

論文の内容の要旨

論文題目 The role of Foxp2 in thalamic patterning during development
(発生期の視床パターン形成における Foxp2 の役割)

氏名 蛭子 はるか

視床は脳の中心部に位置し、ほぼ全ての脳皮質への入力の中継する重要な神経核である。実際、視床の機能障害は感覚障害などの重篤な臨床症状を示す。視床の内部には小区画である視床核が多く存在し、視床核はそれぞれ対応する情報を脳皮質へ中継する。例えば、後腹側 (VP) 核は体性感覚情報を、外側膝状体 (LGN) は視覚情報を脳皮質へ伝達する。このような視床内の視床核群は脳皮質機能に重要であることから、本研究では発生過程において視床内の視床核群の形成を制御する分子メカニズムに焦点を絞って研究を行った。

発生過程初期にはまず視床という領域の決定が行われる。視床の周囲には、腹側視床 (prethalamus)、視床下部、視床上部などが存在しており、まずこれらの周囲に存在する領域と視床との分離が行われ、視床という領域が決定する。続いて、決定した視床の内部に VP 核や LGN などの多くの視床核が分化してくる。この視床の内部で視床核が分化するプロセスは視床パターン形成と呼ばれている。

視床と周囲に存在する神経核とを区別する分子メカニズムについてはこれまで多く解析されてきた。例えば、ホメオドメイン型転写因子 Otx2 は視床の形成に必要であり、またジンクフィンガー型転写因子である Fezf1, Fezf2 は視床と腹側視床の形成に重要である。これに対して視床パターン形成を制御するメカニズムについては未だ大部分が不明であることから、本論文では視床パターン形成を制御する分子メカニズムの解析を行った。本論文において私はフォークヘッド型転写因子 Foxp2 に着目し、Foxp2 が視床パターン形成および視床皮質投射を制御していることを示す。

1) Foxp2 は発生中の視床で発現強度の勾配を持つ。

視床核への分化は胎生 12 日齢 (E12) から E16 までに進行するという報告があったことから、免疫組織化学法を用いて E14 視床原基における Foxp2 の発現分布を検討した。その結果、視床原基における Foxp2 の発現強度の勾配を見出した。Foxp2 の発現は視床の後側で最も高く、視床の前側では低かった。更に、*in situ hybridization* 法を用いて Foxp2 mRNA の発現分布を検討した結果、同様の発現強度の勾配が観察された。

2) 機能不全型 **Foxp2** は中間の視床核の拡大と後側の視床核の縮小をもたらす。

視床原基の前側から後側にかけて **Foxp2** の発現が強くなっていたことから、**Foxp2** の前後軸方向への発現勾配が視床パターン形成を制御するという仮説を設定した。即ち **Foxp2** 発現量が少なければ前側の視床核になり、多ければ後側の視床核になるとの仮説を立てた。

この仮説を検証するために、機能不全型 **Foxp2** を発現する **Foxp2(R552H)**ノックインマウスを入手し、視床パターン形成を分子マーカーを用いて解析した。その結果、**Foxp2(R552H)**ノックインマウスで **cadherin6** および **EphA8**, **Calb2** 陽性領域である後側の視床核が縮小していたが、前側の視床核の大きさに変化はなかった。そこで、前側の視床核と後側の視床核のあいだに位置する中間の視床核のマーカーである **Gbx2** および **Lhx2** の発現を解析した結果、両者の発現が **Foxp2(R552H)**ノックインマウスで拡大していることを見いだした。この結果は、**Foxp2** が視床核の個性決定を制御する重要な遺伝子であることを示唆している。

3) **Foxp2** は視床皮質軸索投射のパターンを制御する。

Foxp2(R552H)ノックインマウスで視床パターンが変化していたことから、視床皮質軸索投射も変化している可能性があると考えた。**Foxp2(R552H)**ノックインマウスで拡大していた中間の視床核の神経細胞は前頭前皮質へと投射する。そこで、神経トレーサー **DiI** を生後 6 日齢(P6)に前頭前皮質に注入し、逆行性に中間の視床核を標識した。その結果、予想通り逆行性標識された **DiI** 陽性領域は **Foxp2(R552H)**ノックインマウスの視床で拡大していた。次に、**Foxp2(R552H)**ノックインマウスで後側の視床核が縮小していたことから、後側の視床核が投射する一次体性感覚野から逆行性標識される領域もまた **Foxp2(R552H)**ノックインマウスで減少している可能性があると考えた。そこで、P13 で **DiI** を一次体性感覚野へ注入し、逆行性に後側の視床核を標識した。その結果、**Foxp2(R552H)**ノックインマウスで一次体性感覚野へ投射する視床領域は減少していた。これらの結果は **Foxp2** が視床の遺伝子発現パターンのみでなく、視床皮質軸索投射のパターンも制御することを示唆する。

4) 視床内の **Foxp2** が視床パターン形成に重要である。

Foxp2(R552H)ノックインマウスでは視床以外にも全身の **Foxp2** に変異が入っているため、**Foxp2(R552H)**ノックインマウスで見いだされた視床パターンの変化が、視床内の **Foxp2** によるものか、もしくは視床以外の **Foxp2** の異常による間接的な影響か区別ができなかった。そこで、子宮内電気穿孔法を利用して視床内で **Foxp2** をノックダウンした。その結果、**Foxp2** ノックダウン個体で視床パターン形成は変化し、視床内の **Foxp2** が視床パターン形成に重要であることが示唆された。

<考察・特徴的な点>

本研究において、発生過程における視床パターン形成に転写因子 **Foxp2** が重要な役割を担っていることが明らかとなった。本研究ではこれまでほとんど明らかでなかった視床パターン形成を制御する視床自律的なメカニズムを明らかにしたことが特徴的である。