

総 説

網膜視蓋投射系におけるトポグラフィックな 神経結合形成の分子機構

奈良県立医科大学・先端医学研究機構・生命システム医科学分野

高橋 弘雄, 坪井 昭夫

MOLECULAR MECHANISMS UNDERLYING THE FORMATION OF THE TOPOGRAPHIC RETINOTECTAL PROJECTION

HIROO TAKAHASHI and AKIO TUBOI

Department of Medical Science for Neural Systems, Research Institute for Frontier Medicine, Nara Medical University

Received August 20, 2007

Abstract: 特定領域の神経細胞集団が, 互いの二次元的な相対的位置関係を保った状態で標的領域の神経細胞集団と神経結合を形成するトポグラフィックな投射は, 神経回路網の形成における基本様式の一つである. トポグラフィックな投射の形成メカニズムについては, これまで網膜視蓋投射系を用いて盛んにその研究がなされてきた. 網膜においては発生の早い時期から, 様々な分子が前後軸および背腹軸に沿って領域特異的に発現し, 相互作用しながらその領域特異性を形作っている. この網膜内の領域特異化が基盤となり, 直接的に標的領域の識別に関わる軸索ガイダンス分子の発現が制御され, 視神経のトポグラフィックな投射が形成される. 本稿では, 網膜視蓋投射系の解析より得られた, トポグラフィックな投射形成のメカニズムに関する知見を概説する.

Key words: topographic projection, retinotectal projection, axon guidance, regional specification

はじめに

脊椎動物の脳は複雑な形態をしているが, その中では定まった領域同士が神経結合を形成している. その神経回路網の形成過程において, それぞれの神経結合はランダムに生じるのではなく, 神経細胞が正しい結合相手を探し出し, 特異的な結合を形成するという厳然とした規則性が存在している. このような神経回路網形成における基本様式の一つとなっているのが, ある領域の神経集団が, 二次元的な相対的位置関係を保った状態で標的領域の神経細胞集団と神経結合を形成するというトポグラフィックな(領域特異的な)投射である. トポグラフィックな投射は, 外界からの様々な情報を取り入れ, 高度な

情報処理を行うことによりその体外世界を体内部で再現する, 視覚系, 体性感覚系をはじめとする感覚系において広く認められる¹⁾. その規則正しい投射パターンが作り上げられる基本原理を解明することは, 今日まで神経発生学の主要命題であり続けている. 鳥類(特にニワトリ), 両生類などの下等脊椎動物の視覚系, すなわち眼の網膜から脳の一次視覚中枢(視蓋, マウスでは上丘に相当)への投射系は, この問題の追求に適した優れたモデル系として歴史的によく用いられており, 多くの形態学および発生学的な知見が集積されてきた.

網膜上に投影された視覚情報は, 視細胞により電気信号に変換され, 網膜内で処理された後, 視神経を通して脳内の視覚中枢へと伝達される. この際, 網膜上に投影

された像の情報は二次元的な形を保った状態で中枢へと伝達される。これを可能にしているのが網膜神経節細胞の視蓋へのトポグラフィックな神経投射である。網膜視蓋投射系においては、前側(鼻側)網膜神経節細胞が視蓋の後側に、後側(耳側)網膜神経節細胞が視蓋の前側に投射する。また、背側視神経は視蓋の腹側に、腹側視神経は視蓋の背側へと投射する。全体として、網膜神経節細胞は網膜内における互いの二次元的位置関係を保ったまま、視蓋へと投射することになる(図1)。

このような規則正しい神経結合はどのように形成されるのだろうか?本稿では、発生期における網膜神経節細胞のトポグラフィックな投射の形成過程について、ニワトリやマウスを用いた分子生物学的な解析より得られた最近の知見に焦点を当てて概説する。

I 網膜視蓋投射に関わる軸索ガイダンス分子

網膜視蓋投射系の古典的な研究の中でよく知られたものに、Sperry による両生類の視神経再生の実験がある²⁾。彼は今から約 50 年前にカエルなどを用いて一連の眼球移植実験を行った。まず、眼球を取り出してそのまま元に戻し視神経を再生させた場合、カエルは正常に視覚を回復した。一方、取り出した眼球を 180 度回転して移植した場合には、カエルの視神経は再生して視覚は回復したが、カエルはエサのハエを見てもそのハエとは逆の方向に動き続けた。このカエルの、あたかも上下、左右を

逆に認識しているかのような異常な行動は、再生時に視神経が元の投射場所を探し出して結合したために起きたものと理解された。すなわち網膜神経節細胞には 180 度逆転した位置に置かれても不変な identity があり、再生の際に本来の標的細胞集団とシナプスを形成するため、網膜に映った像が反転して中枢に伝えられていると考えられた。Sperry は、このような軸索投射を可能とする分子基盤として「個々の網膜神経節細胞と視蓋の細胞が独立の標識を提示しており、互いに認識しあえる標識をもつ神経細胞間において神経結合が形成される。」という化学親和性仮説(chemoaffinity hypothesis)を提唱した。網膜、視蓋共に二次元的な平面であることから、少なくとも前後軸と背腹軸の 2 軸に対応する位置が決まれば、網膜と視蓋の神経細胞は固有の位置情報を持ちうると考えられた。

その後 80 年代に入り、ニワトリの視蓋後側の細胞膜上に網膜後側由来の神経節細胞軸索を反発する因子が存在することが示され、これこそが Sperry の想定した標識分子の候補と考えられた^{3,4)}。さらに 1990 年代半ばになると、この視蓋上の軸索反発因子の実体として、受容体型チロシンキナーゼ Eph のリガンドである ephrin-A2 と ephrin-A5 が同定された^{5,6)}。現在、Eph と ephrin は共に A, B の 2 つのグループに分類され、例外はあるが、同じグループの Eph と ephrin 同士が結合することが明らかとなっている。ephrin-A2 と -A5 は共に視蓋前側で

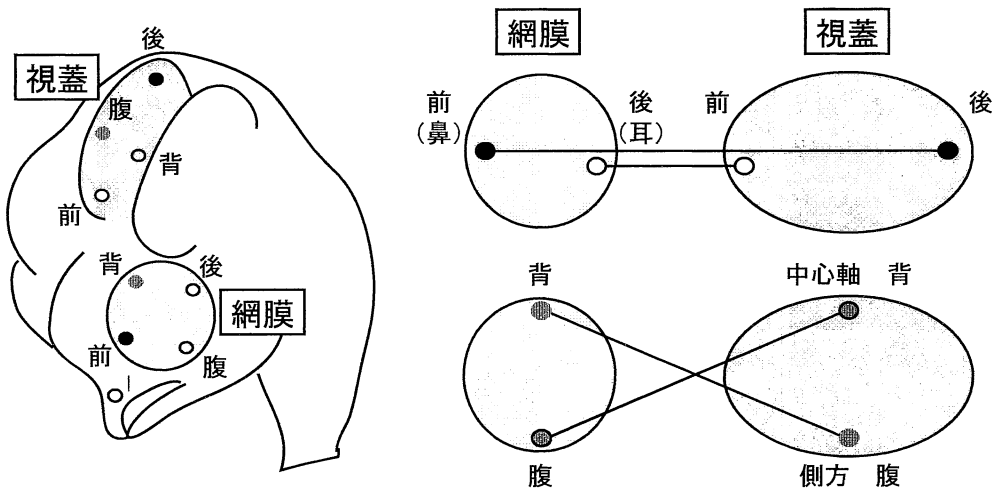


図1. 網膜から視蓋へのトポグラフィックな投射

網膜から出た視神経は、左右反対側の中脳視蓋野に二次元的相対的な位置関係を保った形式で神経結合を形成する。

低く、後側で高い発現勾配を示す。一方、網膜においてはそのレセプターである EphA3 が後側で高く前側で低い勾配を持って発現しており、EphA3 を高発現する網膜後側由来の神経節細胞軸索は、視蓋上で ephrin-A2 および ephrin-A5 の量の変化を感知しその反発作用を受けるため、軸索の伸張が抑制され、結果、視蓋前側へと投射すると考えられた(図2)。

ところがさらに研究が進むと、Eph-ephrin による網膜視蓋投射の制御は、より複雑であることが明らかとなってきた。網膜においては EphA3 以外にも EphA4~7 が発現しているが、これらは EphA3 と異なり、発現勾配を持たずに網膜内に一様に分布する^{7,8)}。一方、ephrin-A2、-A5 は視蓋のみならず網膜においても発現し、その前側で高く後側で低い分布を示す⁹⁻¹⁰⁾。これら網膜における ephrin の発現勾配により、網膜で一様な発現を示す EphA4~7 があらかじめ脱感作され、その活性としては EphA3 と同様の勾配を持つのではないかと考えられた(図2)。実際、ephrin-A2、-A5 を網膜全体で発現させると、本来 ephrin を発現していない網膜後側由来の神経節細胞軸索が、ephrin を発現している前側の神経節細胞軸索と同様、視蓋の後側に対する反応性を失うことから、EphA の反応性の制御・調節に網膜における ephrin の発現が重要であることが明らかとなった^{10,11)}。

一方、網膜の背腹軸方向の軸索投射は、EphB-ephrinB により制御される。網膜の背腹軸においては、網膜背側に ephrin-B1 と ephrin-B2 が発現し、腹側に EphB2 と EphB3 が発現している^{8,12)}。視蓋では ephrin-B1 が背側で強い発現を持って分布しており、EphB-ephrinB は誘引性の軸索ガイダンス因子として働いて、背腹軸方向の軸索投射を制御すると考えられている^{13,14)}。

このような Eph-ephrin による網膜神経節細胞軸索の投射制御は、カエルやニワトリなどの下等脊椎動物の網膜視蓋投射系のみならず、マウスの網膜上丘投射系においても、発現パターンの詳細や発現する Eph の種類に若干の違いはあれ、基本的には共通のメカニズムが用いられている¹⁵⁻¹⁸⁾。また、哺乳類の視覚系には網膜上丘投射系の他に網膜-外側膝状体(視床にある中継核)-大脳皮質投射系があり、主な視覚情報処理はこちらの方で行われているが、マウスの外側膝状体においても ephrin-A2 と ephrin-A5 は勾配状に発現しており、ephrin-A5 のノックアウトマウスではこちらの投射系でも異常が見られる¹⁶⁾。ヒトにおいても、Eph-ephrin は発生期網膜で勾配をもって発現することが報告されており¹⁹⁾、網膜神経節細胞軸索のトポグラフィックな投射制御において、Eph-ephrin は生物種を越えて中心的な働きをしているものと考えられている。

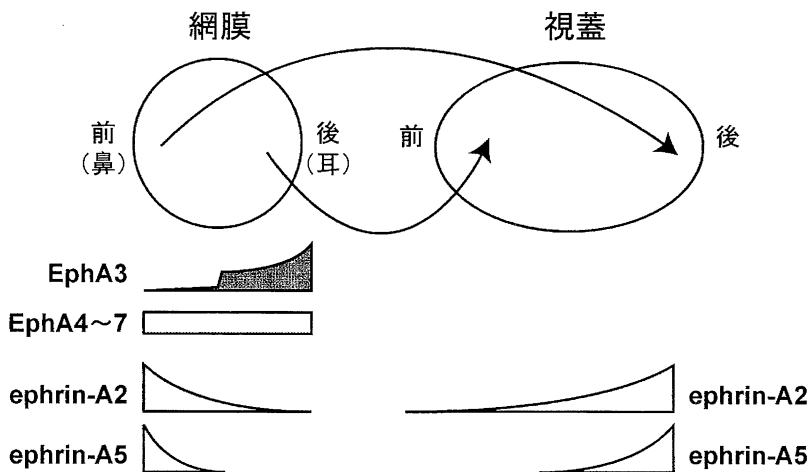


図2. 網膜における EphA-ephrinA の発現パターン

網膜後側の軸索ほど EphA3 受容体を多く発現しているため、視蓋の後方に多く発現する ephrin からより強い反発作用を受け、視蓋前方で伸長を停止する。EphA4~7 は網膜で均一に発現しているが、網膜内で勾配を持って発現する ephrin の結合によって活性としては EphA と同様の勾配をもっていると考えられる。したがって、これらの受容体も EphA3 と共に前後軸方向の領域識別に関与している。

Eph-ephrinに関する最近の知見としては、上丘で発現するEphA7がレセプターではなくリガンドとして、逆に網膜で発現するephrinがレセプターとして機能する(reverse signal)という興味深い報告もなされている²⁰。また、従来より前側網膜由来の軸索が視蓋の後側まで伸張する為には、反発性の軸索ガイダンス分子のみではなく、誘引性のガイダンス分子の必要性も提唱されてきたが、Eph-ephrinがその濃度変化によって軸索伸長促進、抑制の両面の活性を持つことも明らかとされた²¹。このように網膜神経節細胞の軸索上において、Ephが常に外界のephrin濃度の変化を的確に感知し、それに応じて軸索の走行を制御するためには、受容体型チロシンホスファターゼPtproによるEphの脱リン酸化が必須であることも報告されている²²。複雑なEph-ephrinによる軸索制御機構の全体像把握のためにも、今後のさらなる研究が期待される。

一方、網膜神経節細胞の軸索において機能する、Eph-ephrin以外の軸索ガイダンス分子も報告されている。ephrin-A2, ephrin-A5のダブルノックアウトマウスでは、網膜上丘投射に顕著な異常は見られるものの、完全にそのトポグラフィーが失われるわけではなく、正常に投射する軸索も多数存在することから¹⁷、以前よりEph-ephrin以外の軸索ガイダンス分子の存在は示唆されてきた。最近、反発性の軸索ガイダンス分子であるRGM(repulsive guidance molecule)が、ニワトリ視蓋やマウス上丘において、その前後軸方向においてephrin-A2やephrin-A5と同様の後側で強い濃度勾配を持って発現することが報告されており²³、そのレセプターであるNeogeninは網膜において後側で強い発現を示す²⁴。また、背腹軸方向の投射においては、視蓋でWnt3が、網膜でそのレセプターであるRykおよびFrizzledが発現し、EphB-ephrinBと共に軸索ガイダンスに関与することが報告されている²⁵。これらの分子も含め、多様なガイダンス分子の複雑な働きによって、網膜神経節細胞の精緻な投射地図が形成されるものと考えられる。

II 網膜における位置情報の決定機構

1. 網膜における位置情報の決定機構、その遺伝子カスケード

それでは、Eph-ephrinを中心とする軸索ガイダンス分子の網膜内における領域特異的な発現は、どのように生み出されるのだろうか？そもそも、網膜内の位置情報はいつ、どのような機構により決定されるのだろうか？これまでのニワトリやウズラを用いた発生運命の研究から、発生期の神経板において既に網膜への分化予定領域は存

在し、その予定領域内における神経板の前後軸が、後の網膜における前後(鼻耳)軸と一致することが知られている²⁶。脊椎動物の中樞神経系は最初1本の管(神経管)として形成され、Six3とIrx3, Pax6とPax2/En1, Otx2とGbx2といった転写因子同士の相互抑制作用により、その境界領域が規定され、前脳、中脳、後脳といった脳内の各コンパートメントが形成される。さらに、神経管前部(anterior neural ridge)から分泌されるFgf8とSix3の働きにより、終脳および眼胞の前部(後の網膜鼻側)においてForkhead型の転写因子であるFoxG1の発現が誘導される^{27, 28}。一方、間脳および眼胞の後部(後の網膜耳側)においては同じくForkhead型転写因子FoxD1が発現し、これら2つの転写因子は相互にその発現を抑制することが知られている²⁹⁻³²。ニワトリ網膜におけるFoxG1およびFoxD1の異所的発現実験において、網膜神経節細胞の前後軸方向の投射に異常が見られることから、これら2つのForkhead型転写因子は、それぞれ網膜の前側および後側の位置情報を制御していることが明らかとなった³³。さらにFoxG1の下流では、ホメオボックス型転写因子SOHo-1およびGH6が、共に網膜前側で領域特異的に発現する³²。これら2つの転写因子は、網膜前側におけるEphA3の発現を抑制し、結果的に後側で強いEphの発現勾配が形成される³⁴。また、FoxG1はephrin-A2およびephrin-A5についても、その網膜前側における発現を誘導する³²。FoxG1の異所的発現により、前後軸方向で領域特異的に発現する全ての分子の発現が変化することから、FoxG1は網膜の前側を規定するマスター遺伝子として働いていると考えられている(図3)。一方、背腹軸方向の領域特異性の決定には、BMPシグナルが中心的な働きを示す。ニワトリを用いた眼胞の移植実験より、網膜の背腹軸は、眼胞形成前後の時期に決定されることが考えられている。この頃には、背側でTGF- β ファミリーに属する分泌因子BMP4が、腹側にその抑制因子であるVentroptinが相補的に発現して、それぞれの領域の特異性を誘導する³⁵。続いてこれら分泌因子の働きにより、転写因子であるTbx5とcVaxがそれぞれ背側、腹側に発現を開始し、領域特異化が完成すると考えられる^{36, 37}。さらにその遺伝子カスケードの下流で、直接的に標的領域の識別に関わるephrin-Bあるいはその受容体であるEphBが発現を開始することになる(図3)。

2. 網膜の両軸方向に沿って発現勾配を示す分子

Sperry以来、これまで網膜内の領域特異化ならびに領域特異的視神経投射にかかわる分子は、網膜において直交する2つの軸方向のいずれかに領域特異的あるいは勾配

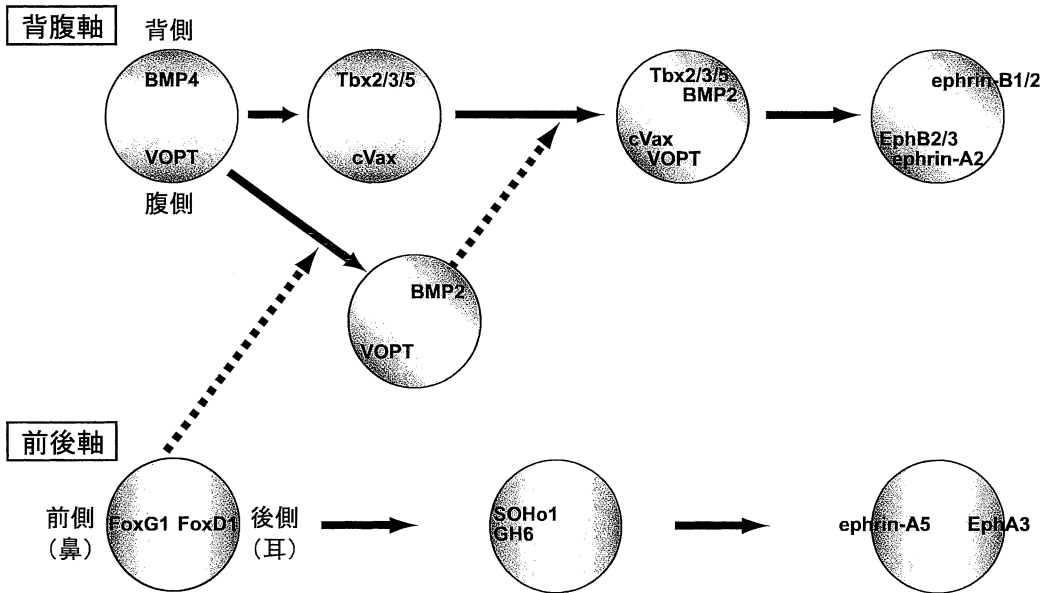


図3. 網膜における領域特異化の遺伝子カスケード

発生段階は左から右へと進む。Ventroptin(VOPT)はまず背腹軸方向に勾配をなしてBMP4と拮抗するが、次に両軸に勾配をなしてBMP2と拮抗する。VOPTとBMP2が勾配をもって発現することにより、BMPシグナルにより規定された背腹軸全体が勾配を形成する。一方、前後軸方向の領域特異化は、FoxG1およびFoxD1により制御される。

を持って発現するものと考えられてきた。ところが近年、2つの軸方向の両方に対して勾配をもつ分子の存在が明らかになった。前述の Ventroptin はニワトリ網膜において発生5日目(視神経が視蓋へと伸長中の時期)まで、腹側特異的な発現を示すが、背側のBMP4の発現が低下するに従って、腹側に加えて網膜前側領域でも発現が高い、二重の勾配を示すようになる³⁹⁾。またそれとともに、BMP4に代わりBMP2が背・後側領域に発現し始める³⁹⁾。VentroptinはBMP4のみならずBMP2の抑制因子としても働き、両者は相補的な発現パターンを示す(図3)。Ventroptinを網膜内において異所的に発現させると、視神経の投射は前後・背腹の両軸方向に影響を受けることから、この二重勾配分布は投射地図形成に意味を持つものであることがわかる³⁹⁾。さらに最近になって、BMPシグナルによりその発現が制御される背腹軸方向に差のある分子すべての発現が、このBMP4からBMP2への発現のスイッチングとともに、BMP2やVentroptinと同様の二重の勾配を持って発現することが明らかとなった³⁹⁾。すなわち、発生初期には直行していた前後、背腹の2つの軸の内、背腹軸を制御するBMPシグナルが傾くのに伴い、背腹軸全体が後(耳)側へと傾く。またこれと

同時に、前後軸でのみ勾配を持つと考えられてきた ephrin-A2 の発現も、BMP2による抑制的な制御を受けて背腹軸方向へと傾き、二重の勾配を持って発現することが明らかとなった。このような発現パターンの変化は、前後軸方向に勾配を持って発現する軸索ガイダンス分子の中でも、EphA3や ephrin-A5 ではなく、ephrin-A2 の発現が背腹軸方向に傾いた後も、網膜内の前後軸自身は従来どおり厳然として存在するものと考えられる³⁹⁾。BMP2の発現が傾く原因についてその詳細は不明であるが、前述の網膜前側を決定する転写因子 FoxG1 は、DNA 結合非依存的に BMP シグナルを抑制することが知られており³⁹⁾、結果的に FoxG1 の発現していない網膜後側へと BMP2 の発現が傾くのではないかと考えられている。これら二重勾配を持つ分子の存在は、二次元的投射が従来考えられていたように前後・背腹それぞれの軸方向について完全に独立して決定されるのではなく、両軸について協調的に進む現象であることを示唆している(図3)。

おわりに

以上、網膜視蓋投射系で得られた知見を概説してきたが、

これらの機構は神経系で広く認められる投射地図の形成過程を理解する上で、どこまで普遍性を有するのであろうか？ Eph-ephrin については、海馬中隔投射系においても、その領域特異的な投射パターン成立への関与が示唆されており³⁹⁾、トポグラフィックな投射に限らず、多くの神経回路形成過程において、主要な軸索ガイダンス分子の1つとして機能することが知られている。正しい標的の神経細胞にたどり着いて神経結合をつくるという過程は、投射地図形成のみならず、神経系のいろいろな場所で少しずつ形は違うにせよやはり共通のメカニズムによっていると思われるが、現在までのところ各論の域を出ておらず、その統一的理解のためにも今後のさらなる研究の進展が望まれる。

著者は現在、網膜視蓋投射経路と並び、神経回路形成のモデル系として知られる一次嗅覚神経経路の回路形成機構について研究を行っている。一次嗅覚神経経路において、嗅神経細胞は1,000種類にも及ぶ嗅覚受容体の中から1種類のみを選択して発現し、同じ種類の受容体を選択した嗅神経細胞は、嗅球上の同一糸球へと特異的に軸索投射する。嗅神経細胞の軸索投射においても、その背腹軸方向においては、嗅上皮における嗅細胞の位置と、嗅球における投射先の糸球の位置とが対応することが知られている。BMP や FoxG1 をはじめとし網膜でその領域特異化に関わる主要分子には、発生期の嗅上皮においても発現するものが多く、軸索ガイダンスのみならず、それに先立つ神経細胞の位置情報の決定機構も含めて、神経回路形成における普遍的メカニズムを考察する上で極めて興味深い。発生期の神経回路網の形成機構についてその基本原理を理解することは、神経回路の再生等の再生医療の基礎となる知見を得る意味でも非常に重要なテーマであり、今後この分野の研究のさらなる進展が期待される。

文 献

- 1) Udin, S.B. and Fawcett, J.W. : Formation of topographic maps. *Annu. Rev. Neurosci.* **11** : 289-327, 1988.
- 2) Sperry, R.W.. : Chemoaffinity in the orderly growth of nerve fiber patterns and connections. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **50** : 703-10, 1963.
- 3) Walter, J., Henke-Fahle, S. and Bonhoeffer, F. : Avoidance of posterior tectal membranes by temporal retinal axons. *Development* **101** : 909-13, 1987.
- 4) Walter, J., Kern-Veits, B., Huf, J., Stolze, B. and Bonhoeffer, F. : Recognition of position-specific properties of tectal cell membranes by retinal axons in vitro. *Development* **101** : 685-96, 1987.
- 5) Cheng, H.J., Nakamoto, M., Bergemann, A.D. and Flanagan, J.G. : Complementary gradients in expression and binding of ELF-1 and Mek4 in development of the topographic retinotectal projection map. *Cell* **82** : 371-81, 1995.
- 6) Drescher, U., Kremoser, C., Handwerker, C., Loschinger, J., Noda, M. and Bonhoeffer, F. : In vitro guidance of retinal ganglion cell axons by RAGS, a 25 kDa tectal protein related to ligands for Eph receptor tyrosine kinases. *Cell* **82** : 359-70, 1995.
- 7) Monschau, B., Kremoser, C., Ohta, K., Tanaka, H., Kaneko, T., Yamada, T., Handwerker, C., Hornberger, M.R., Lösinger, J., Pasquale, E.B., Siever, D.A., Verderame, M.F., Müller, B.K., Bonhoeffer, F. and Drescher, U. : Shared and distinct functions of RAGS and ELF-1 in guiding retinal axons. *EMBO J.* **16** : 1258-67, 1997.
- 8) Connor, R.J., Menzel, P. and Pasquale, E.B. : Expression and tyrosine phosphorylation of Eph receptors suggest multiple mechanisms in patterning of the visual system. *Dev. Biol.* **193** : 21-35, 1998.
- 9) Marcus, R.C., Gale, N.W., Morrison, M.E., Mason, C.A. and Yancopoulos, G.D. : Eph family receptors and their ligands distribute in opposing gradients in the developing mouse retina. *Dev. Biol.* **180** : 786-9, 1996.
- 10) Hornberger, M.R., Dutting, D., Ciossek, T., Yamada, T., Handwerker, C., Lang, S., Weth, F., Huf, J., Wessel, R., Logan, C., Tanaka, H. and Drescher, U. : Modulation of EphA receptor function by coexpressed ephrinA ligands on retinal ganglion cell axons. *Neuron* **22** : 731-42, 1999.
- 11) Dutting, D., Handwerker, C. and Drescher, U. : Topographic targeting and pathfinding errors of retinal axons following overexpression of ephrinA ligands on retinal ganglion cell axons. *Dev. Biol.* **216** : 297-311, 1999.

- 12) **Holash, J.A. and Pasquale, E.B.** : Polarized expression of the receptor protein tyrosine kinase Cdk5 in the developing avian visual system. *Dev Biol.* **172** : 683–93, 1995.
- 13) **Hindges, R., McLaughlin, T., Genoud, N., Henkemeyer, M. and O'Leary, D.D.** : EphB forward signaling controls directional branch extension and arborization required for dorsal-ventral retinotopic mapping. *Neuron* **35** : 475–87, 2002.
- 14) **Mann, F., Ray, S., Harris, W. and Holt, C.** : Topographic mapping in dorsoventral axis of the *Xenopus* retinotectal system depends on signaling through ephrin-B ligands. *Neuron* **35** : 461–73, 2002.
- 15) **Frisen, J., Yates, P.A., McLaughlin, T., Friedman, G.C., O'Leary, D.D. and Barbacid, M.** : Ephrin-A5 (AL-1/RAGS) is essential for proper retinal axon guidance and topographic mapping in the mammalian visual system. *Neuron* **20** : 235–43, 1998.
- 16) **Feldheim, D.A., Vanderhaeghen, P., Hansen, M.J., Frisén, J., Lu, Q., Barbacid, M. and Flanagan, J.G.** : Topographic guidance labels in a sensory projection to the forebrain. *Neuron* **21** : 1303–13, 1998.
- 17) **Feldheim, D.A., Kim, Y.I., Bergemann, A.D., Frisen, J., Barbacid, M. and Flanagan, J.G.** : Genetic analysis of ephrin-A2 and ephrin-A5 shows their requirement in multiple aspects of retinocollicular mapping. *Neuron* **25** : 563–74, 2000.
- 18) **Feldheim, D.A., Nakamoto, M., Osterfield, M., Gale, N.W., DeChiara, T.M., Rohatgi, R., Yancopoulos, G.D. and Flanagan, J.G.** : Loss-of-function analysis of EphA receptors in retinotectal mapping. *J. Neurosci.* **24** : 2542–50, 2004.
- 19) **Lambot, M.A., Depasse, F., Noel, J.C. and Vanderhaeghen, P.** : Mapping labels in the human developing visual system and the evolution of binocular vision. *J. Neurosci.* **25** : 7232–7, 2005.
- 20) **Rashid, T., Upton, A.L., Blentic, A., Ciosek, T., Knoll, B., Thompson, I.D. and Drescher, U.** : Opposing gradients of ephrin-As and EphA7 in the superior colliculus are essential for topographic mapping in the mammalian visual system. *Neuron* **47** : 57–69, 2005.
- 21) **Hansen, M.J., Dallal, G.E. and Flanagan, J.G.** : Retinal axon response to ephrin-as shows a graded, concentration-dependent transition from growth promotion to inhibition. *Neuron* **42** : 717–30, 2004.
- 22) **Shintani, T., Ihara, M., Sakuta, H., Takahashi, H., Watakabe, I. and Noda, M.** : Eph receptors are negatively controlled by protein tyrosine phosphatase receptor type O. *Nat. Neurosci.* **9** : 761–9, 2006.
- 23) **Monnier, P.P., Sierra, A., Macchi, P., Deitinghoff, L., Andersen, J.S., Mann, M., Flad, M., Hornberger, M.R., Stahl, B., Bonhoeffer, F. and Mueller, B.K.** : RGM is a repulsive guidance molecule for retinal axons. *Nature* **26** : 392–5, 2002.
- 24) **Rajagopalan, S., Deitinghoff, L., Davis, D., Conrad, S., Skutella, T., Chedotal, A., Mueller, B.K. and Strittmatter, S.M.** : Neogenin mediates the action of repulsive guidance molecule. *Nat. Cell Biol.* **6** : 756–62, 2004.
- 25) **Schmitt, A.M., Shi, J., Wolf, A.M., Lu, C.C., King, L.A. and Zou, Y.** : Wnt-Ryk signalling mediates medial-lateral retinotectal topographic mapping. *Nature* **439** : 31–7, 2006.
- 26) **Cobos, I., Shimamura, K., Rubenstein, J.L., Martínez, S. and Puelles, L.** : Fate map of the avian anterior forebrain at the four-somite stage, based on the analysis of quail-chick chimeras. *Dev. Biol.* **239** : 46–67, 2001.
- 27) **Kobayashi, D., Kobayashi, M., Matsumoto, K., Ogura, T., Nakafuku, M. and Shimamura, K.** : Early subdivisions in the neural plate define distinct competence for inductive signals. *Development* **129** : 83–93, 2002.
- 28) **Picker, A. and Brand, M.** : Fgf signals from a novel signaling center determine axial patterning of the prospective neural retina. *Development* **132** : 4951–62, 2005.
- 29) **Hatini, V., Tao, W. and Lai, E.** : Expression of winged helix genes, BF-1 and BF-2, define adjacent domains within the developing forebrain

- and retina. *J. Neurobiol.* **25** : 1293-309, 1994.
- 30) Gomez-Skarmeta, J.L., de la Calle-Mustienes, E., Modolell, J. and Mayor, R. : *Xenopus* brain factor-2 controls mesoderm, forebrain and neural crest development. *Mech. Dev.* **80** : 15-27, 1999.
- 31) Herrera, E., Marcus, R., Li, S., Williams, S.E., Erskine, L., Lai, E. and Mason, C. : *Foxd1* is required for proper formation of the optic chiasm. *Development* **131** : 5727-39, 2004.
- 32) Takahashi, H., Shintani, T., Sakuta, H. and Noda, M. : *CBF1* controls the retinotectal topographical map along the anteroposterior axis through multiple mechanisms. *Development* **130** : 5203-15, 2003.
- 33) Yuasa, J., Hirano, S., Yamagata, M. and Noda, M. : Visual projection map specified by topographic expression of transcription factors in the retina. *Nature* **382** : 632-5, 1996.
- 34) Schulte, D. and Cepko, C.L. : Two homeobox genes define the domain of *EphA3* expression in the developing chick retina. *Development*. **127** : 5033-45, 2000.
- 35) Sakuta, H., Suzuki, R., Takahashi, H., Kato, A., Shintani, T., Iemura, Si., Yamamoto, T.S., Ueno, N. and Noda, M. : *Ventropin*: a BMP-4 antagonist expressed in a double-gradient pattern in the retina. *Science* **293** : 111-5, 2001.
- 36) Koshiba-Takeuchi, K., Takeuchi, J.K., Matsumoto, K., Momose, T., Uno, K., Hoepker, V., Ogura, K., Takahashi, N., Nakamura, H., Yasuda, K. and Ogura, T. : *Tbx5* and the retinotectum projection. *Science* **287** : 134-7, 2000.
- 37) Schulte, D., Furukawa, T., Peters, M.A., Kozak, C.A., and Cepko, C.L. : Misexpression of the *Emx*-related homeobox genes *cVax* and *mVax2* ventralizes the retina and perturbs the retinotectal map. *Neuron* **24** : 541-53, 1999.
- 38) Sakuta, H., Takahashi, H., Shintani, T., Etani, K., Aoshima, A. and Noda, M. : Role of bone morphogenic protein 2 in retinal patterning and retinotectal projection. *J. Neurosci.* **26** : 10868-78, 2006.
- 39) Zhang, J.H., Cerretti, D.P., Yu, T., Flanagan, J.G. and Zhou, R. : Detection of ligands in regions anatomically connected to neurons expressing the *Eph* receptor *Bsk*: potential roles in neuron-target interaction. *J. Neurosci.* **16** : 7182-92, 1996.