa, H. : Prog. Brain Res. (in press)
- 26) Bonhoeffer, F. & Huf, J. : Nature, 288, 162-163 (1980)

- 27) Bonhoeffer, F. & Huf, J. : EMBO J. 1, 427-431 (1982)
- 28) Takagi, S., Tsuji, T., Amagai, T. & Fujisawa, H. : (投稿中)
- 29) Fujisawa, H. Ohtsuki, T., Tsuji, T. & Takagi, S. : (投稿中)
- 30) personal communication