

# 転写調節因子による嗅覚神経回路の形成機構

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

吉原 誠一, 坪井 昭夫

## MECHANISM OF OLFATORY NEURAL CIRCUIT FORMATION REGULATED BY TRANSCRIPTION FACTORS

SEIICHI YOSHIHARA and AKIO TSUBOI

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

Received June 15, 2007

**Abstract:** 一次嗅覚神経系は匂い分子を受容する嗅細胞とその情報の伝達先である嗅球内のニューロンが非常に精密な神経回路網を形成することで成立しており, 脳内の複雑な神経回路形成のメカニズムを解明するための極めて有効なモデルとなる. また, 嗅細胞及び嗅球介在ニューロンは胎生期のみならず成体期においても常に産生され続けることから, 再生医療の観点からも嗅覚系は注目されてきている. 近年おもにノックアウトマウスの解析から, 一次嗅覚神経回路形成過程において様々な転写調節因子が遺伝子カスケードを作りながら, 嗅細胞及び嗅球ニューロンの増殖・分化を調節していることがわかってきた. また, *Arx* 及び *Fez* という二つの転写調節因子のノックアウトマウスの解析により, 嗅細胞の軸索投射と嗅球の形態形成が互いに密接に影響を及ぼしながら, 相互依存的に発達することが明らかになった.

**Key words:** olfactory sensory neuron, olfactory bulb, neural circuit formation, transcription factor, knockout mouse

### はじめに

物体から発せられる匂い分子は鼻腔の奥に存在する嗅上皮に並ぶ嗅細胞で受容され, その情報は嗅細胞の軸索(嗅神経)を介して嗅球のニューロンへと伝達される. 分子生物学的, 発生工学的さらには電気生理学的手法を用いた実験から, 嗅上皮から嗅球へと至る一次嗅覚神経回路には, 整然としたかつ精密な配線様式が存在することが明らかになってきた<sup>1,2)</sup>. また, 嗅細胞及び嗅球の抑制性介在ニューロンは胎生期のみならず成体期においても常に産生され続け新たな神経回路を形成することが明らかになっている. これらのことから嗅覚神経回路は基礎医学だけでなく再生医療の観点からも極めて興味深い系であるといえる.

本稿ではこの一次嗅覚神経回路の形成機構についてのこれまでの知見を転写調節因子に焦点を当てて述べる. また筆者らの *Arx* 遺伝子及び *Fez* 遺伝子に関するデー

タを紹介する.

#### 1. 嗅覚神経系の発達に必要な転写調節因子群

一次嗅覚神経回路は主に三つのタイプのニューロンから構成されている: ①嗅上皮に存在して匂い分子を受容する嗅細胞(一次ニューロン), ②嗅球で嗅細胞からの情報を受け取り, さらに高次の中枢である嗅皮質へと伝える二次ニューロン(僧帽細胞と房飾細胞), ③嗅球内で匂い情報の修飾(プロセッシング)を行う抑制性介在ニューロン(傍系球細胞と顆粒細胞). これらのニューロンが適切な時期に適切な場所で, 産生・移動・分化・シナプス形成を行うことにより機能的な一次嗅覚神経回路が構築されている(図1).

以下に一次嗅覚神経回路の発達に関与する転写調節因子について, これまでに報告された知見を簡潔にまとめて紹介する(図2).

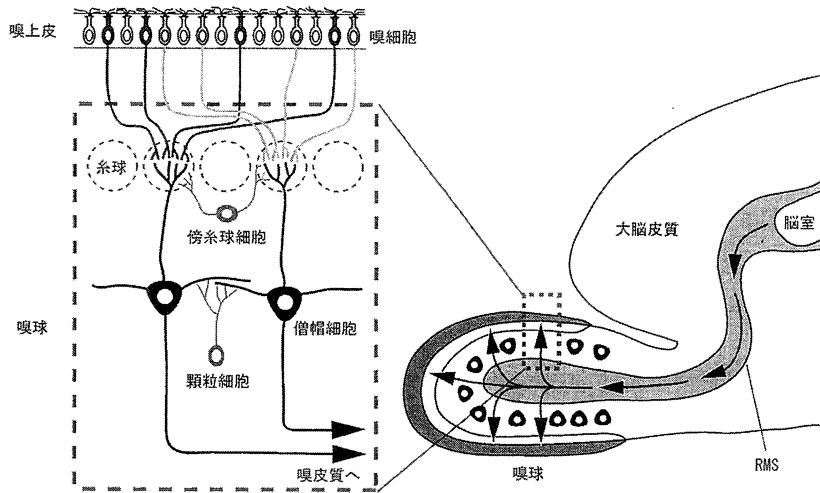


図1. マウス一次嗅覚神経回路の模式図  
匂い分子は嗅上皮にある嗅細胞で受容される。嗅細胞は軸索を嗅球の糸球と呼ばれる構造体に投射しており、この軸索を介して匂い情報を嗅球へと伝える。嗅球内においては異なる種類の神経細胞ごとに明瞭な層構造を形成している。嗅球二次ニューロンである僧帽細胞と房飾細胞は嗅細胞から受け取った匂い情報を嗅皮質へと伝える。嗅球内の抑制性介在ニューロンである傍糸球細胞と顆粒細胞は胎生期のみならず成体期においても絶えず大脳の脳室周囲で産生され続け、rostral migratory stream (RMS) 内を移動して嗅球へと到達し、新たな神経回路を形成する。

1.1 嗅細胞の発達に関する転写調節因子

嗅細胞は嗅上皮の基底細胞層に存在する前駆細胞が表層側へと移動しながら分化し産生される<sup>3)</sup>。また、嗅細胞は成体期においても絶えず再生を繰り返している。前駆細胞から嗅細胞への分化には3種類のbHLH型転写調節因子(Mash1, Neurogenin1, NeuroD)それぞれが異なった分化段階に発現することが必要である<sup>4)</sup>。

さらにMash1の下流に位置すると考えられるLIMホメオドメイン型転写調節因子Lhx2遺伝子が匂い分子受容体遺伝子の発現を直接に制御していることが報告され<sup>5,6)</sup>、嗅細胞の運命決定におけるLhx2遺伝子の重要な役割が明らかになった。

これらの他にO/E2, O/E3, OAZといった転写調節因子が嗅細胞の分化・軸索投射に必要なことが報告されている<sup>7,8)</sup>。O/E2・O/E3とOAZは相互作用することが知られているが<sup>8)</sup>、これら3つの転写因子とMash1カスケードとの関係は現在のところ不明である。ここで述べたもの以外にも多数の転写調節因子が嗅細胞で発現していることが知られており、嗅細胞内で多数の転写調節因子が複雑な遺伝子ネットワークを作って嗅細胞の分化を制御していることが推測される。

1.2 嗅球二次ニューロンの発達に関する転写調節因子

嗅球二次ニューロンである僧帽細胞と房飾細胞の前駆細胞は胎生期終脳の脳室周囲において産生され、終脳最前端部の予定嗅球領域へと移動しながら、成熟した神経細胞へと分化する。この前駆細胞の予定嗅球領域への移動に関する転写調節因子としてpairedタイプホメオボックス型転写調節因子であるPax6<sup>9,10)</sup>とGLI-Kruppel型転写調節因子であるGli3<sup>11,12)</sup>が報告されている。これら二つの遺伝子の自然発生ミュータントマウスでは嗅球二次ニューロンが終脳内部に停留しており、突出した嗅球を形成できない。このことから嗅球の形成には、まず二次ニューロンが予定嗅球領域へ正常に移動することが重要であると考えられる。

嗅球二次ニューロンの分化に関する転写調節因子として、2つのT-box型転写調節因子(Tbr1<sup>13)</sup>, Tbx21<sup>14)</sup>が報告されている。Tbr1遺伝子のノックアウトマウスでは嗅球二次ニューロンが完全に欠失している<sup>13)</sup>。Tbr1遺伝子の下流にはTbx21遺伝子が存在している<sup>14)</sup>。Tbx21遺伝子の機能については現在のところ明らかになっていないが、その発現が脳内では嗅球二次ニューロンのみに限

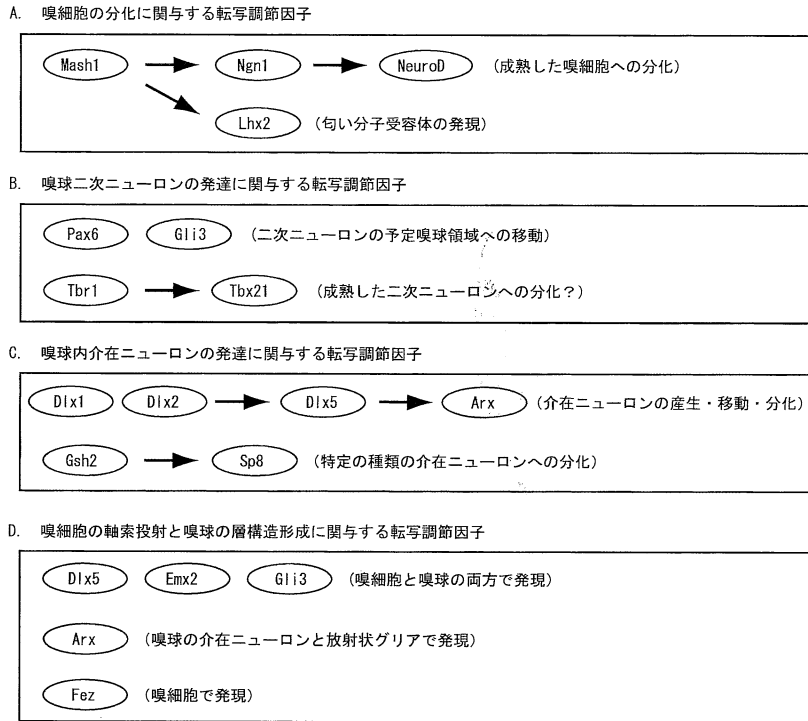


図2. 嗅覚神経系の発達に必要な転写調節因子群  
 嗅覚神経系の発達に必要なことが明らかになった転写調節因子をまとめた。遺伝子カスケードの関連がわかっているものについては矢印で示した。嗅細胞ではbHLH型転写調節因子のカスケード、嗅球二次ニューロンではT-box型転写調節因子のカスケード、嗅球内介在ニューロンではホメオボックス型転写調節因子のカスケードと異なる種類のニューロンでは異なる種類の転写調節因子のカスケードが存在している。

局していることから、嗅球二次ニューロンの分化あるいは維持に Tbx21 遺伝子が関与している可能性が考えられる。

### 1.3 嗅球内抑制性介在ニューロンの発達に関する転写調節因子

嗅球内抑制性介在ニューロンである傍糸球細胞と顆粒細胞は脳室周囲に存在する脳室下帯(subventricular zone)で産生され、rostral migratory stream (RMS) を通って嗅球へと移動し、成熟した神経細胞に分化する<sup>15)</sup>(図1)。この嗅球内介在ニューロンの産生・移動・分化は胎生期のみならず成体時においても常に起きている。これにより、新たな嗅球内神経回路を形成することができる。

嗅球内介在ニューロンの産生に重要な役割を持つ転写調節因子としてホメオボックス型転写調節因子である

Dlx1 及び Dlx2 が報告されている<sup>13,16)</sup>。Dlx1/Dlx2 ダブルノックアウトマウスでは嗅球内介在ニューロンが完全に欠失している。ホメオボックス型転写調節因子である Dlx5 遺伝子<sup>17,18)</sup>と後述する Arx 遺伝子<sup>19,20)</sup>は Dlx1 及び Dlx2 遺伝子の下流に位置し、嗅球内介在ニューロンの産生・移動に関与している。

Dlx5 遺伝子と Arx 遺伝子のノックアウトマウスにおいて嗅球内介在ニューロンの一部は正常に分化していることから、嗅球内介在ニューロンの分化を制御する別の転写調節因子カスケードが存在していると考えられていた。そのような分化を司る転写調節因子としてホメオボックス型転写調節因子である Gsh2 遺伝子<sup>21)</sup>と Zn フィンガー型転写調節因子である Sp8 遺伝子<sup>22)</sup>が同定された。各遺伝子のノックアウトマウスの解析から Gsh2 遺伝子は GABA 作動性及びドーパミン作動性の嗅球内介在ニ

ニューロンの分化に、Sp8 遺伝子は GABA 作動性介在ニューロンおよびカルシウム結合タンパク質であるカルレチニン陽性の嗅球内介在ニューロンの分化に必要であることが明らかになった。Gsh2 遺伝子の下流に Sp8 遺伝子が存在しているが<sup>20</sup>、これら 2 つの遺伝子と Dlx, Arx 遺伝子カスケードとの関連は現在のところ不明である。

各種マーカーを用いた免疫組織化学の結果から明らかに、嗅球内介在ニューロンは均一なものではなく、多数の種類ニューロンから構成されている<sup>21</sup>。このような嗅球内介在ニューロンの多様性を産み出すために、多数の転写調節因子が複数の遺伝子カスケードを形成し、それぞれが独自の機能をもって作用しているのではないかと考えられる。

#### 1.4 嗅細胞の軸索投射と嗅球の層形成を制御する転写調節因子

嗅細胞はその軸索を嗅球内にある糸球と呼ばれる構造体に投射しており(図1)、この軸索を介して匂いの情報が嗅球へと伝わるのが可能となる。これまでにホメオボックス転写調節因子である Emx2<sup>24</sup> 遺伝子と Dlx5<sup>17,18</sup>, Gli3<sup>11,12</sup> 遺伝子が嗅細胞の軸索投射に必要であることが報告されている。各遺伝子のノックアウトマウスにおいて、すべての嗅細胞はそれらの軸索を嗅球へと投射することができず、嗅球の手前に軸索とグリア細胞からなる糸玉状の嗅線維・細胞性塊 (fibrocellular mass / FCM) と呼ばれる異常な構造体を形成する<sup>12</sup>。またこれらのノックアウトマウスにおいては、嗅細胞の軸索投射のみならず嗅球の層形成にも異常が見られる。このことから、嗅細胞の軸索投射と嗅球の層形成は密接に関連していると考えられる。しかしながら、これら三種類の遺伝子は嗅細胞と嗅球の両方に発現しているため、ノックアウトマウスにおいて嗅細胞の軸索投射異常と嗅球の発達異常の両方が同時に起きていと推測され、解析結果の解釈が困難であった。

一方、筆者らが報告した Arx 遺伝子<sup>19</sup> 及び Fez 遺伝子<sup>25</sup> のノックアウトマウスの解析では、嗅細胞の異常と嗅球の異常をそれぞれ分けて考えることができ、一次嗅覚神経回路の形成機構において興味深い新たな知見が得られた。以下にそれぞれのノックアウトマウスの解析結果について述べる。

#### 2. ホメオボックス型転写調節因子 Arx による嗅球の層形成及び嗅細胞の軸索投射の制御

ホメオボックス型転写調節因子である Arx 遺伝子はヒトの X 連鎖型滑脳症および精神発達遅滞の原因遺伝子

として同定された<sup>26</sup>。北村らは Arx 遺伝子のノックアウトマウスを作製、解析を行ったところ、大脳皮質の介在ニューロンの移動に異常を観察した。この移動の異常が滑脳症および精神発達遅滞の原因であると考えられている。また Arx 遺伝子ノックアウトマウスの嗅球は野生型に比べて著しく小さいことが報告されていた<sup>27</sup>(図3)。筆者らはこのノックアウトマウスの一次嗅覚神経回路を詳細に解析し、以下の表現型を見いだした。Arx 遺伝子ノックアウトマウスでは、嗅球内介在ニューロンが RMS から嗅球へと進入できないために嗅球の体積が小さく、それに伴い嗅球の層構造形成が異常となる。さらにドーパミン作動性の嗅球内介在ニューロンが欠失している。またこのマウスでは大部分の嗅細胞がその軸索を嗅球へと投射できずに嗅球の前方で FCM を形成する<sup>19</sup>(図4)。Arx 遺伝子は嗅球内介在ニューロンと放射状グリアに発現しており、嗅細胞には発現していない。このことからノックアウトマウスで見られる嗅細胞軸索投射の異常は嗅球の発達異常が原因となる二次的な表現型であると考えられる。

それでは嗅球において嗅細胞の軸索投射を制御しているのは嗅球内のどのような種類の細胞であろうか？嗅球二次ニューロンが欠失している Tbr1 ノックアウトマウスあるいは嗅球内介在ニューロンが欠失している Dlx1/Dlx2 ダブルノックアウトマウスにおいて、嗅細胞の軸索は嗅球へと到達できることから、嗅球二次ニューロン(僧帽細胞、房飾細胞)、嗅球内介在ニューロン(傍糸球細胞、顆粒細胞)以外の細胞が嗅細胞の軸索投射を制御していると考えられる<sup>19</sup>。この知見と、Arx 遺伝子が嗅球の介在ニューロンと放射状グリアのみに発現していることを考え合わせると、嗅球内の放射状グリアが嗅細胞の軸索投射を制御しているという仮説が浮かび上がる(図4)。

#### 3. Zn フィンガー型転写調節因子 Fez による嗅細胞の軸索投射の制御

Fez 遺伝子は Zn フィンガー型転写調節因子であり、一次嗅覚神経回路においては末梢の嗅細胞のみにその発現が見られる。Fez 遺伝子ノックアウトマウスでは全ての嗅細胞がそれらの軸索を嗅球へと到達できずに FCM を形成する。さらに、このマウスの嗅球は小さく、また嗅球内介在ニューロンの移動と嗅球の層構造にも異常が見られ、Arx ノックアウトマウスと非常によく似た表現型を示す<sup>25</sup>(図4)。

Fez 遺伝子は嗅球に発現していないことから、Fez ノックアウトマウスで見られる嗅球の異常は嗅細胞の軸索投

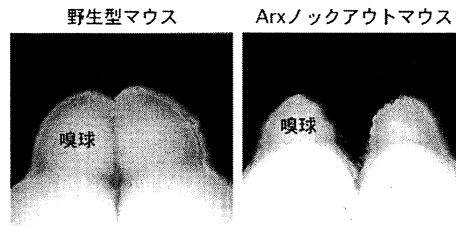


図3. 生後直後における野生型及び Arx ノックアウトマウスの嗅球の形態  
生後0日目の野生型及び Arx ノックアウトマウスの終脳を背側から見た写真. 野生型に比して Arx ノックアウトマウスでは嗅球が小さく, 左右の嗅球が離れている.

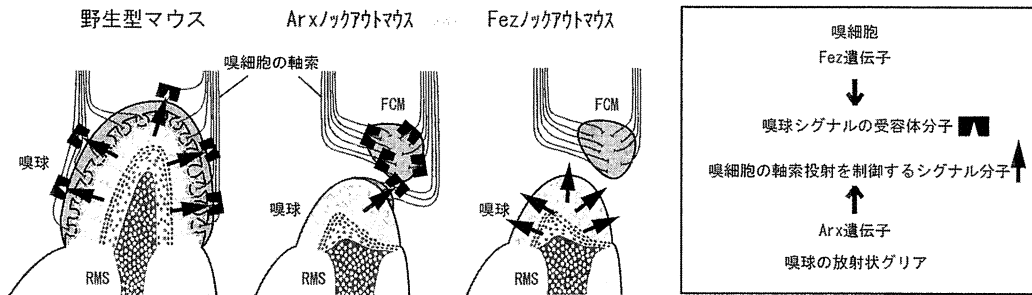


図4. 野生型マウス, Arx ノックアウトマウス, Fez ノックアウトマウスの嗅球における嗅細胞軸索投射の分子メカニズムのモデル図  
Arx ノックアウトマウス及び Fez ノックアウトマウスでは嗅細胞の軸索が嗅球へ到達できずに, 嗅球の前方に異常な糸玉状の構造体 (FCM) を形成している. また, これらのノックアウトマウスでは嗅細胞の軸索投射異常の他に, 嗅球内の層構造にも異常が見られる.  
これらの解析結果から, 嗅細胞の軸索投射を制御するシグナル分子とその受容体分子が, それぞれ嗅球の放射状グリアと嗅細胞に発現していることが示唆された. また, これらの分子の発現を嗅細胞では Fez 遺伝子が, 嗅球では Arx 遺伝子が制御していると推測される.

射異常に起因すると考えられる. Fez ノックアウトマウスにおいて嗅細胞特異的に Fez 遺伝子を発現させると, 嗅細胞の軸索投射と嗅球の層構造形成がともにレスキューされる<sup>25)</sup>. すなわち, 嗅球の正常な構築には嗅細胞が嗅球に正しく軸索投射することが必要である.

以上のように Arx 遺伝子と Fez 遺伝子のそれぞれのノックアウトマウスの解析から, 嗅細胞の軸索投射と嗅球の層構造形成はそれぞれ独立して起きるが, この二つの現象は互いに影響を及ぼし合いながら相互依存的に発達していくことが明らかになった. さらに嗅上皮から嗅球への軸索投射の分子メカニズムとして, 以下に述べるよ

うなモデルが考えられる(図4). 嗅細胞の軸索投射を制御する分子の発現が, 嗅細胞においては Fez 遺伝子によって, 嗅球の細胞(おそらく放射状グリア)においては Arx 遺伝子によってそれぞれ制御されている. また, これら嗅細胞と嗅球の細胞で発現し, 軸索投射を制御する分子同士は受容体とリガンドの関係になっていることが予想される.

### おわりに

脳内の複雑な神経回路はどのようにして形成されるのか・損傷した脳の領域にどのようにして神経回路を復元

させるかという問題は基礎医学・臨床医学において重要な問題である。嗅覚神経系はこれら2つの問題を解くのに極めて有効なモデルとなるとして近年注目されている。嗅覚神経回路形成に関与する転写調節因子の下流に位置する遺伝子の機能を明らかにすることで、胎生期および成体期の神経回路形成の分子メカニズムの解明・その知見を基にした再生医療への応用が期待される。

最後に Arx ノックアウトマウス及び Fez ノックアウトマウスを作製し、嗅覚系の解析に協力していただいた国立精神神経センター神経研究所の北村邦夫博士、理化学研究所発生再生科学総合研究センターの日比正彦博士、理化学研究所脳科学総合研究センターの吉原良浩博士に感謝いたします。

## 文 献

- 1) Mori, K., Nagao, H. and Yoshihara, Y. : The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science* **286** : 711-715, 1999
- 2) Reed, R.R. : After the holy grail: establishing a molecular basis for mammalian olfaction. *Cell* **116** : 329-336, 2004.
- 3) Caggiano, M., Kauer, J.S. and Hunter, D.D. : Globose basal cells are neuronal progenitors in the olfactory epithelium: a lineage analysis using a replication-incompetent retrovirus. *Neuron* **13** : 339-352, 1994.
- 4) Cau, E., Casarosa, S. and Guillemot, F. : Mash1 and Ngn1 control distinct steps of determination and differentiation in the olfactory sensory neuron lineage. *Development* **129** : 1871-1880, 2002.
- 5) Hirota, J. and Mombaerts, P. : The LIM-homeodomain protein Lhx2 is required for complete development of mouse olfactory sensory neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **101**: 8751-8755, 2004.
- 6) Kolterud, A., Alenius, M., Carlsson, L. and Bohm, S. : The Lim homeobox gene Lhx2 is required for olfactory sensory neuron identity. *Development* **131** : 5319-5326, 2004.
- 7) Wang, S.S., Lewcock, J.W., Feinstein, P., Mombaerts, P. and Reed, R.R. : Genetic disruptions of O/E2 and O/E3 genes reveal involvement in olfactory receptor neuron projection. *Development* **131** : 1377-1388, 2004.
- 8) Cheng, L.E. and Reed, R.R. : Zfp423/OAZ Participates in a Developmental Switch during Olfactory Neurogenesis. *Neuron* **54** : 547-557, 2007.
- 9) Jimenez, D., Garcia, C., de Castro, F., Chedotal, A., Sotelo, C., de Carlos, J.A., Valverde, F. and Lopez-mascaraque, L. : Evidence for intrinsic development of olfactory structures in Pax-6 mutant mice. *J. Comp. Neurol.* **428** : 511-526, 2000.
- 10) Nomura, T. and Osumi, N. : Misrouting of mitral cell progenitors in the Pax6/small eye rat telencephalon. *Development* **131** : 787-796, 2004.
- 11) Theil, T., Alvarez-Bolado, G., Walter, A. and Ruther, U. : Gli3 is required for Emx gene expression during dorsal telencephalon development. *Development* **126** : 3561-3571, 1999.
- 12) St John, J.A., Clarris, H.J., McKeown, S., Royal, S. and Key, B. : Sorting and convergence of primary olfactory axons are independent of the olfactory bulb. *J. Comp. Neurol.* **464** : 131-140, 2003. S
- 13) Bulfone, A., Wang, F., Hevner, R., Anderson, S., Cutforth, T., Chen, S., Meneses, J., Pedersen, R., Axel, R. and Rubenstein, J.L. : An olfactory sensory map develops in the absence of normal projection neurons or GABAergic interneurons. *Neuron* **21** : 1273-1282, 1998.
- 14) Faedo, A., Ficara, F., Ghiani, M., Aiuti, A., Rubenstein, J.L. and Bulfone, A. : Developmental expression of the T-box transcription factor T-bet/Tbx21 during mouse embryogenesis. *Mech. Dev.* **116** : 157-160, 2002.
- 15) Luskin, M.B. : Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron* **11** : 173-189, 1993.
- 16) Anderson, S.A., Qiu, M., Bulfone, A., Eisenstat, D.D., Meneses, J., Pedersen, R. and Rubenstein, J.L. : Mutations of the homeobox genes Dlx-1 and Dlx-2 disrupt the striatal subventricular zone and differentiation of late born striatal neurons. *Neuron* **19** : 27-37, 1997.
- 17) Long, J.E., Garel, S., Depew, M. J., Tobet, S. and Rubenstein, J.L. : DLX5 regulates development of peripheral and central components of

- the olfactory system. *J. Neurosci.* **23** : 568-578, 2003.
- 18) **Levi, G., Puche, A.C., Mantero, S., Barbieri, O., Trombino, S., Paleari, L., Egeo, A. and Merlo, G.R.** : The *Dlx5* homeodomain gene is essential for olfactory development and connectivity in the mouse. *Mol. Cell. Neurosci.* **22** : 530-543, 2003.
- 19) **Yoshihara, S., Omichi, K., Yanazawa, M., Kitamura, K. and Yoshihara, Y.** : *Arx* homeobox gene is essential for development of mouse olfactory system. *Development* **132** : 751-762, 2005.
- 20) **Cobos, I., Broccoli, V. and Rubenstein, J.L.** : The vertebrate ortholog of *Aristaless* is regulated by *Dlx* genes in the developing forebrain. *J. Comp. Neurol.* **483** : 292-303, 2005.
- 21) **Toresson, H. and Campbell, K.** : A role for *Gsh1* in the developing striatum and olfactory bulb of *Gsh2* mutant mice. *Development* **128** : 4769-4780, 2001.
- 22) **Waclaw, R.R., Allen, Z.J., Bell, S.M., Erdelyi, F., Szabo, G., Potter, S.S. and Campbell, K.** : The zinc finger transcription factor *sp8* regulates the generation and diversity of olfactory bulb interneurons. *Neuron* **49** : 503-516, 2006.
- 23) **Kosaka, K., Toida, K., Aika, Y. and Kosaka, T.** : How simple is the organization of the olfactory glomerulus? : the heterogeneity of so-called periglomerular cells. *Neurosci. Res.* **30** : 101-110, 1998.
- 24) **Yoshida, M., Suda, Y., Matsuo, I., Miyamoto, N., Takeda, N., Kuratani, S. and Aizawa, S.** : *Emx1* and *Emx2* functions in development of dorsal telencephalon. *Development* **124** : 101-111, 1997.
- 25) **Hirata, T., Nakazawa, M., Yoshihara, S., Miyachi, H., Kitamura, K., Yoshihara, Y. and Hibi, H.** : Zinc-finger gene *Fez* in the olfactory sensory neurons regulates development of the olfactory bulb non-cell-autonomously. *Development* **133** : 1433-1443, 2006.
- 26) **Stromme, P., Mangelsdorf, M.E., Shaw, M.A., Lower, K.M., Lewis, S.M., Bruyere, H., Lucherath, V., Gedeon, A.K., Wallace, R.H., Scheffer, I.E., Turner, G., Partington, M., Frints, S.G., Fryns, J.P., Sutherland, G.R., Mulley, J.C. and Geetz, J.** : Mutations in the human ortholog of *Aristaless* cause X-linked mental retardation and epilepsy. *Nat. Genet.* **30** : 441-445, 2002.
- 27) **Kitamura, K., Yanazawa, M., Sugiyama, N., Miura, H., Iizuka-Kogo, A., Kusaka, M., Omichi, K., Suzuki, R., Kato-Fukui, Y., Kamiirisa, K., Matsuo, M., Kamijo, S., Kasahara, M., Yoshioka, H., Ogata, T., Fukuda, T., Kondo, I., Kato, M., Dobyns, W.B., Yokoyama, M. and Morohashi, K.** : Mutation of *ARX* causes abnormal development of forebrain and testes in mice and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans. *Nat. Genet.* **32** : 359-369, 2002.