

ラット皮質脳梁線維の神経投射：順行性標識物質 biotinylated dextran amine を用いた解析

小池 譲 治

愛知医科大学脳神経外科学教室

(指導：信州大学医学部脳神経外科学教室 小林 茂昭教授)

Terminal Distribution of Cortical Callosal Fibers in the Rat : An Anterograde Tracing Study with Biotinylated Dextran Amine

George KOIKE

Department of Neurological Surgery, Aichi Medical University

(Director : Prof. Shigeaki KOBAYASHI, Department of Neurosurgery

Shinshu University School of Medicine)

Terminal distribution of cortical fibers passing through the corpus callosum of the rat was studied using the biotinylated dextran amine (BDA) anterograde tracing method. BDA was injected into different regions of the frontal and parietal cortices. Injection of BDA into the cortex resulted in staining of a narrow region containing numerous labeled neurons and nerve fibers at the injection site. Topographic arrangements, such as rostro-caudal orientation, of the labeled nerve fibers were observed in the corpus callosum. The injection into the cortex yielded dense labeling of thin nerve fibers with small boutons (nerve terminals) in the contralateral homotypical cortex and the adjacent area. In addition, the injection into the frontal cortex produced light labeling of nerve terminals in a wide area of the contralateral frontal cortex and the neostriatum. The area of the labeled nerve terminals was much larger than that of the labeled neurons at the injection site. These findings suggest that cortical callosal fibers mainly project to the homotopic area of the contralateral cortex, that some of the fibers from the frontal cortex show heterotopic projections, and that terminal fibers of the projections from the adjacent cortical areas overlap each other. *Shinshu Med J* 46 : 123—133, 1998 (Received for publication November 26, 1997)

Key words : rat, cortical callosal fibers, anterograde tracing technique, biotinylated dextran amine, contralateral homotypical cortex

ラット, 皮質脳梁線維, 順行性神経標識法, ビオチン化デキストランアミン, 対側同皮質

I 緒 言

脳卒中や外傷などによる大脳皮質の傷害は投射線維(下行路)を受ける下位中枢とともに, 連合線維および交連線維を受ける同側および対側皮質にも障害をお

別刷請求先: 小池 譲治

〒480-1195 愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又21
愛知医科大学脳神経外科

よぼす。下位中枢の障害は, 臨床症状として捕らえられることが多く, その症状や経過(障害部の可塑性を含む変化)に関する研究が, 臨床的にも動物実験でも数多くなされてきた^{1)~4)}。しかし, 同側および対側皮質の障害については臨床的には注目されているが, 神経解剖学的に詳細に調べた研究は少ない⁵⁾⁶⁾。

脳梁は大脳縦裂の底にあり, 左右大脳半球を連絡する交連線維が集まってできる構造物である⁷⁾。哺乳類

で新皮質の発達とともに大きくなり、ヒトで最も著しい発達を示すとされている⁷⁾。左右大脳の新皮質は、脳梁を通る交連線維により鏡面像のごとく結ばれることが教科書にも記載されている⁸⁾。しかし、その神経終末の広がりについて詳しく解析した報告は未だ少ない⁹⁻¹²⁾。

近年開発された順行性神経標識物質の一つに biotinylated dextran amine (BDA) がある¹³⁾¹⁴⁾。これは従来の標識物質に比べ、限局した注入が可能で、感度が高く、神経終末(終末ボタン terminal boutons: 1個の終末ボタンは数個のシナプスが集まって形成されることが電顕的に示されている¹⁴⁾¹⁵⁾)を明瞭に標識できるという特徴を持っている¹³⁾¹⁴⁾。そこで本研究では、皮質の傷害が対側皮質にどのような変化をもたらすかを調べるための基礎実験として、ラット皮質線維の対側半球における終末の広がりについて BDA を用いて解析した。

II 材料と方法

Wister 系ラット(雄, 体重170-200g) 14匹を用い、Fig. 1 に示す大脳皮質の A, B, C, D, E の5カ所に BDA を注入後、光顕標本を作製し観察した。

A BDA の注入

ラットをベントバルビタール(50mg/kg, i.p.) による麻酔後、頭部を剃毛し脊椎脳定位固定装置(ST-7, ナリシゲ, 東京)に固定した。頭部の皮切後、軟部組織をはがして頭蓋骨を露出し、手術用顕微鏡(DZ-160, 010/16, NISSHO OPTICAL Co., 東京)下で技工用マイクロモータードリル(PAL, モリタ, 東京)を用いて目的とする皮質を被う頭蓋骨の開窓術(3.0×3.0mm²)を行った。

2% BDA (Molecular Probes Inc., Eugene, USA, 0.1M リン酸緩衝液(pH7.2)で希釈)を目的とする皮質内に、1匹につき1カ所0.2 μ l 注入した¹³⁾¹⁴⁾。注入は、ガラス管(直径1.0mm, A-M SYSTEM Inc., USA)を微小電極作成装置(PE-2, ナリシゲ, 東京)で引いて作製したマイクロピペットを、ハミルトンマイクロシリンジ(5.0 μ l, HAMILTON Co., USA)の針先に取り付けたものを用いて行った。シリンジを脊椎脳定位固定装置に取り付けた電極支持台(SM-15, SM-15-M, ナリシゲ, 東京)に装着し、マイクロピペットの先端が注入部位の真上にくるように調整した。マイクロ用ピンセットあるいは27ゲージの皮下針を用いて注入部位を被う硬膜を切開し、マイクロピペット

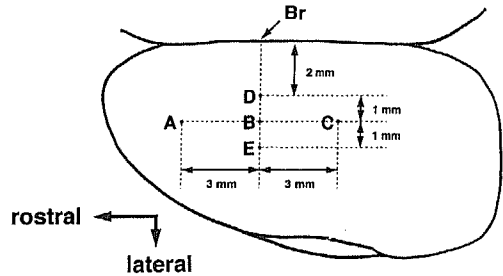


Fig. 1 BDA injection sites plotted in a schematic drawing of the rat brain. BDA was injected into five different regions (A, B, C, D, E,) of the cerebral cortex. Br: Bregma.

の先端が皮質表面にくるように支持台の高さを調整後、目盛りをみながら大脳皮質の厚さにより A, B, D, E では1.5mm, C では1.0mmの深さまで刺入した。ハーバード微量注入用ポンプ(MODEL11, HARVARD Co., USA)を用いて BDA を約10分間かけて圧注入後、マイクロピペットは5分間以上放置してから抜去した。クモ膜および硬膜切開部はそのままにして、開窓部に骨片を戻し、皮切部を小動物用クリップで縫合した。術中、麻酔の追加はベントバルビタール(25mg/kg, i.m.)を用いて行った。

麻酔から覚醒後、ラットをオガクズを敷いたゲージに移し、通常の飼料を与え飼育した。

B 組織標本の作製

BDA 注入6日後、ラットをベントバルビタール(175mg/kg, i.p.)の深麻酔下で灌流固定した¹³⁾¹⁴⁾。固定液は4%パラホルムアルデヒド、0.1%グルタルアルデヒド、0.2%ピクリン酸(0.12M ナトリウムリン酸緩衝液(pH7.4)で希釈)の組成のものを用いた。ラットを開胸後、左心室に切開を加え留置針を刺入、生理食塩水(約20ml, 室温)を流しながら右心房を切開して脱血後、引き続き固定液(約500ml, 室温)を10-15分間かけて流した。

灌流固定終了4-5時間後、脳を取り出し同じ固定液(4°C)に一晩浸して後固定後、0.1M リン酸緩衝液(以下PBSと略, pH7.2, 室温)に移した。PBS中でキムワイブ(キムワイブワイパーS-200, 十條キンパー, 東京)を用いて脳表面に残る髄膜および血管を除去後、脳をカミソリを用いて正中矢状断し、断面を下にしてビプラトーム(マイクロスライサーDTK-2000, 堂阪イーエム, 京都)の試料台に載せた。脳を寒天で包埋後、PBS(0°C)に浸しながら厚さ40 μ m

Table 1 Results of BDA labeling at the injection site, contralateral hemisphere and corpus callosum

Rat No.	injection site	BDA labeling				distribution of BDA labeled neurons at injection site (μm)	
		injection site	contralateral hemisphere		CC	RC	ML
			homotopic	heterotopic			
1	A	+	+	+	+	290	440
2	A	+	+	+	+	400	680
3	A	+	+	+	+	550	680
4	A	+	+	-	+	550	680
5	B	+	+	-	+	460	680
6	B	+	+	-	+	320	680
7	B	-	-	-	-	NA	NA
8	C	+	+	-	+	300	440
9	C	+	+	-	+	300	680
10	C	-	-	-	-	NA	NA
11	D	+	+	-	+	350	680
12	D	-	-	-	-	NA	NA
13	E	+	+	-	+	450	680
14	E	-	-	-	-	NA	NA

CC: corpus callosum, RC: rostro-caudal, ML: medio-lateral, NA: not applicable

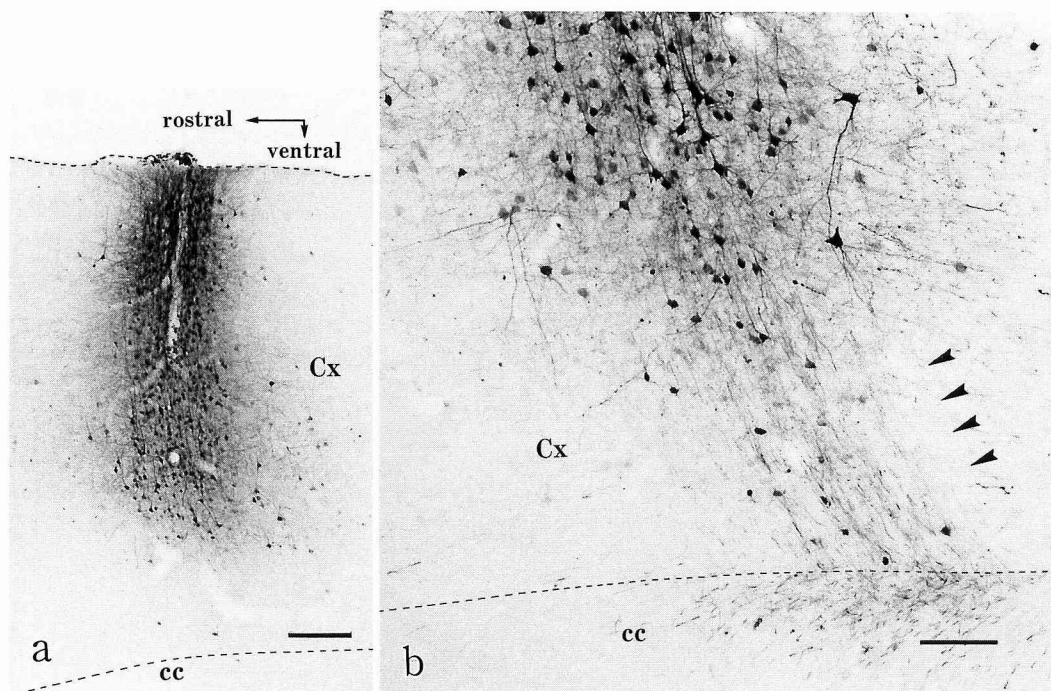


Fig 2 Photomicrographs of a BDA injection site in the frontal cortex (region D in Fig. 1). Numerous BDA labeled neurons (a and b) and BDA labeled fibers traversing from the injection site to the corpus callosum (arrowheads in b) are observed. cc: corpus callosum, Cx: cerebral cortex. Bars: 200 μm in a and 100 μm in b.

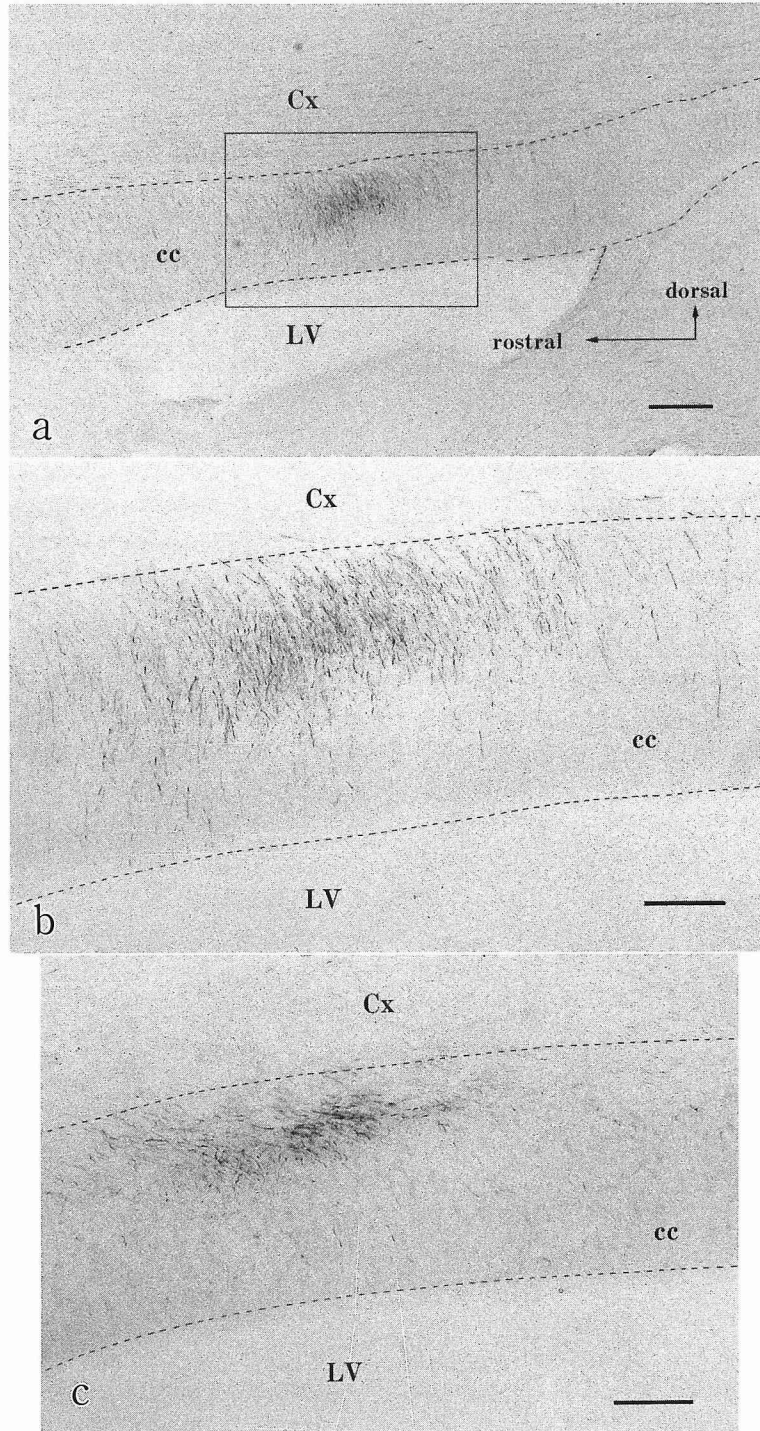


Fig 3 a, b, c: Photomicrographs of BDA labeled nerve fibers in the corpus callosum after BDA injection into regions B (a, b) and D (c) in Fig. 1. b: Higher Magnification of the area in a. BDA labeled fibers run in ventrodorsal and rostrocaudal directions in b and c, respectively. cc : corpus callosum, Cx : cerebral cortex, LV : lateral ventricle. Bars: 200 μ m in a, 100 μ m in b and c.

の連続矢状断切片を作製した。切片はPBS（室温）を入れた6本（左右で12本）の試料ピンに順番に採取し、5枚おき（200 μ m 間隔、切片の厚みを含めると240 μ m 毎）の不完全連続切片6セット（左右で12セット）が揃うようにした。

不完全連続切片1セット（左右で2セット）に対し、avidin-biotin-horseradish peroxidase (ABC) 法 (VECTASTAIN ABC KIT, Vector Laboratories, Inc., Burlingame, USA) によるBDAの発色を行った¹³⁾¹⁴⁾。切片をPBS（室温）で数回洗浄後、2% ABC, 0.5% triton X-100 (PBSで希釈, 4°C) 溶液に入れ、室温で2時間攪拌した。PBS（4°C）で数回洗浄後、0.1% diaminobenzidine, 0.6% 塩化ニッケル, 0.003% H₂O₂ (PBSで希釈, 4°C) 溶液に5-10分間浸し、BDAの発色を行った（ニッケル増感法：BDAが紫から黒色に発色され、検鏡しやすくなる¹⁵⁾）。切片をPBS（室温）で数回洗浄後、ツナミAPS（シラン）コート（スーパーフrost S-8441, 松浪硝子工業, 大阪）を塗布したスライドグラスに張り付け、伸展器（36°C）の上で一晩以上乾燥後、アルコール系を用いて脱水、キシレンにより透徹後、封入剤（ENTELLAN new, MERCK, Germany）とカバーグラスを用いて封入した。

C 観察

切片の観察は光学顕微鏡（OPTIPHOT, NIKON, 東京）を用いて行った。切片は40 μ m と厚く、一つの焦点では神経線維および終末の細かい観察ができない

ため、焦点を変えながら検鏡し、顕微鏡に取り付けた顕微鏡描画装置（OPTIPHOT-2/LABOPHOT-2, NIKON, 東京）を用いて線維あるいは終末のスケッチを行った。

III 結 果

A BDA 注入部位

Table 1に、全てのラットに対するBDAの注入結果を示す。

BDAの注入が成功したラットの皮質には、マイクロピペットの刺入経路に沿った黒色の領域が見られた（Fig. 2 a）。この中にはBDAで標識された神経細胞と神経線維が多数認められた（Fig. 2 b）。また、この領域の下部にはやはりBDAで標識された神経線維の束が脳梁に向かい伸び出しているのが観察された。

14匹のラットのうち10匹では、Fig. 2 a, bに示したようなBDAの注入が確認できた。これらのラットの標本では、注入部位に隣接した不完全連続切片を観察することにより、BDA標識細胞の広がりについての計測を行った。その結果、標識細胞の広がりは吻尾方向で0.55mm以内、内外方向で0.68mm以内（不完全連続切片で1枚か2枚）に収まることが分かった（Table 1）。残りの4匹のラットでは、注入部の微小出血による壊死などの像がみられBDAの取り込みが不十分だったため、以下の観察には用いなかった。

B BDA 標識線維の脳梁での局在

BDAの注入により、脳梁の一部に黒色の帯が観察

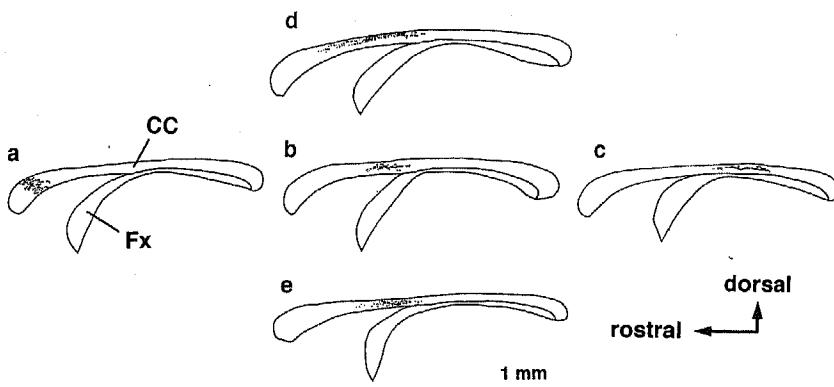
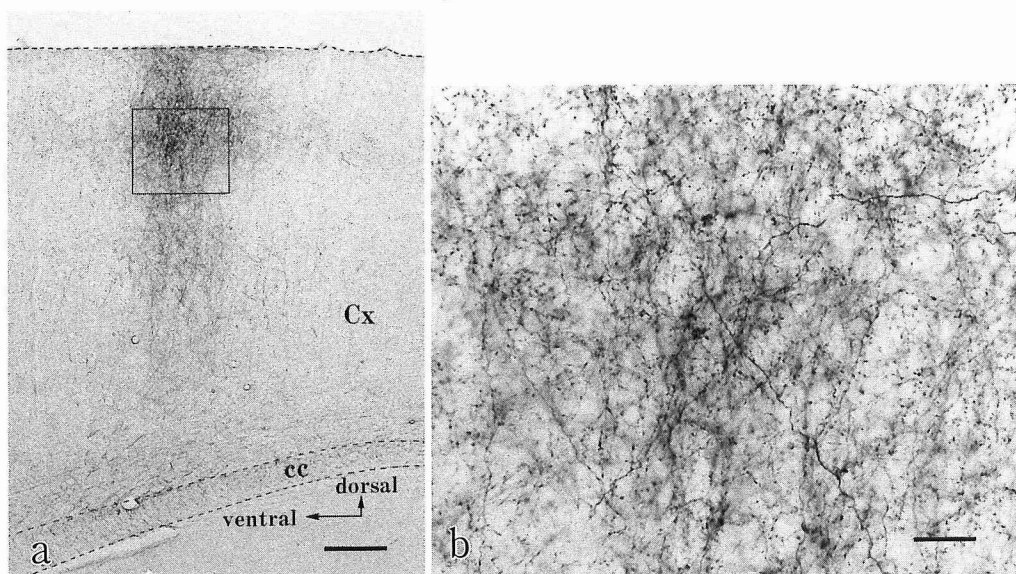


Fig. 4 Drawing of the sections obtained from five rats showing the distribution of BDA labeled nerve fibers in the corpus callosum. BDA was injected into regions A (a), B (b), C (c), D (d), and E (e) in Fig. 1. CC: corpus callosum, Fx: fornix.



された (Fig. 3 a)。この帯は、BDA で標識された直径約0.6 μ m の神経線維が多数集まることにより構成されていた (Fig. 3 b, c)。線維の走行は、A, B, C, E の注入ではほぼ腹背方向を示したが (Fig. 3 b), D の注入では吻尾方向を示すものが多数認められた (Fig. 3 c)。正中部の切片では脳梁以外には BDA に標識された線維は認められなかった。

Fig. 4 に、それぞれ1匹ずつのラットに対し A, B, C, D, E の部位に BDA を注入後、脳梁でみられた標識神経線維の局在を顕微鏡描画装置を用いてスケッチした図を示す。吻尾方向の3点 A, B, C の注入では、それぞれ脳梁膝、脳梁体の前1/3、後1/3の線維が標識された。内外側方向の3点 B, D, E の注入では、どれも脳梁体の前1/3の線維が標識されたが、D ではさらに脳梁膝の近くまで標識線維が認められた。また、D では B, E に比べ脳梁上部の線維が標識される傾向がみられた。

C 対側半球への BDA 標識神経線維の投射

BDA の注入により、対側半球では注入部と同じ皮質およびその周辺に薄い黒色の領域が観察された (Fig. 5 a)。この部を拡大してみると、BDA で標識されたほぼ上下方向に走る直径約0.5 μ m の比較的大い線維と無方向に走る直径約0.2 μ m の細い線維が多数認められた (Fig. 5 b)。細い線維には所々数珠状に膨らむもの、枝分かれし先端が膨らんで終わるものなど神経終末を示す像が無数に認められた (Fig. 5 b)。

対側半球では他に、A の部位に注入した例で、前頭葉皮質の広い範囲 (Fig. 5 c) および新線条体 (Fig. 5 d) に終末を伴う神経線維の疎な標識が観察された。

Fig. 6 に、それぞれ1匹ずつのラットに対し、A, B, C の部位に BDA を注入後、対側皮質でみられた標識神経終末を顕微鏡描画装置を用いてプロットした図、およびこれらの観察を基に作成した標識終末の分布範囲の模式図を示す。プロットは、対側半球の切片の中で最も強く BDA に標識された皮質を含む切片と、それぞれその内側と外側200 μ m の切片 (不完全連続切片で内側および外側に1枚目の切片) の計3枚に対して行っている。

A の部位への注入では、対側半球の注入部位と同部位およびその周辺の皮質に高密度に、この部の吻側の前頭葉皮質に疎ではあるが広範に標識終末が認められた (Fig. 6 a)。また、前述のように新線条体にも標識終末が認められた (Fig. 5 d)。B, C, D, E への注入では、対側半球の注入部と同部位およびその周辺の皮質に局限して高密度に標識終末が認められた (Fig. 6 b, c)。どの例でも、標識終末の分布範囲は、吻尾方向 (Fig. 6) および内外方向 (不完全連続切片で5枚以上) とともに1mm を越えて広がっており、BDA 注入部位の標識細胞の広がり (吻尾方向で0.55 mm 以内、内外方向で0.68mm 以内) に比べ、非常に広範囲にわたることが分かった。

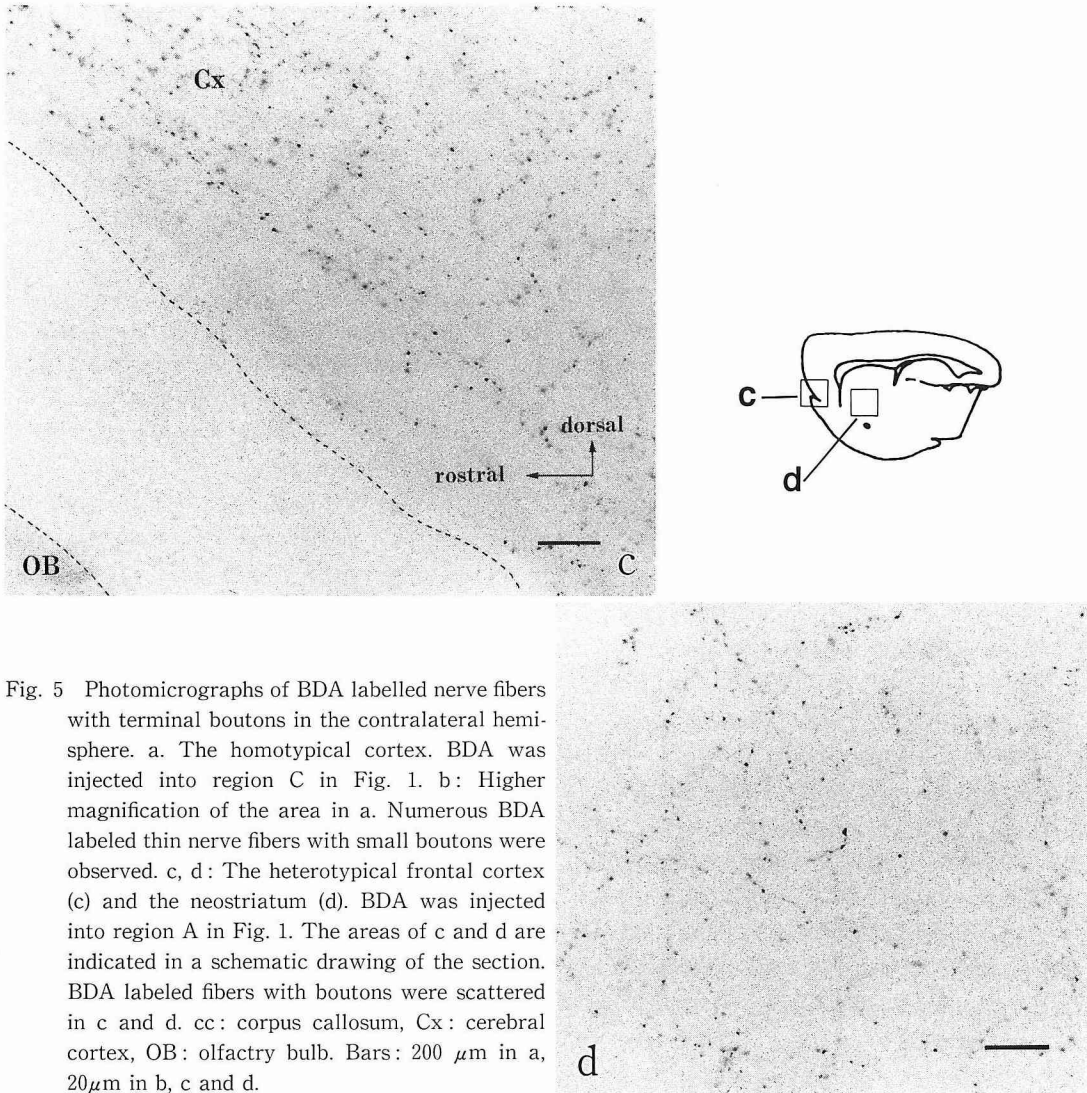


Fig. 5 Photomicrographs of BDA labelled nerve fibers with terminal boutons in the contralateral hemisphere. a. The homotypical cortex. BDA was injected into region C in Fig. 1. b: Higher magnification of the area in a. Numerous BDA labeled thin nerve fibers with small boutons were observed. c, d: The heterotypical frontal cortex (c) and the neostriatum (d). BDA was injected into region A in Fig. 1. The areas of c and d are indicated in a schematic drawing of the section. BDA labeled fibers with boutons were scattered in c and d. cc: corpus callosum, Cx: cerebral cortex, OB: olfactory bulb. Bars: 200 μ m in a, 20 μ m in b, c and d.

IV 考 察

A BDA 注入部位

BDA の注入部位には、BDA を取り込んだ神経細胞が多数標識され、注入された BDA の広がり方が特定できる¹³⁾¹⁴⁾。今回の解析では、不完全連続切片の観察から、標識細胞の広がり方は吻尾方向で0.55mm 以内、内外側方向で0.68mm 以内と、非常に限られた範囲であることが分かった。BDA の注入は皮質の吻尾方向の直線上で3mm 間隔、内外方向の直線上で1mm 間隔で行っているため、注入部位ごとの BDA の広がりにはほとんど重なりがないと推定される。

B 脳梁の通過部位について

皮質線維の脳梁通過部位は、由来する皮質の部位により一定している。ヒト脳梁では、それぞれ脳梁吻を前頭葉下面（眼窩面）からの、脳梁膝を前頭葉内側面および外側面からの、脳梁体と膨大部を半球の広い範囲からの、脳梁膨大部を後頭葉からの線維が通過する¹⁷⁾。動物でも、脳溝がみられ皮質を葉に分けられるネコ以上では、同様な皮質と通過部位の対応が報告されている⁷⁾¹⁸⁾⁻²⁷⁾。脳溝のみられないラットでは、吻側（尾側）の皮質からの線維は脳梁の吻側（尾側）部を、外側（内側）の皮質からの線維は脳梁の下（上）部を通ることが、すでに HRP²⁸⁾、WGA-HRP²⁹⁾、car-

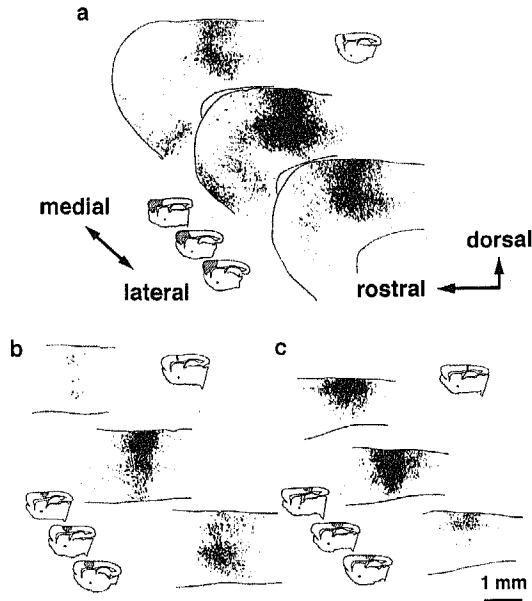


Fig 6 Drawing of the sections obtained from three rats showing the distribution of BDA labeled terminal boutons in the contralateral cerebral cortex. BDA was injected into regions A (a), B (b) and C (c) in Fig. 1. In each case, sections of three different medio-lateral levels (approximately 200 μ m apart) are drawn. The BDA injection site (solid black) and the area of the distribution (diagonal stripes) are marked in the schematic drawing of the sections.

bocyanine dye³⁰⁾を用いた解析から明らかとなっている。

今回の解析では、皮質の吻尾方向の直線上に(3 mm 間隔で)3カ所BDAを注入したところ、それぞれ脳梁膝、脳梁体の前1/3、後1/3の線維が標識された。また、内外方向の(1mm 間隔で)3カ所の注入では、どれも脳梁体の前1/3の線維が標識され、内側部の注入で脳梁上部の線維が標識されるという傾向が認められた。これらは従来のラットにおける皮質の部位と脳梁通過部位との局在配列の報告と一致している²⁸⁾⁻³⁰⁾。なお、内側部の注入で脳梁の通過部位が吻尾方向に長くなったのは、注入部位と脳梁との間隔が短いことに加え、切片が厚いため通過線維を横断面(点)として捕らえることができず、通過前後の横走する線維まで多く含んだことが原因として考えられた。

C 対側半球への投射について

皮質線維の対側半球への投射については、これまで形態学的には、変性法、蛍光色素やHRPなどを用いた逆行性標識法、PHA-Lなどを用いた順行性標識法、オートラジオグラフィーなどによる解析がなされ、対側皮質のほぼ同じ部位に投射することが報告されてきた³¹⁾⁻³³⁾。しかし、これらの方法で投射部位の広がりを調べるのには方法論上の限界があった。具体的には、変性法では傷害部位の広がりが特定できない、逆行性標識法では終末の広がりが測定できない、これまでの順行性標識では神経終末の標識ができない、オートラ

ジオグラフィーでは線維と終末の鑑別が困難であるなどの問題点があった。今回の解析では、注入部のBDAの広がりにはBDA標識細胞の広がりとして特定できた。また、神経終末も明瞭に標識され線維との鑑別も容易であった。さらに、終末の分布の解析は、顕微鏡描画装置を用いて終末部のみをプロットすることにより行っている。したがって、これまでの報告に比べより厳密な解析がなされたものと考えられる。

今回の解析では、皮質の5つの部位のどこにBDAを注入しても、対側皮質の同じ部位およびその周辺に神経線維と終末が高密度に標識された。この結果は、これまでの交連線維は左右皮質の同じ部位を連絡するという報告と矛盾しない。しかしながら、今回、標識終末の広がりには注入部のBDA標識細胞の広がりには比べかなり広いことが明らかになった。このことは、皮質線維の対側皮質への投射には、かなりの重なりがみられることを示している。また、今回の解析で、前頭葉(Aの部位)への注入では、上述の部位に加え、対側の前頭葉皮質の広い範囲および新線条体にも疎ではあるが神経終末が標識された。皮質線維の対側新線条体への投射は、これまでもネコなどで報告されている³³⁾⁻³⁷⁾。しかし、対側同部位以外の皮質への投射(heterotopic projection)については、これまでいくつ報告はあるものの³⁸⁾⁻⁴²⁾、このような前頭葉の広範囲にわたる投射は報告されていない。これは今回用いた鋭敏な順行性標識物質(BDA)によりもたらさ

れた新知見である¹³⁾¹⁴⁾。一方、今回 BDA を注入した部位は、Zilles⁴²⁾の報告によると、A と D は一次運動皮質、B と E および C はそれぞれ感覚運動皮質の前肢および後肢領域に一致している。したがって、前頭葉からの広範な投射は、左右協調した運動の遂行のために働くことが予想されるが、これまでラット皮質脳梁線維の機能に関する詳細な報告はなく、今回示した投射の機能について論じるためには、今後の研究を待たねばならない。なお、皮質障害が対側皮質の障害（巣症状）となって現れにくい理由としては、この投射の重なりや広がり、すなわち障害部周辺皮質からの投射が、失われた投射の機能を代償するあるいは代償するようになる可能性が考えられる。

今回の解析から、ラット皮質線維の対側半球における終末の分布が明らかとなった。皮質の傷害はこれらの終末の変性消失をもたらすことから、結果としてこの部の神経回路網の再編成を促すようになることが予想できる⁴³⁾⁴⁴⁾。今後は、今回の結果を参考に、ラットを材料に皮質傷害に伴う対側半球神経回路網の変化について明らかにしていきたい。

V 結 び

順行性神経標識物質 biotinylated dextran amine (BDA) をラット大脳皮質に注入し、皮質線維の脳梁部での走行および対側大脳半球への投射を調べ、以下の結果を得た。

- 1 注入部の皮質は、BDA で標識された多数の神経細胞と線維で明瞭に識別され、皮質脳梁線維の詳細な解析に必要な皮質内微量注入が可能であった。

- 2 標識された線維の脳梁通過部位をみると、より吻側の皮質からくる線維は脳梁のより吻側を、より外側の皮質からくる線維は脳梁のより下部を通過するという配列の局在が認められた。

- 3 頭頂葉皮質への注入では、対側皮質の注入部と同部位およびその周辺に神経終末が高密度に標識された。

- 4 前頭葉皮質への注入では、対側皮質の注入部と同部位およびその周辺の高密度な神経終末の標識に加え、対側前頭葉皮質の広い範囲および新線条体にも疎な神経終末が標識された。

- 5 対側皮質の標識終末の広がり、注入部皮質の標識細胞の広がりには比へるかに大きかった。

以上より、ラット皮質脳梁線維は主に対側同皮質に投射すること、一部前頭葉皮質からのものは同皮質に加え前頭葉の広範な部位および新線条体にも投射すること、この投射には周辺皮質からの投射との重なりのみられることが明らかとなった。また、この投射の重なりや広がりが、皮質障害による対側皮質の障害を目立たなくしていることが考えられた。

謝 辞

本論文を志水義房信州大学名誉教授の霊前に捧げる。論文作成にあたり、終始ご指導下さった信州大学医学部第2解剖学教室内藤 輝助教授、標本および写真の作成に協力頂いた横内久美子技官、浅野真紀技官、孫 英傑大学院生に深く感謝する。

本論文の要旨は第100回日本解剖学会総会（1995年4月、東京）において報告した。

文 献

- 1) Stovring J, Fernando LT: Wallerian degeneration of the corticospinal tract region of the brain stem. Demonstration by computed tomography. *Radiology* 149: 717-720, 1983
- 2) Kuhn MJ, Johnson KA, Davis KR: Wallerian degeneration. Evaluation with MR imaging. *Radiology* 168: 199-202, 1988
- 3) Inoue Y, Matsumura Y, Fukuda T, Nemoto Y, Shirahata N, Suzuki T, Shakudo M, Yawata S, Tanaka S, Takemoto K: MR imaging of Wallerian degeneration in the brain stem. Temporal relationships. *Am J Neuroradiol* 11: 897-902, 1990
- 4) Uematsu J, Ono K, Yamano T, Shimada M: Development of corticospinal tract fibers and their plasticity. II. Neonatal unilateral cortical damage and subsequent development of the corticospinal tract in mice. *Brain Dev* 18: 173-178, 1996
- 5) Koralek KA, Olavarria J, Killackey HP: Areal and laminar organization of corticocortical projections in the rat somatosensory cortex. *J Comp Neurol* 299: 133-150, 1990
- 6) Innocenti GM: Some new trends in the study of the corpus callosum. *Behav Brain Res* 64: 1-8, 1994

- 7) Matsunami K, Kawashima T, Ueki S, Fujita M, Konishi T : Topography of commissural fibers in the corpus callosum of the cat : a study using WGA-HRP method. *Neurosci Res* 20 : 137-148, 1994
- 8) Innocenti GM : General organization of callosal connections in the cerebral cortex. In : Jones EG, Peters A (eds), *Cerebral cortex*, vol 5, pp 291-353, Plenum Publishing Corporation, New York, 1986
- 9) Markowitsch HJ, Guldin WO : Heterotopic interhemispheric cortical connections in the rat. *Brain Res Bull* 10 : 805-810, 1983
- 10) Jakobson S, Trojanowski JQ : The cells of origin of the corpus callosum in the rat, cat and rhesus monkey. *Brain Res* 74 : 149-155, 1974
- 11) Jakobson S, Trojanowski JQ : Prefrontal granular cortex of the rhesus monkey. II Interhemispheric cortical afferents. *Brain Res* 132 : 235-246, 1977
- 12) Schartz ML, Goldman-Rakic PS : Single cortical neurons have axon collaterals to ipsilateral and contralateral cortex in fetal and adult primates. *Nature* 299 : 154-155, 1982
- 13) Naito A, Kita H : The cortico-nigral projection in the rat : an anterograde tracing study with biotinylated dextran amine. *Brain Res* 637 : 317-322, 1994
- 14) Naito A, Kita H : The cortico-pallidal projection in the rat : an anterograde tracing study with biotinylated dextran amine. *Brain Res* 653 : 251-257, 1994
- 15) Taveras I, Lima D, Coimbra A : The ventrolateral medulla of the rat is connected with the spinal cord dorsal horn by an indirect descending pathway relayed in the A5 noradrenergic cell group. *J Comp Neurol* 374 : 84-95, 1996
- 16) Tai Y, Yi H, Ilinsky IA, Kultas-Ilinsky K : Nucleus reticularis thalami connections with the mediodorsal thalamic nucleus : a light and electron microscopic study in the monkey. *Brain Res Bull* 38 : 475-488, 1995
- 17) Lacoste MC, Kirkpatrick JB, Ross ED : Topology of the human corpus callosum. *J Neuropathol Exp Neurol* 44 : 578-591, 1985
- 18) Volneida TJ, Trevarthan CB : An experimental study of transcallosal connections between the petrous gyri of the cat. *Brain Res* 12 : 384-395, 1969
- 19) Pandya DN, Karol EA, Heibron D : The topographical distribution of interhemispheric projections in the corpus callosum of the monkey. *Brain Res* 32 : 31-43, 1971
- 20) Innocenti GM : The primary visul pathway through the corpus callosum : morphological and functional aspects in the cat. *Arch Ital Biol* 118 : 114-188, 1980
- 21) Spidalieri G, Guandalini P : Motor representation in the rostral portion of the cat corpus callosum as evidenced by microstimulation. *Exp Brain Res* 53 : 59-70, 1983
- 22) Spidalieri G, Franchi G, Guandalini P : Somatic receptive field properties of single fibers in the rostral portion of the corpus callosum in awake cats. *Exp Brain Res* 58 : 75-81, 1985
- 23) Jouandet ML, Lachet JJ, Garey LJ : Distribution of the neurons of origin of the great cerebral commissure in the cat. *Anat Embryol* 171 : 105-120, 1985
- 24) Jouandet ML, Lachet JJ, Garey LJ : Topographic distribution of callosal neurons and terminals in the cerebral cortex of the cat. *Anat Embryol* 173 : 323-342, 1986
- 25) Cipolloni PB, Pandya DN : Topography and trajectories of the commissural fibers of the superior temporal region in the rhesus monkey. *Exp Brain Res* 57 : 381-389, 1985
- 26) Payne BR, Siwek DF : The visual map in the corpus callosum of the cat. *Cerebral Cortex* 1 : 173-188, 1991
- 27) Barbas H : Architecture and cortical connections of the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *Adv Neurol* 57 : 91-115, 1992
- 28) Kim JHY, Ellman A, Jiraska JM : A re-examination of sex differences in axon density and number in the splenium of the rat corpus callosum. *Brain Res* 740 : 47-56, 1996

- 29) Olavarria J, Van Sluyters RD: Axons from restricted regions of the cortex pass through restricted portions of the corpus callosum in adult and neonatal rats. *Dev Brain Res* 25 : 309-313, 1986
- 30) Ozaki HS, Wahlsten D: Prenatal formation of the normal mouse corpus callosum: a quantitative study with carbocyanine dyes. *J Comp Neurol* 323 : 81-89, 1992
- 31) Yorke CH, Caviness VS: Interhemispheric neocortical connections of the corpus callosum in the normal mouse: a study based on anterograde and retrograde method. *J Comp Neurol* 164 : 233-246, 1975
- 32) Barbaresi P, Minelli A, Manzoni T: Topographical relations between ipsilateral cortical afferents and callosal neurons in the second somatic sensory area of cats. *J Comp Neurol* 343 : 582-596, 1994
- 33) Segraves MA, Rosenquist AC: The afferent and efferent callosal connections of retinotopically defined areas in the cat cortex. *J Neurosci* 2 : 1090-1107, 1982
- 34) Ebner FF, Myers RE: Distribution of corpus callosum and anterior commissure in cat and racoon. *J Comp Neurol* 124 : 353-366, 1965
- 35) Carman JB, Cowan WM, Powell TPS, Webster KE: A bilateral cortico-striate projection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 28 : 71-77, 1965
- 36) Garcia-Rill E, Nieto A, Adinolfi A, Hull CD, Buchwald NA: Projections to the neostriatum from the cat precruciate cortex: anatomy and physiology. *Brain Res* 170 : 393-407, 1979
- 37) Berman N, Payne BR: Contralateral corticofugal projections from the lateral, suprasylvian and ectosylvian gyri in the cat. *Exp Brain Res* 47 : 234-238, 1982
- 38) Wise SP, Jones EG: The organization and postnatal development of the commissural projection of the rat somatic sensory cortex. *J Comp Neurol* 168 : 313-344, 1976
- 39) White EL, DeAmicis RA: Afferent and efferent projections of the region in mouse SmI cortex which contains the posteromedial barrel subfield. *J Comp Neurol* 175 : 455-481, 1977
- 40) Beckstead RM: An autoradiographic examination of cortico-cortical and subcortical projections of the mediadorsal-projection (prefrontal) cortex in the rat. *J Comp Neurol* 184 : 43-62, 1979
- 41) Markowitsch HJ, Guldwin WO: Heterotopic interhemispheric cortical connections in the rat. *Brain Res Bull* 10 : 805-810, 1983
- 42) Zilles K: The cortex of the rat: a stereotaxic atlas. pp 55-59, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1985
- 43) Chugani HT, Muller RA, Chugani DC: Functional brain reorganization in children. *Brain Dev* 18 : 347-356, 1996
- 44) Zagrebelski M, Rossi F, Hawkes R, Strata P: Topographically organized climbing fibre sprouting in the adult rat cerebellum. *Eur J Neurosci* 8 : 1051-1054, 1996

(9. 11. 26 受稿)