

Mini Review

軸索ガイダンス分子 Robo1 の大脳皮質形成における役割

権田 裕子^{1, 4)}, 花嶋かりな^{2, 3, 4)}

抄録：大脳皮質は脳の高次機能において中心的な役割を果たし、その層構造や神経回路形成不全はさまざまな発達障害・精神疾患を引き起こす。近年の研究により、軸索ガイダンス分子として知られる Robo1 が大脳皮質の神経回路形成においても重要な機能を担うことが示唆されてきた。私たちは、発生期大脳皮質の第 2/3 層錐体細胞において Robo1 発現を抑制すると、神経細胞移動障害ならびに配置異常と形態異常を引き起こし、Robo1 が大脳皮質錐体細胞の最終配置決定と層形成、先端樹状突起の形態形成に重要な分子であることを明らかにした。本稿では Robo1 研究について最新の知見を紹介しながら、Robo1 を介した大脳皮質神経回路形成機構について考察したい。

日本生物学的精神医学会誌 31 (2) : 98-105, 2020

Key words : cerebral cortex, pyramidal neuron, axon guidance, lamination, migration

はじめに

知覚・思考・記憶といった脳の高次機能には、大脳皮質が重要な役割をもち、その構造は多様な形態を示す神経細胞が規則正しく配列した 6 層構造からなる。大脳皮質を作る神経細胞は、脳の深部にある側脳室表面の脳室帯で生み出され、その後、脳の表層まで移動する。この層構造は、早生まれの細胞ほど大脳皮質の内側に位置し、遅生まれの細胞はその表層側へと配置されるインサイド・アウトパターンを示し、特定の層に配置された神経細胞は、他の層の細胞や周辺の組織との相互作用により、情報を特定の部位へと伝達する。発生期に神経細胞の移動が障害されると、大脳皮質の層構造や神経核の形成に異常が生じ、適切な神経細胞との接続ができない

ため、正しい神経回路が形成されない。てんかんや精神遅滞、発達障害などは、これらのことが原因となり引き起こされると考えられている^{5, 27, 36, 41)}。

近年、増加傾向にあると言われている発達障害はいくつかのタイプに分かれており、学習障害の 1 つとして、ディスレクシア (dyslexia) がある。ディスレクシアは知能面での遅れがなく、視覚や聴覚にも障害がないにもかかわらず、文字の読み書きや音韻化などに障害がある疾患である^{18, 45)}。その原因として先天性の脳機能障害が示されており^{16, 28, 43, 50)}、通常は使用しない右半球の言語中枢領域の使用や左半球下前頭回の活動をさらに増強させることで脳の情報処理を行っているため^{30, 37, 46)}、文字の読み書き・読み誤りが多くなると考えられている。双子研究や親子間の研究から^{32, 42, 47)}、遺伝が一つの要因と考え

受理日：2020 年 3 月 16 日

The role of Robo1 in the formation of the cerebral cortex

1) 東京医科大学 組織・神経解剖学分野 (〒160-8402 東京都新宿区新宿 6-1-1) Yuko Gonda : Department of Histology and Neuroanatomy, Tokyo Medical University. 6-1-1, Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8402, Japan

2) 早稲田大学 教育・総合科学学術院 (〒169-8050 東京都新宿区戸塚町 1-104) Carina Hanashima : Faculty of Education and Integrated Arts and Sciences, Waseda University. 1-104, Totsukamachi, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8480, Japan

3) 早稲田大学 先進理工学研究所 生命理工学専攻 生命システム分野 (〒169-8050 東京都新宿区戸塚町 1-104) Carina Hanashima : Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University. 1-104, Totsukamachi, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8480, Japan

4) 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター 大脳皮質発生研究チーム (〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 2-2-3) Yuko Gonda, Carina Hanashima : Laboratory for Neocortical Development, RIKEN Center for Developmental Biology. 2-2-3, Minatojima-minamimachi, Chuo-ku, Kobe 650-0047, Japan

【権田 裕子 E-mail : gonda@tokyo-med.ac.jp】

【花嶋かりな E-mail : hanashima@waseda.jp】

られており、これまでにいくつかのディスレクシアの原因遺伝子が同定されている^{18, 42, 45)}。本稿では、その中の1つである軸索ガイダンス分子 Robo1 について紹介する。

1. 軸索ガイダンス分子 Robo

Robo はショウジョウバエの交連軸索投射異常を示す変異体のスクリーニングから発見⁹⁾された1回膜貫通型受容体の1つであり、リガンドの Slit が Robo の細胞外領域の免疫グロブリン様ドメインに結合することにより²⁵⁾、細胞内にシグナルを伝達することが知られている⁷⁾。Robo 変異体では、通常は1度だけ正中線を交差する交連軸索が何度も正中線を交差することから、roundabout (robo) と名づけられた⁴⁴⁾。Robo は線虫からヒトまで保存されている分子で、脊椎動物では4つのサブファミリー (Robo1/DUTT1, Robo2, Robo3/Rig-1, Robo4/Magic roundabout) が同定されている^{22, 23, 52)}。Robo-Slit を介したシグナル伝達は脊椎・無脊椎動物の中樞神経系の発生と発達過程において重要な役割を果たしており、軸索誘導以外にも細胞移動^{1, 2, 4, 20, 53)}、細胞接着^{38, 39)}、細胞極性³⁴⁾や細胞骨格^{6, 10)}などのさまざまな生物学的現象や細胞内の構造を調節している。

2. ヒトの疾患と ROBO

ヒトの脳発達においても、Robo-Slit シグナル伝達は重要な役割を果たしている。先で少し述べたように、Robo1 はディスレクシアの原因遺伝子の1つと考えられており、患者群では染色体転座による ROBO1 遺伝子の欠失もしくは発現減少が報告されている¹⁹⁾。さらに、自閉症患者群での血中 ROBO1, ROBO2 遺伝子発現の減少や他のサブファミリーである ROBO3, ROBO4 の一塩基多型と自閉症の関連性が報告³⁾されていることから、発達障害と ROBO の発現には密接な関係があると考えられる。

自閉症患者では、神経伝達物質のセロトニン量が変化しているといわれており^{12, 13, 24)}、セロトニンは哺乳類の発達期において、神経細胞の形態⁴⁸⁾やシナプス可塑性¹⁵⁾、神経活性⁴⁰⁾、神経成熟^{8, 48)}に重要であることが知られている。通常、マウス大脳皮質では第IV層にセロトニンが豊富に局在し、セロトニントランスポーター欠損マウスではセロトニンが完全消失して、体性感覚野のパレル構造が消失することが報告されている³³⁾。セロトニン量の減少は不安

や行動にも影響を生じることが示されており^{11, 21)}、近年、生後間もない時期からセロトニン量が減少している自閉症モデルマウスを用いた研究より、発達期のセロトニン量の変化が自閉症の社会性行動障害に関与することが明らかとなった²⁹⁾。臨床で使用されている抗うつ薬などの向精神薬には、セロトニントランスポーターの阻害作用を持つものが多いが、ショウジョウバエを用いた研究で Robo がセロトニントランスポーターの発現を調節することが示されている¹⁴⁾。

3. 大脳皮質での Robo1 の発現

では、大脳皮質に Robo の発現は認められるのだろうか？結論から述べると、Robo1 から Robo4 まですべてのサブファミリーが発現時期や発現する層は異なるが大脳皮質に発現している^{1, 4, 26, 51, 53)}。特に古くより見いだされた Robo1, Robo2 の脳内での発現パターンに関しては、放射性同位物質を使用した解析から非放射性物質を用いた *in situ hybridization* 法による解析まで、多くの論文が存在している^{1, 26, 51)}。しかしながら、これまでの論文では大脳皮質の層構造での発現パターンが明瞭でないこともあり、私たちはジゴキシゲニン (digoxigenin: DIG) を用いた *in situ hybridization* 法を用いて、発生期マウス大脳皮質での Robo1 mRNA の時空間的発現様式を確認した。その結果、Robo1 の発現は発生の早い段階から認められ (胎生 12.5 日目)、生後 1 日目になると層特異的な発現パターン (第 2/3 層の上部、第 5 層、第 6 層に発現) を示し¹⁷⁾、これまでの報告^{1, 26, 51)}と一致して、Robo2 は Robo1 の発現していない層に発現していた。興奮性神経細胞は側脳室の脳室面から誕生し、脳表面へと向かう radial migration で移動するのに対して、抑制性神経細胞は大脳基底核原基より誕生し、tangential migration により横方向へ移動する。このことを考慮すると、Robo1 mRNA を発現する神経細胞の層が、次第に脳表面へと移動する発現パターンを示すことから、Robo1 は抑制性神経細胞のみならず錐体細胞にも発現することが推測された。その後、生後 7 日目以降は発現が顕著に低下するが、この時期は第 2/3 層の神経細胞の軸索が脳梁を通過し反対側の大脳皮質へ投射される時期と重なるため、Robo1 の発現時期と脳梁の形成には因果関係があることが考えられた (権田ら、未発表データ)。

さらに、Robo1 タンパク質の局在を確認したところ、胎生 15 日目では大脳皮質の中間帯 (intermediate

zone:IMZ) に強い発現が認められ、皮質板 (cortical plate: CP) では弱い発現がみられる。この時期の IMZ には、皮質遠心性軸索、視床皮質性軸索や移動中の抑制性細胞、錐体細胞などが混在しているため、大脳皮質の脳梁交連ニューロン (callosal projection neuron) のマーカーである Satb2 と共染色をしたところ、IMZ と CP に存在する移動途中の Satb2 発現細胞に Robo1 の発現が認められた。このことから、Robo1 は予測されたように、脳梁交連ニューロンに発現していることが明らかとなった。実際、Robo1 ノックアウトマウスの脳梁を観察すると、本来、反対側へ延びるはずの軸索が脳梁を超えずに同側の腹側へと向かう様子が認められる²⁾。また、私たちは大脳皮質神経細胞の primary culture を行い、軸索末端に Robo1 が発現することも確認している (権田ら、未発表データ)。

4. 細胞移動における Robo1 の役割

大脳皮質は、約 80% の興奮性神経細胞と約 20% の抑制性神経細胞から形成され、興奮性神経細胞はさらに錐体細胞 (すべての層に分布) と spiny stellate cell (第 4 層に分布) に分類される。これらの神経細胞が、特異的な場所で誕生し、目的地に移動することで、機能的な大脳皮質が形成される。Robo の大脳皮質の細胞移動における研究は、これまで抑制性神経細胞を対象とした研究^{1, 2, 4, 20)} が多く報告されており、Robo1 ノックアウトマウスを用いた研究からは、抑制性神経細胞の細胞増殖が増して、大脳皮質中の細胞数が増えることが報告されている¹⁾。しかし、錐体細胞についてはまったく不明であったため、私たちは検討を行うことにした。

初めに、抑制性神経細胞の研究で使われた Robo1 マウスと同じ系統¹⁾ を用いて、成体での大脳皮質層構造へ与える影響について検討した。上層の錐体細胞のマーカーで染色を行い、錐体細胞の数を確認したところ、細胞数自体に変動は認められなかった。しかし、第 2/3 層の厚さが通常よりも薄くなっており、その結果、細胞密度が増加していることが確認された。このことは、Robo1 が上層の神経細胞、特に第 2/3 層の神経細胞の分布に重要な分子であることを推測させる。そこで、私たちは第 2/3 層特異的に Robo1 の役割を検討するために、第 2/3 層神経細胞の誕生時期である胎生 15.5 日目に *in utero* エレクトロポレーション法を用いて、蛍光色素と Robo1-shRNA を遺伝子導入し、Robo1 発現抑制による影響について検討することにした。通常、

胎生 15.5 日にラベルされた神経細胞は、生後 1 日目で辺縁帯 (marginal zone: MZ) 直下にたどり着き、移動を停止する。しかし、Robo1 発現抑制細胞では、神経細胞の移動に遅れが認められた。さらに、細胞周期 S 期の増殖細胞に取り込まれる EdU (5-Ethynyl-2'-deoxyuridine) と Robo1-shRNA 遺伝子導入の併用実験を行い、胎生期の神経細胞が IMZ から CP へと入るタイミングの遅れが原因で、大脳皮質錐体細胞の移動に遅れが生じていることが明らかとなった。

現在、Robo1 以外にも Robo4 が錐体細胞に発現し、その発現を抑制することで神経細胞の移動が障害されることが知られている⁵³⁾。この錐体細胞の細胞移動には、Robo リガンドの 1 つである Slit2 が重要な役割をしていると思われる⁵³⁾ (権田ら、未発表データ)。

5. Robo1 の層構造形成へ与える影響

発生期の細胞移動の遅れは、生後、脳回・脳溝のない滑脳症や異所性灰白質などさまざまな疾病を導くことが知られている。しかし、私たちが見いだした胎生期 Robo1 発現抑制細胞の移動の遅れは、生後 4 日目には回復し、野生型と同様にほとんどすべての神経細胞が MZ 直下にたどり着く。さらに興味深いことに、通常、生後 1 週間では第 2/3 層に広く分布する神経細胞が、第 2/3 層上部に特異的に配置され、生後 2 週間経ってもその状態が存続するため、Robo1 は大脳皮質の層形成に重要な分子であると考えられる。

大脳皮質における錐体細胞の分布は、遅生まれの神経細胞が深層に配置され、早生まれの神経細胞が上層に配置されるインサイド・アウトパターンを示すことが知られている。この層形成に影響を与える分子として、MZ に局在するカハール・レチウス細胞が分泌する reelin 分子が有名であり、reelin を欠損させた *reeler* マウスでは皮質構造が逆転することが知られている³¹⁾。しかし、これまで、軸索ガイダンス分子が生後の大脳皮質の層構造形成に影響を与えるという報告は存在しないため、Robo1 の層構造形成に与える影響について検討することにした。

私たちのこれまでの研究から、第 2/3 層錐体細胞は、主に胎生 15.5 日目と胎生 16.5 日目に誕生し、早生まれの神経細胞 (胎生 15.5 日目) は深層に、遅生まれの神経細胞 (胎生 16.5 日目) は表層に配置されるため、それぞれの誕生時期に異なる蛍光色素と Robo1-shRNA を遺伝子導入して、層構造形成

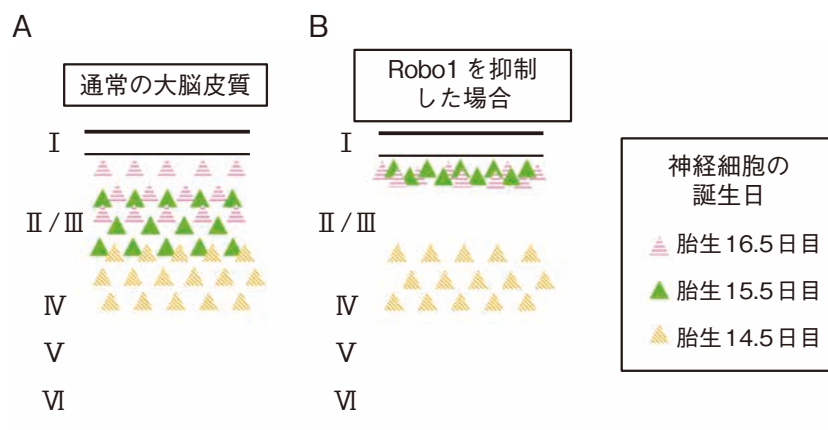


図 2 大脳皮質上層の神経細胞における Robo1 の影響

A : 通常の大脳皮質における神経細胞の分布

胎生 14.5 日目～胎生 16.5 日目生まれの神経細胞に、*in utero* エレクトロポレーション法で蛍光色素を遺伝子導入すると、図のように、早生まれの細胞ほど深層に、遅生まれの細胞ほど浅層に配置される。

B : Robo1 発現を抑制した時の神経細胞の分布

胎生 15.5 日目、胎生 16.5 日目生まれの神経細胞で Robo1 発現を抑制すると、神経細胞は辺縁帯直下に蓄積する。一方、Robo1 発現の低い胎生 14.5 日目生まれの神経細胞で Robo1 発現を抑制すると、配置異常は認められない。

の可視化を行った。コントロール群では、胎生 15.5 日生まれの神経細胞は第 2/3 層の深層に、胎生 16.5 日生まれの神経細胞はより上層に配置されることを確認した。一方、胎生 15.5 日、16.5 日目ともに Robo1 発現を抑制した神経細胞では、先に移動してきた神経細胞は CP 表層に密集し、後から移動してきた神経細胞はその合間に配置されていた。これにより、Robo1 ノックアウトマウスでみられた組織構造と同様に、薄く、高密度の第 2/3 層が形成され、正常なインサイド・アウトパターンの層構造を形成していないことが明らかとなった (図)。以上のことから、軸索ガイダンス分子 Robo1 は層構造形成に重要な分子であるといえる。

6. Robo1 発現と細胞形態

Robo1 発現の項で述べたように、*Robo1* mRNA は第 5 層全体に発現し、第 2/3 層では上部にしか発現が認められないため、第 2/3 層よりも第 5 層の方が *Robo1* mRNA の発現レベルが視覚的に高い。そこで、私たちは第 2/3 層神経細胞で Robo1 発現量を上げた場合、細胞の形態にどのような変化をもたらすかを検討した。第 2/3 層神経細胞で Robo1 を過剰発現させると、それらの神経細胞は Robo1 が強く発現する第 5 層へはシフトせず、第 2/3 層に局在しながら、通常はみられない線条体への軸索

投射が増加する。これらのことから、Robo1 の発現レベルは、層特異的な細胞サブタイプの軸索投射の制御に重要であると考えられた。

さらに、興味深いことに、私たちは第 2/3 層錐体細胞の軸索のみならず、apical 側の神経突起の部分 (leading process) にも Robo1 発現を確認した。leading process が将来的に樹状突起へと変化するかは未だ不明な点が多いが、軸索ガイダンス分子が軸索のみならず、樹状突起形成にも重要な分子であることが予測されたため、私たちは第 2/3 層神経細胞の樹状突起における影響についても確認した。

これまで *in vivo* 実験で、第 5 層錐体細胞の Robo1 阻害を行うと、apical 側の神経突起の長さや分枝が減少し、樹状突起形成が貧弱になることが報告されている⁴⁹⁾。私たちの *in vivo* 実験では、生後 4 日目まで錐体細胞の形態に変化は認められず、生後 8 日目になると apical 側の神経突起数が顕著に多くなり、神経突起の伸長や分岐に異常をきたすことが確認された。この細胞形態は、第 4 層に分布する spiny stellate cell に類似しており、実際に第 4 層では Robo1 発現が認められないことを考慮すると、Robo1 発現と樹状突起形成には関連があることが推測されるため、現在さらに解析を進めている。

まとめ

ディスレクシアの原因遺伝子と考えられている *Robo1* は、マウスモデルにおいても神経細胞の移動調節に重要な役割を持つことが示された。*Robo1* 発現抑制による細胞移動障害自体はその後補正されるものの、神経細胞の配置異常は生後も保持される。このことからディスレクシアなどの発達障害は、神経細胞の移動よりも配置異常・細胞形態に起因している可能性が示された。

これらの表現型は、第2/3層神経細胞がMZ直下へ移動した後、生後4日目～8日目で生じてくることから、この間のMZ直下での分子相互作用が関わっていることが予測された。胎生期の脳皮質には、*Robo* 受容体のリガンドである *Slit1*, *Slit2*, *Slit3* のすべてが発現しているため⁴⁹⁾、筆者らは *Slit1*, *Slit2*, *Slit3* の各ノックアウトマウスと *Slit1/Slit2/Slit3* トリプルノックアウトマウスを用いた解析³⁵⁾を行い、このうち *Slit2* が細胞分布に関与している可能性を見いだしている(権田ら、未発表データ)。また本論文で示したように、*Robo1* 発現抑制細胞は生後に顕著な細胞形態の異常、特に、先端樹状突起(apical dendrite)の形成に異常が認められることから、樹状突起の形態異常が細胞分布に影響している可能性も考えられる。興奮性神経細胞は先端樹状突起の有無により、錐体細胞と spiny stellate cell の形態が区別されるため、*Robo1* による先端樹状突起の形態形成メカニズムを解明することは、大脳皮質の層特異的な神経細胞の形態形成、さらには神経細胞同士の接続や神経回路形成の解明へとつながるため、脳の高次機能を解明するうえで重要であると考えている。

おわりに

本研究におけるすべての動物実験は、国立精神・神経センター神経研究所および理化学研究所 発生・再生科学総合研究センターのガイドラインに従って行われた。著者に開示すべきCOIは存在しない。

文 献

- Andrews W, Barber M, Hernandez-Miranda LR, et al (2008) The role of Slit-Robo signaling in the generation, migration and morphological differentiation of cortical interneurons. *Dev Biol*, 313 (2) : 648-658.
- Andrews W, Liapi A, Plachez C, et al (2006) *Robo1* regulates the development of major axon tracts and interneuron migration in the forebrain. *Development*, 133 (11) : 2243-2252.
- Anitha A, Nakamura K, Yamada K, et al (2008) Genetic analyses of roundabout (ROBO) axon guidance receptors in autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 147B (7) : 1019-1027.
- Barber M, Di Meglio T, Andrews WD, et al (2009) The role of *Robo3* in the development of cortical interneurons. *Cereb Cortex*, 19 (suppl 1) : i22-i31.
- Bennett MR and Lagopoulos J (2015) Neurodevelopmental sequelae associated with gray and white matter changes and their cellular basis : A comparison between Autism Spectrum Disorder, ADHD and dyslexia. *Int J Dev Neurosci*, 46 : 132-143.
- Bernadskaya YY, Wallace A, Nguyen J, et al (2012) UNC-40/DCC, SAX-3/Robo, and VAB-1/Eph polarize F-actin during embryonic morphogenesis by regulating the WAVE/SCAR actin nucleation complex. *PLoS Genet*, 8 (8) : e1002863.
- Blockus H and Chédotal A (2016) Slit-Robo signaling. *Development*, 143 (17) : 3037-3044.
- Borella A, Bindra M and Whitaker-Azmitia PM (1997) Role of the 5-HT1A receptor in development of the neonatal rat brain : preliminary behavioral studies. *Neuropharmacology*, 36 (4-5) : 445-450.
- Brose K, Bland KS, Wang KH, et al (1999) Slit proteins bind Robo receptors and have an evolutionarily conserved role in repulsive axon guidance. *Cell*, 96 (6) : 795-806.
- Chen CH, Hsu HW, Chang YH, et al (2019) Adhesive L1CAM-Robo signaling aligns growth cone F-actin dynamics to promote axon-dendrite fasciculation in *C. elegans*. *Dev Cell*, 48 (2) : 215-228.
- Chen K, Holschneider DP, Wu W, et al (2004) A spontaneous point mutation produces monoamine oxidase A/B knock-out mice with greatly elevated monoamines and anxiety-like behavior. *J Biol Chem*, 279 (38) : 39645-39652.
- Chugani DC, Muzik O, Behen M, et al (1999) Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children. *Ann Neurol*, 45 (3) : 287-295.
- Chugani DC, Muzik O, Rothermel R, et al (1997) Altered serotonin synthesis in the dentatohalamo-cortical pathway in autistic boys. *Ann Neurol*, 42 (4) : 666-669.
- Couch JA, Chen J, Rieff HI, et al (2004) *robo2* and

- robo3 interact with eagle to regulate serotonergic neuron differentiation. *Development*, 131 (5) : 997-1006.
- 15) Edagawa Y, Saito H and Abe K (2001) Endogenous serotonin contributes to a developmental decrease in long-term potentiation in the rat visual cortex. *J Neurosci*, 21 (5) : 1532-1537.
- 16) Galaburda AM and Kemper TL (1979) Cytoarchitectonic abnormalities in developmental dyslexia : a case study. *Ann Neurol*, 6 (2) : 94-100.
- 17) Gonda Y, Andrews WD, Tabata H, et al (2013) Robo1 regulates the migration and laminar distribution of upper-layer pyramidal neurons of the cerebral cortex. *Cereb Cortex*, 23 (6) : 1495-1508.
- 18) Guidi LG, Velayos-Baeza A, Martinez-Garay I, et al (2019) The neuronal migration hypothesis of dyslexia : A critical evaluation 30 years on. *Eur J Neurosci*, 48 (10) : 3212-3233.
- 19) Hannula-Jouppi K, Kaminen-Ahola N, Taipale M, et al (2005) The axon guidance receptor gene ROBO1 is a candidate gene for developmental dyslexia. *PLoS Genet*, 1 (4) : e50.
- 20) Hernández-Miranda LR, Cariboni A, Faux C, et al (2011) Robo1 regulates semaphorin signaling to guide the migration of cortical interneurons through the ventral forebrain. *Neurosci*, 31 (16) : 6174-6187.
- 21) Holmes A, Murphy DL and Crawley JN (2003) Abnormal behavioral phenotypes of serotonin transporter knockout mice : parallels with human anxiety and depression. *Biol Psychiatry*, 54 (10) : 953-959.
- 22) Huminiecki L, Gorn M, Suchting S, et al (2002) Magic roundabout is a new member of the roundabout receptor family that is endothelial specific and expressed at sites of active angiogenesis. *Genomics*, 79 (4) : 547-552.
- 23) Kidd T, Bland KS and Goodman CS (1999) Slit is the midline repellent for the robo receptor in *Drosophila*. *Cell*, 96 (6) : 785-794.
- 24) Leboyer M, Philippe A, Bouvard M, et al (1999) Whole blood serotonin and plasma beta-endorphin in autistic probands and their first-degree relatives. *Biol Psychiatry*, 45 (2) : 158-163.
- 25) Liu Z, Patel K, Schmidt H, et al (2004) Extracellular Ig domains 1 and 2 of Robo are important for ligand (Slit) binding. *Mol Cell Neurosci*, 26 (2) : 232-240.
- 26) Marillat V, Cases O, Nguyen-Ba-Charvet KT, et al (2002) Spatiotemporal expression patterns of slit and robo genes in the rat brain. *J Comp Neurol*, 442 (2) : 130-155.
- 27) Miyamoto H, Tatsukawa T, Shimohata A, et al (2019) Impaired cortico-striatal excitatory transmission triggers epilepsy. *Nat Commun*, 10 (1) : 1917.
- 28) Müller-Axt C, Anwander A and von Kriegstein K (2017) Altered structural connectivity of the left visual thalamus in developmental dyslexia. *Curr Biol*, 27 (23) : 3692-3698.e4.
- 29) Nakai N, Nagano M, Saitow F, et al (2017) Serotonin rebalances cortical tuning and behavior linked to autism symptoms in 15q11-13 CNV mice. *Sci Adv*, 3 (6) : e1603001.
- 30) Norton ES, Beach SD and Gabrieli JD (2015) Neurobiology of dyslexia. *Curr Opin Neurobiol*, 30 : 73-78.
- 31) Ogawa M, Miyata T, Nakajima K, et al (1995) The Reeler Gene-Associated Antigen on Cajal-Retzius Neurons Is a Crucial Molecule for Laminar Organization of Cortical Neurons. *Neuron*, 14 (5) : 899-912.
- 32) Paracchini S, Scerri T and Monaco AP (2007) The genetic lexicon of dyslexia. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 8 : 57-79.
- 33) Persico AM, Mengual E, Moessner R, et al (2001) Barrel pattern formation requires serotonin uptake by thalamocortical afferents, and not vesicular monoamine release. *J Neurosci*, 21 (17) : 6862-6873.
- 34) Qian L, Liu J and Bodmer R (2005) Slit and Robo control cardiac cell polarity and morphogenesis. *Curr Biol*, 15 (24) : 2271-2278.
- 35) Rama N, Dubrac A, Mathivet T, et al (2015) Slit2 signaling through Robo1 and Robo2 is required for retinal neovascularization. *Nat Med*, 21 (5) : 483-491.
- 36) Ayala R, Shu T and Tsai LH (2007) Trekking across the brain : the journey of neuronal migration. *Cell*, 128 (1) : 29-43.
- 37) Raschle NM, Zuk J and Gaab N (2012) Functional characteristics of developmental dyslexia in left-hemispheric posterior brain regions predate reading onset. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109 (6) : 2156-2161.
- 38) Rhee J, Buchan T, Zukerberg L, et al (2007) Cables links Robo-bound Abl kinase to N-cadherin-bound beta-catenin to mediate Slit-induced modulation of adhesion and transcription. *Nat Cell Biol*, 9 (8) : 883-892.

- 39) Rhee J, Mahfooz NS, Arregui C, et al (2002) Activation of the repulsive receptor Roundabout inhibits N-cadherin-mediated cell adhesion. *Nat Cell Biol*, 4 (10) : 798-805.
- 40) Rhoades RW, Bennett-Clarke CA, Shi MY, et al (1994) Effects of 5-HT on thalamocortical synaptic transmission in the developing rat. *J Neurophysiol*, 72 (5) : 2438-2450.
- 41) Sato W, Toichi M, Uono S, et al (2012) Impaired social brain network for processing dynamic facial expressions in autism spectrum disorders. *BMC Neurosci*, 13 : 99.
- 42) Scerri TS and Schulte-Körne G (2010) Genetics of developmental dyslexia. *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 19 (3) : 179-197.
- 43) Schultz RT, Cho NK, Staib LH, et al (1994) Brain morphology in normal and dyslexic children : the influence of sex and age. *Ann Neurol*, 35 (6) : 732-742.
- 44) Seeger M, Tear G, Ferres-Marco D, et al (1993) Mutations affecting growth cone guidance in *Drosophila* : genes necessary for guidance toward or away from the midline. *Neuron*, 10 (3) : 409-426.
- 45) Snowling MJ and Melby-Lervåg M (2016) Oral language deficits in familial dyslexia : A meta-analysis and review. *Psychol Bull*, 142 (5) : 498-545.
- 46) Temple E, Deutsch GK, Poldrack RA, et al (2003) Neural deficits in children with dyslexia ameliorated by behavioral remediation : evidence from functional MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100 (5) : 2860-2865.
- 47) Veerappa AM, Saldanha M, Padakannaya P, et al (2013) Family-based genome-wide copy number scan identifies five new genes of dyslexia involved in dendritic spinal plasticity. *J Hum Genet*, 58 (8) : 539-547.
- 48) Vitalis T, Cases O, Passemard S, et al (2007) Embryonic depletion of serotonin affects cortical development. *Eur J Neurosci*, 26 (2) : 331-344.
- 49) Whitford KL, Marillat V, Stein E, et al (2002) Regulation of cortical dendrite development by Slit-Robo interactions. *Neuron*, 33 (1) : 47-61.
- 50) Williams VJ, Juranek J, Cirino P, et al (2018) Cortical thickness and local gyrification in children with developmental dyslexia. *Cereb Cortex*, 28 (3) : 963-973.
- 51) Yeh M, Gonda Y, Mommersteeg MTM, et al (2014) Robo1 Modulates Proliferation and Neurogenesis in the Developing Neocortex. *J Neurosci*, 34 (16) : 5717-5731.
- 52) Yuan SS, Cox LA, Dasika GK, et al (1999) Cloning and functional studies of a novel gene aberrantly expressed in RB-deficient embryos. *Dev Biol*, 207 (1) : 62-75.
- 53) Zheng W, Geng AQ, Li PF, et al (2012) Robo4 regulates the radial migration of newborn neurons in developing neocortex. *Cereb Cortex*, 22 (11) : 2587-2601.

■ ABSTRACT

The role of Robo1 in the formation of the cerebral cortexYuko Gonda^{1,4)}, Carina Hanashima^{2,3,4)}

- 1) *Department of Histology and Neuroanatomy, Tokyo Medical University*
- 2) *Faculty of Education and Integrated Arts and Sciences, Waseda University*
- 3) *Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University*
- 4) *Laboratory for Neocortical Development, RIKEN Center for Developmental Biology*

Roundabout (Robo) is one of the axon guidance molecules which has been identified to be expressed in layers II / III, V and VI in the developing neocortex. Studies have shown that reduced expression of Robo1 is associated with developmental disorders including autism and dyslexia, suggesting that the expression levels of Robo1 is crucial for neuronal differentiation and higher brain function. Over recent years, the roles of Robo1 in the developing neocortex has been examined using molecular and genetic approaches, highlighting its importance in the differentiation of cortical neurons and the formation of the cerebral cortical circuit. Suppression of Robo1 expression in the upper-layer pyramidal neurons reveal migration delay and ectopic localization of these neurons, where Robo1-suppressed neurons fail to establish the characteristic inside-out neuronal distribution. Morphologically, Robo1-suppressed neurons exhibit changes in their dendritic patterns, especially in the number of apical neurites. In this review, we will present an overview of the function of Robo1 in the developing neocortex and update our knowledge concerning the mechanisms by which a single receptor gene mediates pleiotropic roles in cortical circuit formation.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 31 (2) : 98-105, 2020)