

【第103回生涯教育講座】

上皮管腔組織の器官形成と組織形成の解析

おお たに ひろき
大 谷 浩

キーワード：上皮管腔組織，器官形成，組織形成

要 旨

我々の身体には、発生初期に神経管として形成が始まる中枢神経系、消化器系およびそこから派生する呼吸器系、それらとは別個に発生する泌尿器系および生殖系系、さらに循環器系など、上皮で裏打ちされた多くの管腔構造が存在し、我々の生命を支えている。筆者らが研究を進めている分岐型の発生過程を示す肝臓、膵臓、肺などの「実質」臓器も、実は上皮管腔組織から伸び出し、分岐と伸長を繰り返して形成される。したがって、これら多様な上皮管腔組織の形成、維持とその破綻には、基本的な共通メカニズムと臓器特異的なメカニズムが働いているはずである。それらのうち、特に上皮管腔組織の器官形成と組織形成のメカニズムについて、現在進めている研究の一端を紹介する。

はじめに

当教室では、生活習慣病の素因が胎生期に形成されるとの Barker 仮説について、生理機能を支える全身臓器の組織形成過程における、たとえば腎臓におけるネフロンのような機能構造的単位の総数が、各臓器の中で、さらに全身の臓器の間でどのように調節されているかという観点から解析を継続して進めている¹⁾²⁾。一方で、視点を変えると、我々の身体には、発生初期に神経管として形成が始まる中枢神経系、消化器系およびそこから派生する呼吸器系、それらとは別個に発生する泌尿器系および生殖系系、そして心臓・脈管系など、

上皮で裏打ちされた多くの管腔構造が存在し、我々の生命を支えている。発生初期に単純な管状構造であった各器官系は、内腔拡大、伸長や折れ曲がりなどを経て大まかな形づくりをし（器官形成）、その後、壁を構成する細胞が分化して管腔の壁自体の中に層構造を形成する（組織形成）。さらに、上記のように生命を支えている肝臓や腎臓などの「実質」臓器も、実は上皮管腔組織から出芽して、その後伸長・分岐を繰り返して、おびただしい数の機能構造的単位を作り出す（組織形成）ことによって形成される。これらの臓器の器官形成および組織形成およびその維持には、上皮管腔組織としての基本的に共通したメカニズムと、各組織に特有のメカニズムが存在するはずである。

このような観点から、当教室では国内の共同研究者と連携して上皮管腔組織の分子レベルから臓

Hiroki OTANI

島根大学医学部解剖学講座発生生物学

連絡先：〒693-8501 出雲市塩冶町89-1

器・器官, さらに個体レベルまでの一貫・連続した理解を深めるため, 文科省科研費新学術領域研究「上皮管腔組織の形成・維持と破綻における極性シグナル制御の分子基盤の確立 (略称: 上皮管腔組織形成)」(<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molbiobc/tubulology/>)を進めており, その中で当教室は, 計画研究の一つ「器官・組織形成期の発生異常に基づく上皮管腔組織形成障害」(<http://shimane-u-developmental-biology.jp/>)を担当している。本稿では, この計画研究の中から, 主に消化管の器官形成, および組織形成の基礎となる幹細胞の増殖調整機構について, 進行中の研究の一端を紹介する。

ヒト胎生期の概要

以前にもご紹介したが¹⁾, 以下の議論をご理解いただくため, まずヒト胎生期の概要について説明する。ヒト胎生期は大きく4つに区分される。まず受精後着床までの1週間弱の間に, 後の胚自身となる胚結節 (内細胞塊) と, 胎盤の形成に与

る栄養膜が分化する。次の着床後早期 (受精後約2から3週) には, 胚結節に分化が始まって三胚葉が分化し, 同時に身体の座標軸 (体軸) が決定する。3番目は器官形成期 (受精後約3から8週) と呼ばれ, 前の時期にできた座標軸に沿って, 身体のおおまかな形作りが起こる (図1)。図1は, いわゆる京都コレクションに属する器官形成期のヒト胚子の標本である。同コレクションは, 筆者の恩師故田中修島根医科大学教授を含む故西村秀雄京都大学名誉教授のグループにより蒐集された数万体もの日本人ヒト胚子・胎児からなり, 筆者自身も最後の何十体かを蒐集した。本稿で紹介するものを含めて当教室におけるヒト胚子・胎児に関する研究は, 全て同コレクションに基づいている。外形的な特徴の組み合わせにより Carnegie stage と呼ばれる発生段階が, 器官形成期の終わりまでに23段階設定されており, 実にダイナミックな形態変化をとげて, この時期の終わりにはヒトとしての外形的特徴とともに, 内部の臓器・器官もおよその形が整い, またほぼ成人と同じ位置

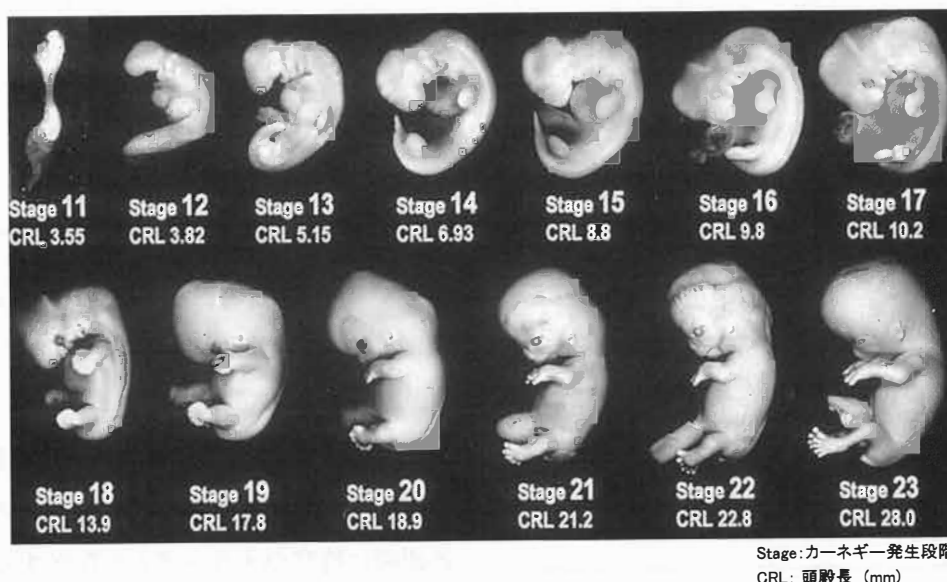


図1 器官形成期の正常な日本人ヒト胚子 (京都コレクション)
Stage: Carnegie stage, CRL: 頭殿長 (crown-rump length, mm).

に配置されるようになる。この形作りの時期に遺伝および環境要因により何らかの障害が胚子におよぶと、形作り(形, 大きさ, 位置, そもそも有るか無いかなど)の異常, すなわち奇形が生じる。

最後の組織形成期(受精後約9週から出産まで, 実際には組織形成は出生後もしばらく続く)には, 各臓器に特徴的な様々な細胞種が分化して, 組織の構築化が進む。そしてこの過程で, 生後我々の身体で働くことになる様々な機能が次第に成熟する。この時期は普通胎児期と呼ばれ, 身長増加など, サイズの増大のみが強調されがちである。しかし, 例えば腎臓では, 器官形成期中に成人とほぼ同じ外形が形成されるが, 組織形成期になって初めて, 腎小体および尿細管からなる腎臓の機能構造的単位であるネフロン(腎単位)の組織構築の形成が始まる。このような生後の内臓の機能に直結する妊娠後期の組織形成について, 各臓器内における細胞分化, およびネフロンなど機能・構造的ユニット自体の形成機構については, 近年目覚しく研究が進展している。一方, 成人の腎臓はネフロンの集合体であり, それらユニットの総数は我々の腎機能(予備能を含む)そのものに直結・比例する。ネフロンの総数は, ヒトでは胎生後期に決定することが知られており, 従って生後の腎機能・予備能の基本はすでに出生前に決定されることになる。ところが, ネフロンの数には1.5倍から3倍以上に及ぶ個体差が存在すると報告され, 京都コレクションの当教室での胎児解剖例でも, サイズ(頭殿長)がほぼ同じ胎児において腎臓のサイズ(ネフロン総数におよそ比例する)に最大数倍にも及ぶ大きな変異があることがわかっている¹⁾。このことは, これらの臓器機能の予備能に大きな個人差があり, かつそれが, 臓器により異なるが, 出生前あるいは最も遅くても生

後数歳までの組織形成期中に決まることを示唆する。同じ生活習慣を維持していても, 早々に臓器不全すなわち生活習慣病になってしまう人と臓器に十分な予備能を残したまま天寿を全うする人がいる可能性があるということ, あるいは, 同様な病理過程を経ても顕性疾患に至る時期に有意の差が生じる可能性があるということ, そしてそれらの違いが組織形成期中に基本的に決定するということである。しかし, それらの数の調節・決定機構はまだ全く明らかになっていない。当教室では, 教室から栄転された金沢医大八田稔久教授, 滋賀医大宇田川潤教授の教室とも連携して, その調節機構の一つとして神経・免疫・内分泌ネットワークの形成とそれによる全身の臓器・器官における組織形成の調節機構について, 数理解析法を加えつつ解析しており¹⁾, 得られた成果を順次誌上発表している³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾。

十二指腸の器官形成における「新知見」

さて本稿の本題に戻り, まず上皮管腔組織の器官形成(形づくり)の例として, 十二指腸に関する所見を紹介し, 尿管との比較についても言及する。

ヒト胚子の腸管ははじめ単純な管状をしているが, Carnegie stage 16から17にかけて, 胃の拡大と中腸(将来の十二指腸を含む上腸間膜動脈の流域)の著しい伸長が起こる。この中腸の伸長は体幹(腹腔)の拡大をはるかに超えるため, いわゆる生理的臍ヘルニアが正常に起こる(図2)。図2はCarnegie stageを決定する基準となったCarnegie Collection正常ヒト胚子の連続切片を精密に3次元再構築して得られたものであり, ヒト胚子の臓器の大きさや形, 割合などを正確に伝える貴重な図である⁷⁾⁸⁾。この時期の十二指腸の正

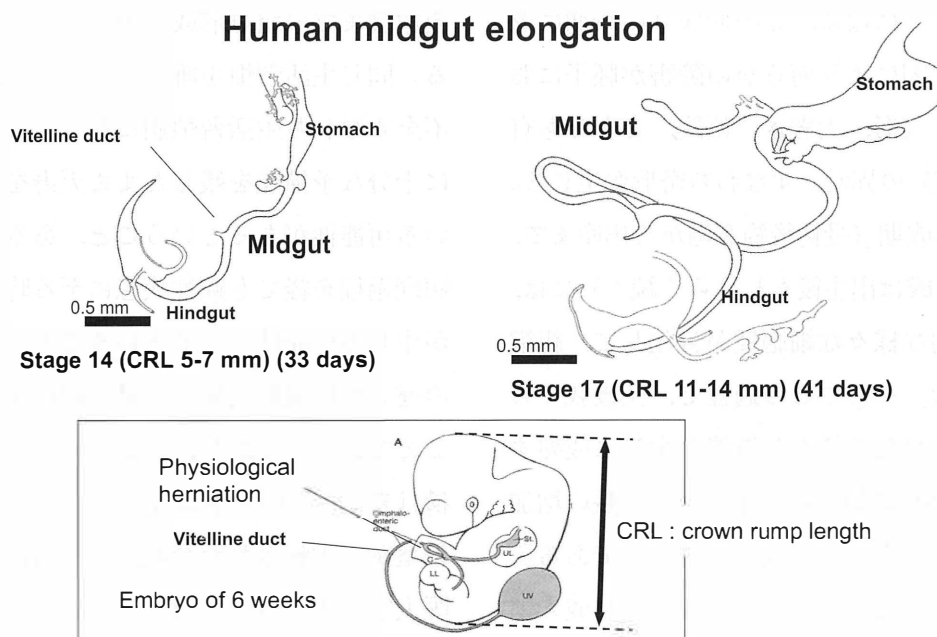


図2 ヒト胚子腸管の器官形成における中腸の伸長

Carnegie stage 14-17 にかけて、中腸が著しく伸長するため、生理的臍ヘルニアが起こる⁷⁸⁾。
Stage: Carnegie stage, CRL: 頭殿長 (crown-rump length, mm)。

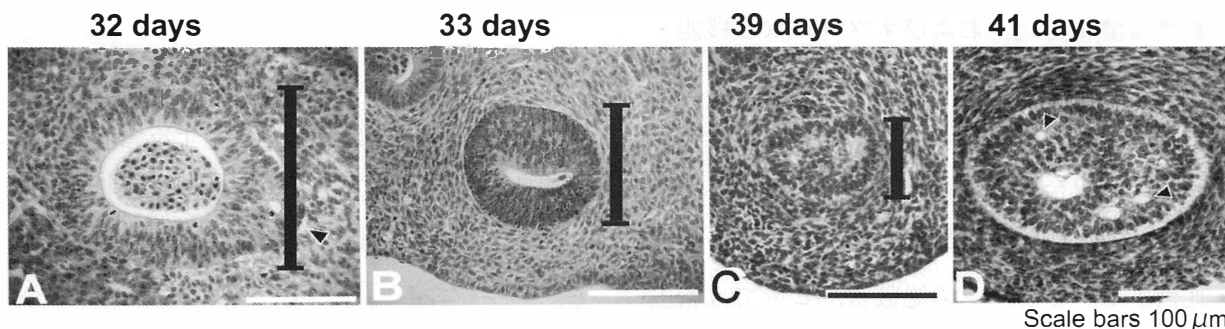


図3 京都コレクションヒト胚子中腸(十二指腸)の横断面組織像

内腔が一時的に閉鎖する過程で外径が短縮して、再開通する過程で拡大していることがわかる⁹⁾。

常発生過程において、内腔が一度閉鎖し、しばらくすると再開通するという興味深い現象が、古くから知られていた。発生学の教科書では、この現象が起こるメカニズムについて、上皮細胞が増殖して内腔を詰めて、その後上皮細胞に細胞死が起こり、再開通すると記載されていた(いる)。しかし、京都コレクション中でこの現象が起こる時期の複数の胚子の連続水平断切片を詳しく観察し

たところ、その解釈は誤りであることが分かった⁹⁾。この内腔の一時的閉鎖と再開通の前後で、細胞増殖や細胞死が特に増えることはなく、実際には、まず内腔が閉鎖する過程では、各切片(横断面)内にある十二指腸の径が小さくなり、構成する上皮細胞の数が少なくなっていた(図3)。この所見は、この時期の十二指腸で収斂伸長(convergent extension: CE)と呼ばれる発生現

象が起こっていることを示唆した(図4)。収斂伸長とは、細胞が管腔の中心軸に向かって再配置される(極性・方向性を持って移動する)ことにより、全体として太く短い管腔構造が細く長い形に変わる現象である。例えば、着床後早期に体軸が決定する過程で、最初太く短かった脊索が、細く長く伸びることで我々の前後軸が決まるのが収斂伸長の例であり、このように発生過程のいくつかの重要な局面で働くことが知られている。実際、図2のCarnegie stage 17の図を見直してみると、Carnegie stage 14に比べて、頭殿長(座高に相当)が約2倍増大して胃が著しく拡大しているのに比べて、十二指腸は確かに臍ヘルニアを起こすほど伸長しているが、径に関しては太くなるどころか、むしろ部分的には細くなっていることがわかる。つまり肉眼的にも収斂伸長があることが示唆される。しかし、この図は著者や我々自身も含めて多くの研究者が見ていたはずだが、我々が組織学的な検討を行って、その所見から見直すことによって、「初めて」太くならずむしろ細くなっていることが認知された。実は、上述の組織所見自体も何度も何度も繰り返し同じ切片を観察している中で、正にある瞬間に「気がついた」ものだった。教科書に古くから記載されているということは、多くの先人も同様に十二指腸の切片を詳細に観察し、それに基づいて「上皮細胞増殖と細胞死」の仮説を立て、またそれを長く信じて疑わなかったということである。「発見」とはそのようなもので、実は全ての答えは厳然と存在しており、だからこそ我々は生まれ、育ち、病を得、死んでいくのだが、単に我々の目が節穴であり、あるいは方法論が不足しているため、その中で奇跡的に働いている精妙な現象の多くを、まだ我々は見逃がしているのだと痛感した一事であった。一

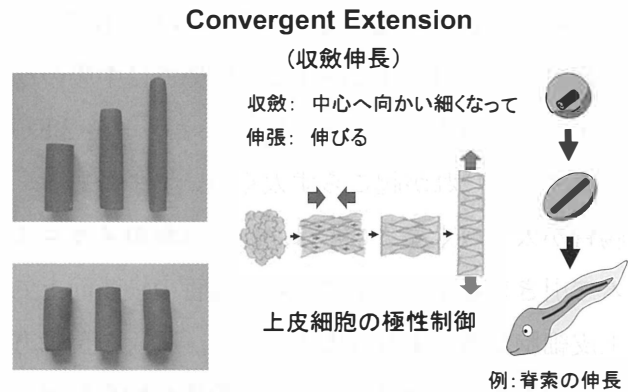


図4 収斂伸長 (Convergent extension)

左図のように、粘土を足したり引いたりすることなく、単に中心軸に向かう力を加えるだけで、太く短い形から細く長い形へ変化する。細胞レベルでは、細胞数が変わらなくても(増殖や細胞死がなくても)軸へ向かうという方向性のある(極性のある)細胞の再配置により同様の形の変化が起こる。代表的な例として、脊索の伸長が挙げられる。

方、再開過程では、確かに細胞死が観察されたが、切片(横断面)内の十二指腸の径は拡大して細胞数も増大しており、絶対数的に細胞が死ぬことが、内腔に「穴をあける」機構ではないことが示唆された。この「新知見」は、新しい発生学の欧文教科書に紹介された¹⁰⁾。

ヒトから得られた十二指腸上皮組織の収斂伸長を示唆する所見について、前述の新学術領域研究の一つとして、神戸大学の南康博教授との共同で、マウスを用いて実験的に証明することができた¹¹⁾。Wnt 5a という成長因子と、そのチロシンキナーゼ型受容体 Ror 2 を介したシグナルが細胞の極性のある移動に関わることが知られており、南教授の研究室で Ror 2 の標的遺伝子破壊(ノックアウト: KO) マウスを作成されたところ、顔面や四肢の短縮などの異常所見が観察された。そこで Ror 2 KO マウスの腸管について、当教室で詳細に解析したところ、腸管も正常(野生型マウス)に比べて太くかつ短縮しており、そのため生理的

ヘルニアが起こらないことが分かった (図5)。妊娠11日から11.5日にかけて野生型では中腸のうち十二指腸部が伸長して細くなるが、Ror2 KO マウスではこれが起こらず太く短いままである。腸管が太く短くなることは、いくつかのメカニズムで引き起こすことができる。腸管の横断面上で上皮細胞が増殖すれば太くなるし、腸管の長軸方向に沿った細胞増殖が減るか細胞死が増えれば、長さは短くなる。また、個々の細胞の大きさが断面方向や長軸方向に変化すれば、径や長さも変化するし、細胞分裂の方向が横断面に対して平行か垂直かによっても変わる。これらの全てについて、Ror2 KO マウスと野生型を比較したが、両群に有意差は見られなかった。最後に細胞の分布の変化について詳しく調べたところ、十二指腸部の径が減り長くなるという変化に対応して、野生型では上皮細胞の分布が変化しているのに対して、

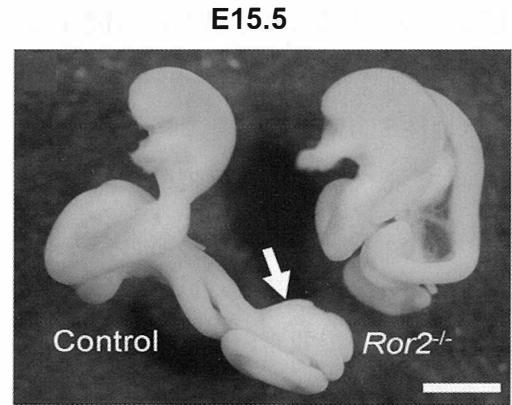


図5 Ror2 ノックアウトマウス (KO) 胎児 (右) と野生型マウス胎児 (左) (胎齢15.5日) の腸管
野生型に生理的臍ヘルニアが観察されるのに対して、Ror2 KO では腸管の短縮のためヘルニアが起こっていない¹¹⁾。

Ror2 KO マウスでは、そのような分布の変化が見られなかった (図6)。このことから、ヒト胚子で示唆されたように、器官形成期に十二指腸が収斂伸長機構によって細長くなるという形態変化

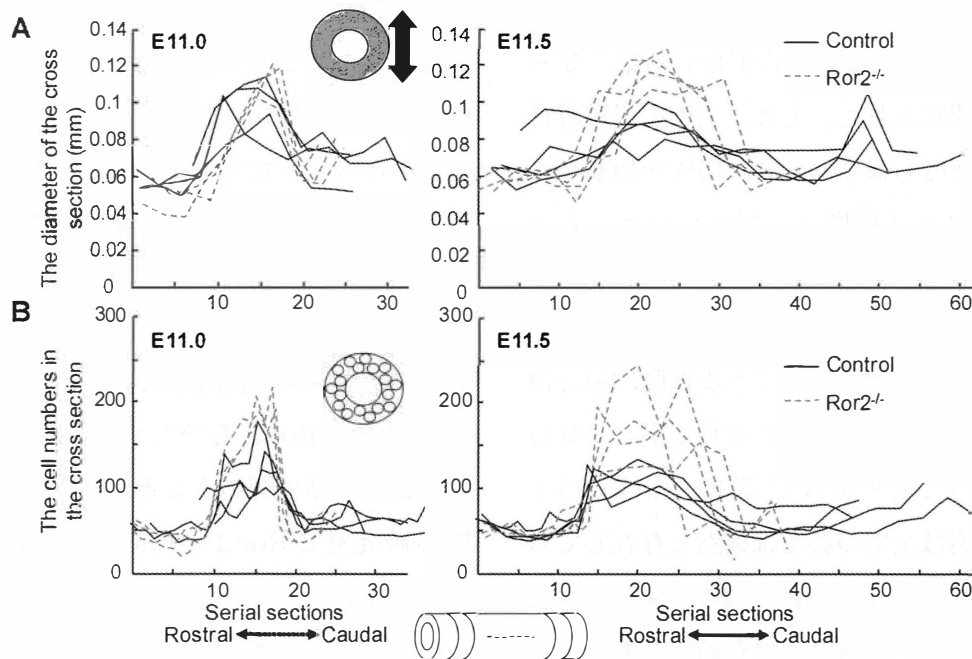


図6 Ror2 ノックアウトマウス (KO) 胎児 (点線) と野生型マウス胎児 (実線) (胎齢11.0日: 左, 11.5日: 右) の、中腸の外径 (上) と横断面内の細胞総数 (下)

横軸は、中腸の連続横断切片を吻側から尾側に順に並べており、切片数が中腸全体の長さを表す。野生型では11.0日で中腸の太い部分が11.5日で細くなり、腸管が伸びていて、細胞数の分布がそれに対応して変化しているが、Ror2 KO ではそのような変化が見られない¹¹⁾。

を起こすこと、そしてその機構に Ror2 受容体を介したシグナルが関わることが明らかとなった¹¹⁾。

消化管に加えて、発生母体の胚葉が異なる泌尿器系に属する尿管についても、我々は基本的に同様の所見を得ている。我々の腎臓は、最初骨盤中にあるが、器官形成中に急速に相対的な位置上昇が起こり、成人(獣)と同じ位置に置かれるようになる。この機構も未だ解明されていない。ここでは概要にとどめるが、この腎臓の「上昇」にも尿管の上皮組織における収縮伸長が関わることが、我々のヒトおよびマウスの観察から示唆されている。

十二指腸と神経管の初期組織形成に共通した幹細胞増殖調節機構

上述の中腸の発生に関する論文の中で、上皮細胞の極性についても「新知見」を報告している¹¹⁾。まず、器官形成期中の中腸を含む消化管の光学顕微鏡観察から、従来教科書や論文では、消化管の上皮は「重層上皮」であると記載されてきた。一見すると、上皮組織の管腔面(頂表面)から結合組織と接する基底膜側(基底面)の間の異なる位置にある核が見えるため、「重層」と考えるのは自然である(図7)。しかし筆者は、京都コレクションヒト胚子の光顕および電顕観察から、胃の上皮が重層ではなく実は偽重層であり、本質的には「単層」であると以前から報告していた¹²⁾。つまり、全ての上皮細胞が突起により、頂表面と基

The pseudostratified epithelium of the midgut of mouse embryos at E11.5

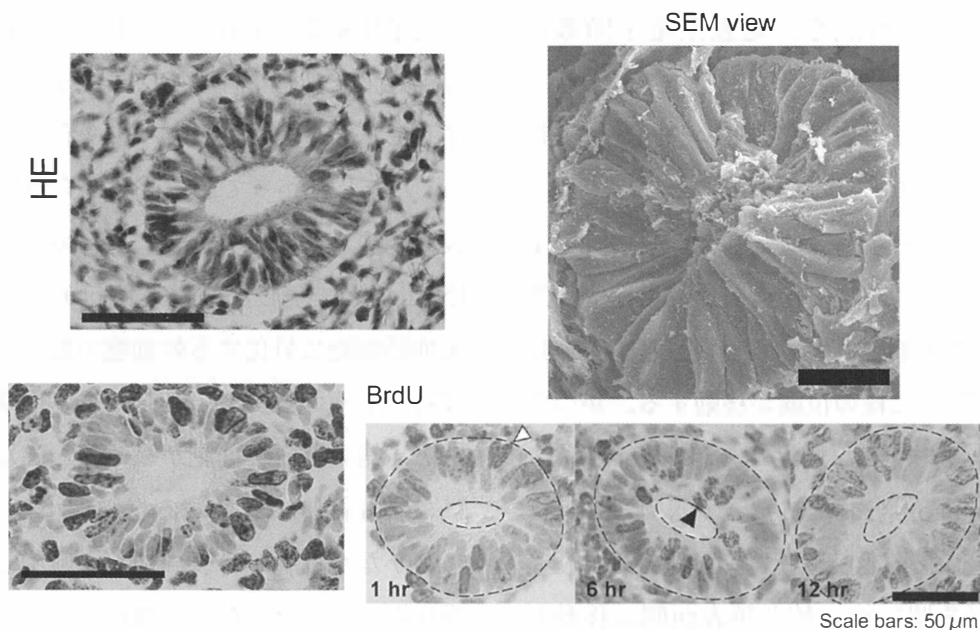


図7 マウス胎児(胎齢11.5日)の中腸横断面

HE染色やBrdU免疫染色では、重層のように見えるが、走査電顕(SEM)(右上)で立体的に観察すると、実は単層(偽重層)であることが分かる。BrdUは基底膜側にあるS期の細胞核に取り込まれ、経時的に観察すると、その後核が頂表面側に移動し、さらにその後また基底膜側に移動しているように見える(右下)。これは神経管で観察される interkinetic nuclear migration と類似している。

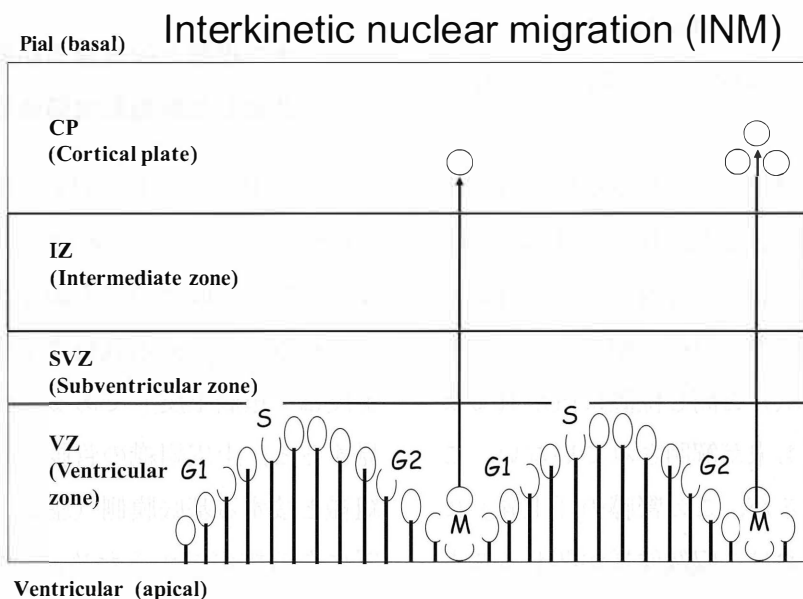


図8 神経管脳室帯 (ventricular zone) の神経上皮細胞における細胞周期と同期した細胞核の移動 (interkinetic nuclear migration: INM)¹³⁾¹⁴⁾

底面の両方に達しているが核の位置が様々であるため、光学顕微鏡による組織切片観察では突起は見え位置の異なる核が見え、「重層」と判断されていたのである。この論文でもまず、中腸上皮が単層であるという点を、走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察により再確認した (図7)。一方、器官形成期における上皮管腔組織の一つである神経管は外胚葉由来であり、典型的な偽重層上皮であることが古くから知られ、なぜ神経管の神経上皮細胞が「偽重層」となるかについても研究が進んでいる。神経幹細胞に当たる神経上皮細胞では、細胞周期と同期して核の位置が移動する、かつては「エレベーター運動」、近年では interkinetic nuclear migration (movement) (INM) と呼ばれる現象が起こる (図8)¹³⁾。基底側で DNA 複製を行った (S 期) 後、核が頂表面側に移動し (G2 期)、頂表面で分裂し (M 期)、次の周期へ向けてまた基底側へと核が戻っていく (G1 期)。このように分裂して娘細胞を生み出すことにより幹細胞が増えていく一方、娘細胞の一部は細胞周

期から離れ、脳室帯 (ventricular zone) から皮質板 (cortical plate) などに移動して、ニューロンやグリアへと分化していく。マウスでは、このような神経上皮細胞の INM による分裂は11回で終了することが分かっており、それまでに全ての神経上皮細胞が幹細胞を生み出す分裂周期を終了して、ニューロンなどへの分化の過程に進んでいく¹⁴⁾。したがって、1回目から11回目までの分裂周期のいつ、どの程度の割合の神経上皮細胞が INM から離脱して分化へと向かうかにより、将来神経細胞に分化する幹細胞の数が決まることになる。早くから多くの細胞が細胞周期から離脱すると、結果残る幹細胞が減ることとなり、最終的には神経細胞の数は減る (脳が小さくなる)。逆になかなか細胞が分裂周期から離脱せずに分裂を繰り返すと、それだけ幹細胞のプールが大きくなるので、最終的な神経細胞数は多くなる (脳が大きくなる)。つまり、このタイミングの調節が、脳の神経細胞数の最初の段階の調節に関わることになる (脳ではその後大量の細胞死が起こるため、

最終的な脳の神経細胞数には直結しないが)。

さて、では神経管とは異なり内胚葉由来だが、同様に偽重層である中腸の上皮はどうだろうか。筆者は京都コレクションヒト胚子の中腸の切片を観察した際、分裂中期像が内腔に接してのみ存在することに気づき、神経管に観察された INM が中腸でも働いているのではないかと考えた。核酸の類似体の bromodeoxyuridine (BrdU) は、DNA 合成期に複製中の DNA に取り込まれるため、これを取り込んだ細胞を免疫染色で観察することができる。BrdU を妊娠マウスに投与すると、直ちに発生中の胚に移行して S 期の細胞に取り込まれる。投与後まもなく BrdU は代謝されて消えるため、投与時に S 期にあった細胞核が BrdU を取り込み、その後どのような挙動を示すか、経時的に追跡できる。すると、中腸でも神経管と同

様に経時的な核の移動が観察され (図 7), INM が起きていることが示唆された。そこで、さらに詳細に細胞核の位置移動を調べて、上皮細胞の核の位置の分布をヒストグラムに表し、さらにそのヒストグラムを多次元尺度構成法 (multidimensional scaling) を用いて解析することにより、確かに上皮細胞の核が周期性を持って基底側から頂表面側、頂表面側から基底側へと移動することを証明した (図 9)¹⁵⁾。しかし、全ての細胞が INM を示す神経管に比べて、中腸では少なくとも見かけ上全ての細胞核が移動していないように見える。さらに中胚葉由来の尿管でも類似の上皮細胞核の移動現象を認めたが、完全な周期性は認められなかった。このように INM は、外胚葉由来の神経管上皮のみならず、内胚葉由来の中腸上皮、中胚葉由来の尿管上皮にも共通して起こる

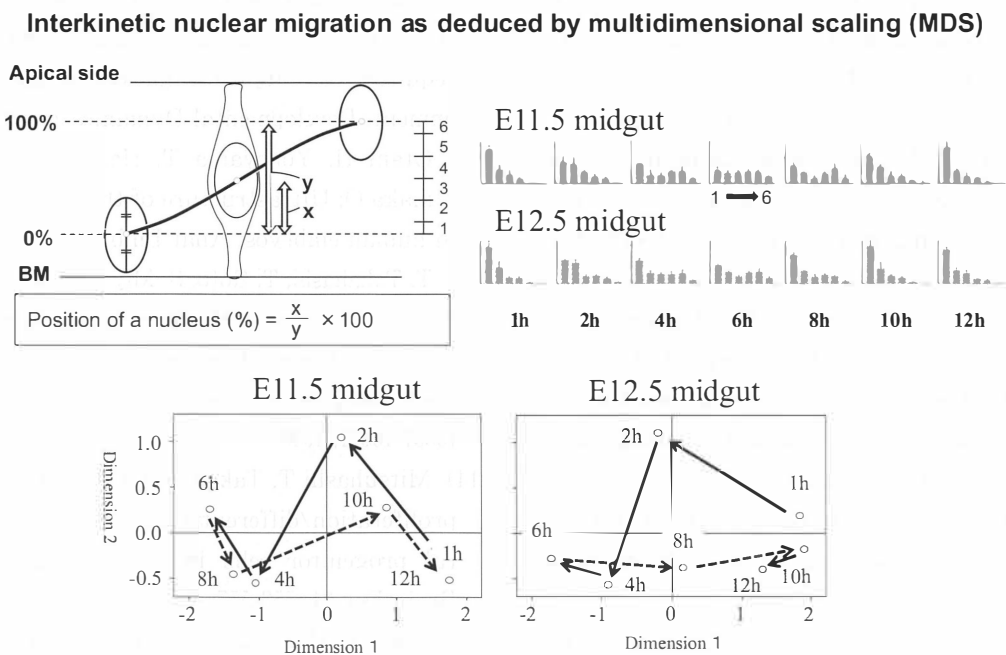


図 9 マウス胎児の中腸における上皮細胞核の分布変化の解析による interkinetic nuclear migration の証明

胎齢11.5日、または12.5日にBrdUを投与してS期の上皮細胞の核を標識し、核が頂表面から基底面まで6層に分けてどこに位置しているか、経時的に分布の変化を調べた (右上のヒストグラム)。これらの各時点の6つのヒストグラムを6次元ベクトルとみなして多次元尺度構成法で解析すると、これらのベクトル間の互いの類似性が2次元平面での距離で示され、核の分布が周期性を持って変化している (INM が起きている) ことを視覚的に表すことができる (下の図)¹⁵⁾。

基本的な現象であること、しかしその様相は各器官によりかなり異なることが示唆された。INMは、神経上皮では上述のように組織形成の基礎となる神経幹細胞の増殖と分化の調節に関わることが明らかとなっているが、では腸管や尿管では同様の機能を果たしているのか。幹細胞の増殖と細

胞数の調節に関わることは、現象自体から考えて間違いないものと思われる一方、それが具体的にその後の組織形成にどのように関係するのか、幹細胞数の調節を介した最終的な機能構造的ユニットの総数の調節への関与を含めて、今後の解析により立証、説明していく必要がある。

参 考 文 献

- 1) 大谷 浩, 生活習慣病の素因としての全身臓器の組織形成の解析 -臓器の組織形成と疾病素因-. 島根医学 28: 266-279, 2008
- 2) Otani H, Udagawa J, Hatta T, Kagohashi Y, Hashimoto R, Matsumoto A, Satow F, Nimura M: Individual variation in organ histogenesis as a causative factor in the developmental origins of health and disease: Unnoticed congenital anomalies? *Congenit Anom* 50: 205-211, 2010
- 3) Udagawa J, Yasuda A, Naito K, Otani H: Analysis of the harmonized growth pattern of fetal organs by multidimensional scaling and hierarchical clustering. *Congenit Anom* 50: 175-185, 2010
- 4) Simamura E, Shimada H, Higashi N, Uchishiba M, Otani H, Hatta T: Maternal leukemia inhibitory factor (LIF) promotes fetal neurogenesis via a LIF-ACTH-LIF signaling relay pathway. *Endocrinology* 151: 1853-1862, 2010
- 5) Kawamoto M, Udagawa J, Hashimoto R, Matsumoto A, Yamada M, Nimura M, Otani H: Adrenocorticotrophic tumor cells transplanted into mouse embryos affect pancreatic histogenesis. *Congenit Anom* 51: 62-69, 2011
- 6) Simamura E, Shimada H, Shoji H, Otani H, Hatta T: Effects of melanocortins on fetal development. *Congenit Anom* 51: 47-54, 2011
- 7) O'Rahilly R, Müller F: *Developmental stages in human embryos*. Carnegie Institution of Washington Publication 637, 1987.
- 8) O'Rahilly R, Müller F: *Human Embryology & Teratology*. 3rd edition. Wiley-Liss, 2001.
- 9) Matsumoto A, Hashimoto K, Yoshioka T, Otani H: Occlusion and subsequent re-canalization in early duodenal development of human embryos: integrated organogenesis and histogenesis through a possible epithelial-mesenchymal interaction. *Anat Embryol* 205: 53-65, 2002
- 10) Larsen's Human Embryology. 4th ed. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH 2008. (邦訳: カラー版 ラーセン人体発生学 第4版, 仲村, 大谷監訳) 西村書店, 2013.
- 11) Yamada M, Udagawa J, Matsumoto A, Hashimoto R, Hatta T, Nishida M, Minami Y, Otani H: Ror2 is required for midgut elongation during mouse development. *Developmental Dynamics* 239: 941-953, 2010
- 12) Otani H, Yoneyama T, Hashimoto R, Hatta T, Tanaka O: Ultrastructure of the developing stomach in human embryos. *Anat Embryol* 187: 145-151, 1993
- 13) T. Takahashi, T. Goto, S. Miyama, R.S. Nowakowski, V.S. Caviness Jr.: Sequence of neuron origin and neocortical laminar fate: relation to cell cycle of origin in the developing murine cerebral wall. *J Neurosci* 19: 10357-10371, 1999
- 14) Mitsunashi T, Takahashi T: Genetic regulation of proliferation/differentiation characteristics of neural progenitor cells in the developing neocortex. *Brain Dev* 31: 553-557, 2009
- 15) Yamada M, Udagawa J, Hashimoto R, Matsumoto A, Hatta T, Otani H: Interkinetic nuclear migration during early development of midgut and ureteric epithelia. *Anat Sci Int* 88: 31-37, 2013