軸索ガイダンス分子Draxinが担う脳神経回路形成機構

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-12-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 新明, 洋平 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/46104

【総説】

軸索ガイダンス分子Draxinが担う脳神経回路形成機構

Roles of an axon guidance protein Draxin in neural circuit formation

金沢大学医薬保健研究域医学系・脳神経医学
新　明　洋　平

は　じ　め　に

脳では膨大な数の神経細胞が精巧な神経回路網を形成している[1, 2]．この精巧な神経回路網は高次脳機能の構造的基盤であり，その形成メカニズムの解明は神経科学の重要研究課題である．この20年間に，Netrinを始めとする軸索ガイダンス分子とそれらの受容体が同定されたことにより軸索誘導の基盤となる分子メカニズムが解明された．さらに，遺伝子改変マウスを用いた個体レベルでの遺伝子機能解析から，脳神経回路形成における神経軸索ガイダンス分子の役割が明らかにされてきた．本稿では，我々が独自に発見した神経軸索ガイダンス分子Draxinの機能に着目して軸索ガイダンスの分子機構を概説する．

神経軸索ガイダンス分子

正確な神経ネットワークの形成には，発生期に神経軸索が正しい標的細胞に向かって伸長し，シナプス結合する必要がある．この神経軸索の誘導に関わる分子を神経軸索ガイダンス分子と呼ぶ．神経軸索ガイダンス分子の中には，分泌型タンパク質で拡散勾配を形成する遠距離作動性因子と，分泌されずに細胞表面で働く短距離作動性因子が存在する（図1）[3]．両者ともに誘引性と反発性の軸索ガイダンス分子が存在する（図2）．

神経軸索を標的細胞まで導く誘引物質の存在は，スペインの解剖学者Santiago Ramon Cajalによって1世紀以上も前から提案されていたが，そのような物質が存在するかどうかは長らく不明であった．1980年代に，神経培養系において特定の神経軸索を誘引する因子の存在を示めされ，その後，ニワトリ胚の脳から分泌型誘引因子であるNetrinが同定された[4]．Netrinは分泌型タンパク質であり，その受容体としては，ヒト大腸がんの腫瘍抑制因子であるDeleted in Colorectal Cancer (DCC) とUNC5がよく知られている[5]．成長円錐の反応性はこれら2種類の受容体の発現パターンに依存し，DCCのみでは誘引，DCCとUNC5が共発現し形質膜上で受容体ヘテロダイマーを形成すると反発を呈することが示されている．

Semaphorinは，ニワトリ後根神経節細胞の成長円錐を退縮させる因子として同定された[6]．その後，20種以上の分子が同定され，構造上の特徴から7つのクラスに分類されている．すべてのSemaphorinはN末端に約500アミノ酸から成るセマ領域と呼ばれる特徴的な配列を持つが，それ以外の領域は多様化しており，分泌型，膜貫通型，GPI結合型など様々なタイプが存在する．Semaphorinは，軸索の反発や伸長阻害分子として広く認知されているが，軸索誘引因子として機能する場合もある．Semaphorin受容体としては，NeuropilinとPlexinが同定されている．

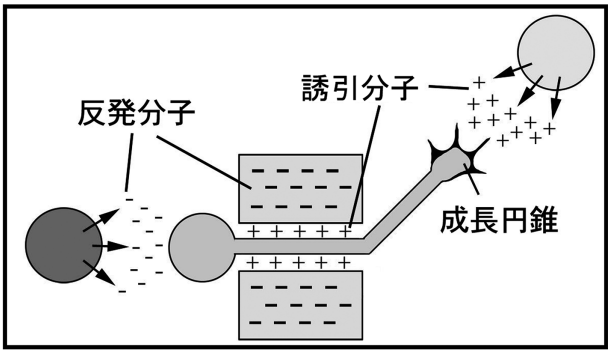

図1．神経軸索ガイダンスの基本メカニズム．
神経軸索の進路は，誘引性と反発性の軸索ガイダンス分子の働きによって決定される．

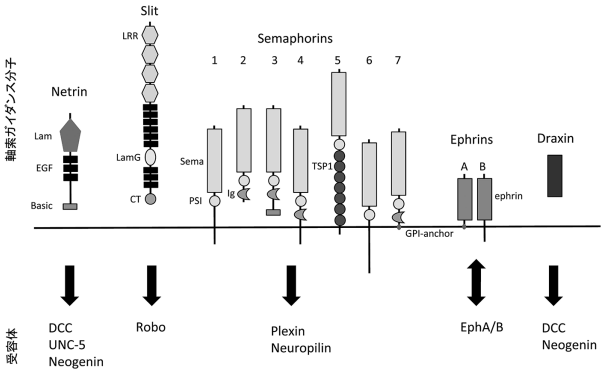

図2．軸索ガイダンス分子とその受容体
Lam, Laminin domain; EGF, EGF like repeat; Basic, basic domain; LamG, Laminin G domain; LRR, Leucine rich repeat; CT, cysteine terminal knot; Sema, Sema domain; PSI, plexin, semaphorin and integrin domain; Ig, Immunoglobulin domain; TSP1, Thrombospondin domain.

脳や脊髄などの様々な神経軸索に対して反発活性を持つ軸索ガイダンス分子にSlitがある[7]．Slitは，約1500アミノ酸残基から成る分泌型タンパク質であり，ロイシンリッチリピート，EGFリピート，ALPS (Agrin-Laminin-Perlecan-Slit spacer) 配列をもつ．Slitは受容体Roboを介してそのシグナルが伝達するが，脊椎動物においてはリガンド，受容体ともに3つの相同遺伝子が存在する．

Ephrinは，ニワトリ眼の網膜から脳の一次視覚中枢である視蓋 (マウスでは上丘に相当) への投射系において歴史的に良く研究されている軸索ガイダンス分子である[8]．EphrinにはGPI結合型と膜貫通型があり，それぞれEphrinAsとEphrinBsに区分されている．受容体であるEphは細胞内にチロシンキナーゼ領域をもち，受容体との特異性に基づいてEphAs (8種) とEphBs (6種) に分けられる．さらに，Eph/Ephrin のForward signalとは逆のReverse signalが (EphAがリガンドとして，EphrinAが受容体として機能する) 存在し，この双方向性の情報伝達により高度で複雑に軸索投射機構が制御されている．

新規神経軸索ガイダンス分子Draxinとその受容体の同定

我々は，新規軸索ガイダンス分子を同定するために膜タンパク質や分泌タンパク質のcDNAを選択的にクローニングするシグナルシークエンストラップ法を用いた分子探索を行った．その結果，既知の軸索ガイダンス分子とは全くホモロジーのない新規の分泌型軸索ガイダンス分子を見いだし，Draxin (Dorsal repulsive axon guidance protein) と命名した[9]．*Draxin*は，ニワトリ胚やマウス胚の脳から脊髄にいたる中枢神経系の背側に発現し，脳や脊髄の交連神経軸索に対して反発活性を持つ．例えば，ニワトリ胚脊髄にエレクトロポレーション法によりDraxinを過剰発現させると，脊髄交連神経軸索成長が阻害される．さらに，*Draxin*ノックアウトマウスでは大脳のすべての交連神経 (脳梁，海馬交連，前交連) において重篤な形成異常が観察された．これらの脳神経回路異常は，主要な軸索ガイダンス分子であるNetrin, Semaphorin, Slit, Ephrinなどの変異マウスの表現型と比べてもより重篤であることから，Draxinは脳神経回路形成に極めて重要な軸索ガイダンス分子であると考えられた．

次に，既知の軸索ガイダンス分子の受容体として知られている膜タンパク質がDraxin受容体としても機能すると考えた．そこで，既知の軸索ガイダンス分子の受容体タンパク質の中でノックアウトマウスの表現型が類似する分子群について，Draxinとの結合性を免疫沈降法により調べた．Slit受容体であるRobo1やSemaphorin 受容体であるNeuropilin1には結合しないが，Netrin受容体であるDCCと特異的に結合することが分かった[10]．*Dcc*ノックアウトマウスでは，*Draxin*ノックアウトマウスと同様にすべての大脳交連神経の形成不全が報告されており，これらの軸索投射においてDCCがDraxin受容体として機能する可能性が示唆された．両者の関係を*in vivo*で調べるために，ダブルヘテロマウスの大脳交連神経を解析した．それぞれのシングルヘテロマウスでは観察されない重篤な脳梁形成異常が，ダブルヘテロマウスにおいて高頻度に観察された．さらに，*Dcc*ノックアウトマウス由来の大脳皮質組織片 (脳梁神経を含む) では，野生型由来の神経細胞を用いた場合に比べて，Draxinの神経突起伸長阻害が低減した．これらの結果から，*Draxin*ノックアウトマウスにおける脳梁形成異常は，DCCを介したDraxinの反発活性の欠如により起こると考えられた．一方で，DraxinはDCCだけでなく，Netrin受容体として知られているUNC5, Neogenin, Dscamとも結合する．視床神経では，DCCとNeogeninがDraxin受容体として重要な役割を果たしていることが明らかになっている (後述)．

視床皮質軸索投射

大脳皮質は高次脳機能を司る器官であり，ヒトでは中脳や間脳を覆うほどの大きさを占める．大脳皮質では特徴的な細胞層が観察され，層構造に基づいた神経回路網が形成される．その神経回路は非常に複雑であるが，驚くほど精巧で美しい構造を持つ．例えば，第2/3層の神経細胞からの軸索は同側もしくは反対側大脳皮質 (脳梁) へ投射し，第4層は視床皮質軸索の投射を受ける入力層である．第5層には脳梁を形成するものと，内包を経由して上丘，橋，脊髄などの遠方領域へ投射する神経細胞が存在する．第6層とサブプレート神経の軸索は視床へ投射する．ここでは，視床皮質軸索投射に着目する．

哺乳動物において視床は嗅覚以外のあらゆる感覚情報 (体性感覚，痛覚，視覚，聴覚，味覚など) を大脳皮質へ送る中継地である．それぞれの感覚情報は視床核から生じる視床皮質軸索によって大脳皮質の特異的な領域に送られる[11]．視床皮質軸索は視床下部に向かって伸長を開始し，その後内包に向けてその伸長方向を変える．Slit1とSlit2のダブル変異マウスの解析から，視床下部と正中線に発現するSlitの反発活性がこの軸索ガイダンスに重要であることが示されている (図3A)．視床下部とは対照的に，腹側終脳は視床皮質軸索に対して誘引作用を有する．特に，Corridor細胞と名付けられた神経細胞が視床皮質軸索の走行に重要である[12]．Corridor細胞は外側基底核原基から生じ，視床皮質軸索に対して誘引活性をもつNeuregulin1を発現する (図3A)．このように腹側終脳は視床皮質軸索の中間標的部位として重要であるが，さらに視床皮質軸索のトポグラフィックな投射を最初に制御する領域でもある．トポグラフィクな投射とは，ある領域の神経細胞がお互いの相対的位置情報を保持した状態で標的領域の神経細胞に神経結合を形成することである．視床皮質軸索投射の場合，前後軸に沿ったトポグラフィクな投射パターンが観察される．例えば，外側腹側核から発する軸索は前頭皮質に投射し，外側膝状核から発する軸索は第一次視覚野に投射する．つまり，図3Bで示すように視床前部から生じる軸索は大脳皮質の前方領

域に，視床後部から生じる軸索は大脳皮質の後方領域に投射するというトポグラフィーが存在する．最初，腹側終脳に発現する転写因子Ebf1, Dlx1/2の変異マウスの解析から，大脳皮質に侵入前の腹側終脳に視床皮質軸索のトポグラフィックな投射を制御することが示された．その数年後に，EphrinA/EphAシグナルがこの過程に関わることが明らかにされた[13]．EphrinA5の受容体であるEphA3, EphA4, EphA7は背側視床において前部で高く，後部で低い勾配を持って発現する (図3B)．この発現勾配は，腹側終脳において後部で高く前部で低い発現を示すEphrinA5とは相補的な発現パターンである (図3B)．さらに，in vitroでの実験においてEphrinA5が反発分子として機能することから，EphA受容体を高発現する前部からの軸索は，EphrinA5を高発現する腹側終脳の後部領域を避けるように投射すると考えられる．実際，EphrinA5/EphA4のダブル変異マウスでは，視床前部からの軸索投射が腹側終脳において後方へシフトする．

Netrin1も，腹側終脳において濃度勾配 (前部で高く後部で低い) を持って発現する (図3B)[14]．Netrin1は，視床前部から生じる軸索に対しては誘引活性を持つ一方，視床後部から生じる軸索に対しては反発活性を示す．この反応性の違いは，上述の受容体分子の発現の差異によって生じる．背側視床においてDCCは前部に高く，後部に低い発現勾配を持つことから，視床前部から生じる軸索に対する誘引活性にNetrin1/DCCシグナルが重要であると考えられる．一方，Unc5A-Cは後部に強く発現することから，Netrin1/DCC/Unc5シグナルが視床後部から生じる軸索に対する反発活性を制御すると考えられる．

腹側終脳で分離された視床皮質軸索は，最終的には大脳皮質において特異的な領域に投射するように制御される．ラット胎児16日目の大脳皮質の前部領域を出生後のラット大脳皮質の後部領域に移植すると，外側腹側核と内側腹側核からの軸索が正常な標的である前頭部のみならず後方の移植領域へと投射される．このことから，大脳皮質には視床皮質軸索投射を制御する重要な因子が発現すると考えられる．重要なことに，大脳皮質に発現する分子の機能解析実験から，モルフォゲンであるFGF8が大脳皮質の領野形成に必要であることが示さている[15]．子宮内エレクトロポレーション法により異所的にFGF8を発現させると，後頭部において異所的なバレル野が誘導される．さらに，この異所的なバレル野形成は視床皮質軸索のトポグラフィックな投射にも影響を与える．このように視床皮質軸索のトポグラフィーは，腹側終脳に加えて大脳皮質に発現する因子によって制御される．

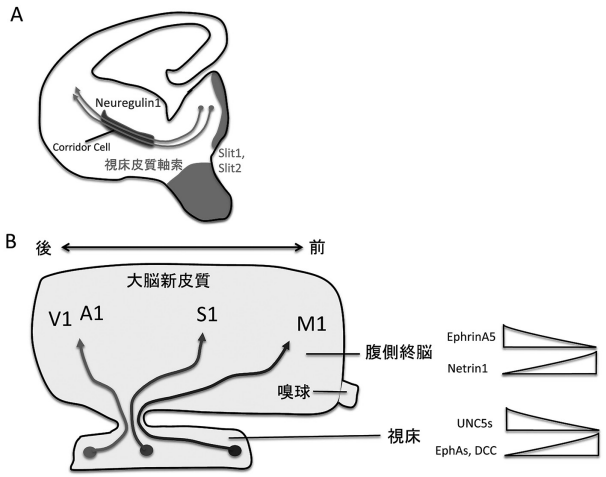

図3．視床皮質軸索投射機構．
(A) 視床皮質軸索投射に関わる神経軸索ガイダンス分子．Corridor Cellには誘引分子であるNeuregulin1が発現する．
(B) 視床皮質軸索のトポグラフィー形成に関わる神経軸索ガイダンス分子とそれらの受容体．EphrinA5とNetrin1は腹側終脳において反対の濃度勾配を持って発現する．
V1，一次視覚野；A1，一次聴覚野；S1，一次体性感覚野；M1，一次運動野．

視床皮質軸索投射におけるDraxinの役割

視床皮質軸索は内包を通過後大脳皮質に侵入するが，この過程には大脳皮質から内包に向かう皮質視床軸索が必須である．例えば，皮質下行性のパイオニア軸索をもつサブプレート神経を破壊すると視床皮質軸索の投射に異常が生じる．1990年に，英国のColin BlakemoreとZoltan Molnarらは，皮質視床軸索と視床皮質軸索が内包で出会った後に，お互いに軸索投射をガイドするというハンドシェイクモデルを提唱した[16]．その後，様々な転写因子 (Tbr1, Fez-like, Pax6, Gbx2, Emx2など) の変異マウスの解析から，皮質視床軸索と視床皮質軸索の投射がお互いに依存することが示唆され，ハンドシェイクモデルを指示する報告が数多くなされた．一方で，この軸索間相互作用の存在に否定的な報告もある．例えば，皮質視床軸索と視床皮質軸索は大脳皮質内の中間帯で異なる区画に存在するため，直接的に相互作用しないのではないかというものである．また，培養実験において皮質神経軸索と視床神経軸索の成長円錐が反発し合うことが観察されており，両者の軸索が引きつけ合うことを想定するハンドシェイクモデルには矛盾するように思われる．

最近になって，新たにハンドシェイクモデルを指示する2つの報告があった．英国のDavid J. Priceらのグループは，皮質視床軸索に異常を持つコンディショナルノックアウトマウスを作製し，そのマウスでは視床皮質軸索が大脳皮質に侵入できないことを示した[17]．これは，皮質視床軸索が視床皮質軸索投射に必須であることを示す直接的な証拠となった．仏国のSonia Garelらのグループは，反対に視床皮質神経を破壊すると皮質視床軸索投射に異常が生じることを観察し[18]，視床皮質軸索が皮質視床軸索の軸索投射に必須であることを示した．このように様々な実験結果からハンドシェイクモデルが指示されているが，この議論に決着をつけるためには，この軸索間相互作用に直接的に関わる分子の同定が必要であっ

た．最近，我々は皮質視床神経に発現するDraxinが対向する視床皮質軸索ガイダンスに重要であることを示し，Draxinがこの軸索間相互作用を担う分子実体であることを明らかにした[19]．

最初に視床皮質軸索投射におけるDraxinの重要性を調べるために，DiIトレース実験や免疫組織学的解析により*Draxin*ノックアウトマウスの表現型解析を行った．その結果，*Draxin*ノックアウトマウスの視床皮質軸索は重度の軸索ガイダンス異常を示し，それら軸索は大脳皮質へ侵入できないことが分かった (図4A)．視床皮質投射期におけるDraxinの発現パターンを調べたところ，Draxinが皮質視床神経を含む大脳皮質深層の神経細胞で高発現し，それ以外にも大脳腹側部と視床に弱いながら発現していた．大脳皮質に発現するDraxinが視床皮質軸索ガイダンスに重要であるかを調べるために，Cre依存的にDraxinを発現するトランスジェニックマウスを用いたレスキュー実験を行った．Emx1-Creマウスを用いて*Draxin*ノックアウトマウスの大脳皮質にDraxinを発現させると，その異常がほぼ完全にレスキューされ，多くの視床皮質軸索が大脳皮質に向かうことが観察された．この結果から，皮質視床神経に発現するDraxinが対向する視床皮質軸索ガイダンスに重要であることが示唆された．

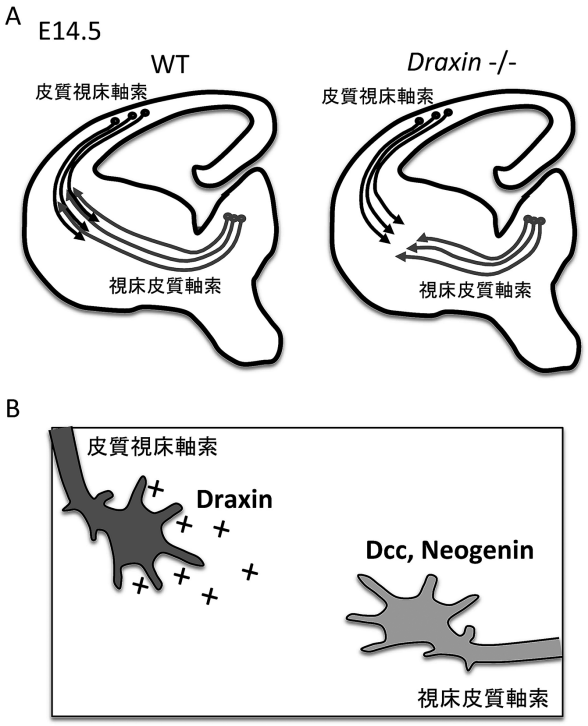

図4．視床皮質軸索投射におけるDraxinの役割．
(A) 胎生14.5日 (E14.5) において，野生型 (WT) マウスの視床皮質軸索は大脳皮質に侵入するが，*Draxin* −/− マウスの視床皮質軸索は大脳皮質に侵入できない．
(B) Draxinの機能に関するモデル．
皮質視床神経から分泌されるDraxinが対向する視床皮質軸索ガイダンスをDCCとNeogenin受容体を介して制御する．

DraxinはNetrin受容体であるDCC, Neogenin(Neo1), Unc5s, Dscamに結合するが，これらの変異マウスでは顕著な視床軸索投射異常は観察されていない．従って，複数の受容体が協調して機能する可能性が考えられた．視床神経で機能するDraxin受容体を決定するために，5種の受容体候補分子 (DCC, Neo1, Unc5a, Unc5b, Dscam) の変異マウスを入手し，様々な複合変異マウスの表現型解析を行った．その結果，*Dcc*と*Neo1*のダブルノックアウトマウスが，*Draxin*ノックアウトマウスの表現型に酷似した視床軸索投射異常を示すことを見出した．さらに，脳切片に対するDraxinタンパク質の結合実験を行った．Draxin-Alkaline Phosphatase (AP) タンパク質は正常マウスの視床皮質軸索には強く結合するが，*Dcc*と*Neo1*のダブルノックアウトマウスの視床皮質軸索に対してはその結合が大幅に減少することが分かった．これらの結果から，視床神経ではDCCとNeo1がDraxin受容体として機能していると考えられた．次に，視床神経の分離培養系を用いて視床神経軸索伸長におけるDraxinの効果を調べた．面白いことに，Draxinは低濃度では視床神経の突起伸長を促進し，高濃度では逆に突起伸長を抑制した．より生理的環境に近い条件下でのDraxinの活性を調べるために，大脳皮質神経細胞上で視床神経の培養を行った．*Draxin*ノックアウトマウスの大脳皮質神経細胞を用いた場合，野生型の大脳皮質を用いた場合と比べて，視床神経の突起伸長の促進効果が低減した．この結果から，Draxinは生理的条件下では視床神経の神経突起伸長を促進する効果があると考えられた．さらに，*Dcc*と*Neo1*のダブルノックアウトマウスの視床神経の分離培養を用いた実験から，Draxinの神経突起伸長に対する活性にDCCとNeo1が必須であることを示した．以上の結果から，皮質視床神経に発現するDraxinが対向する視床皮質軸索ガイダンスをDCCとNeo1受容体を介して制御することが示唆された (図4B)．このモデルのさらなる検証には，Draxin, DCC, Neoに関して領域特異的なコンディショナルノックアウトマウスの解析が今後重要であると考えられる．

軸索ガイダンス研究の新展開

軸索ガイダンス分子の機能制御として成長円錐でのタンパク質の局所的な翻訳が重要であることが報告された[20]．米国のJohn G. Flanaganらのグループは，Netrin1非存在下ではDCCとリボソームが結合しタンパク質合成を抑制するが，Netrin1が結合するとリボソームがDCCから解離しタンパク質合成が開始することを示した．実際，脊髄交連神経軸索に対するNetrin1の誘引活性に成長円錐でのタンパク質合成が必要であることが示されている．SemaphorinやSlitなど他の軸索ガイダンス分子に関しても，局所的なタンパク質合成がそれらの機能に必要であることが明らかにされており，今後，より詳細な分子レベルでの解析が期待される．スペインの

Guillermina Lopez-Benditoらのグループは，発生初期段階での視床神経細胞での自発的な活動が視床皮質軸索の伸長速度を制御することを示した[21]．そのメカニズムとして，視床神経におけるRobo1の発現が自発的な活動により制御されることが明らかにされている．

お わ り に

本稿では，視床皮質軸索が形成されるしくみについて解説した．これまでの多くの遺伝子改変動物の解析から，単一の軸索ガイダンスシグナルの役割についての理解は深まった．一方で，実際の神経回路形成期には複数の軸索ガイダンスが共同で働くと考えられる．近年，神経回路形成の様々な局面で，複数の軸索ガイダンスシグナルのクロストーク機構が明らかにされつつある．今後，複雑な脳回路形成において複雑で精巧な神経回路の形成機構を理解するためには，どのように複数の軸索ガイダンスシグナルが神経細胞内で統合されているのかを明らかにする必要がある．

謝　　辞

本研究は，主に熊本大学大学院生命科学研究部神経分化学分野（田中英明教授）において，大学院留学生であったRiyadh M.A.君と行ったものです．残念ながら田中英明先生は，平成26年1月8日に病気のためご逝去されました．田中先生には深く感謝するとともに，ここに謹んで哀悼の意を表し，ご冥福をお祈りいたします．また，本研究の遂行にあたり多大なご支援を頂きました金沢大学医薬保健研究域・河崎洋志教授，熊本大学大学院生命科学研究部・太田訓正准教授，新潟大学大学院医歯学総合研究科・竹林浩秀教授に深く感謝申し上げます．最後に，今回の執筆の機会を与えて下さいました金沢大学十全医学会編集委員長　井関尚一教授，ならびに関係方々に厚く御礼申し上げます．

文　　献

1）Molyneaux, B. J., Arlotta, P., Menezes, J. R. *et al*. Neuronal subtype specification in the cerebral cortex. *Nat Rev Neurosci* 8, 427-437, (2007).

2）Fishell, G. & Hanashima, C. Pyramidal neurons grow up and change their mind. *Neuron* 57, 333-338, (2008).

3）Tessier-Lavigne, M. & Goodman, C. S. The molecular biology of axon guidance. *Science* 274, 1123-1133 (1996).

4）Serafini, T., Kennedy, T. E., Galko, M. J. *et al*. The netrins define a family of axon outgrowth-promoting proteins homologous to C. elegans UNC-6. *Cell* 78, 409-424 (1994).

5）Keino-Masu, K., Masu, M., Hinck, L. *et al*. Deleted in Colorectal Cancer (DCC) encodes a netrin receptor. *Cell* 87, 175-185 (1996).

6）Luo, Y., Raible, D. & Raper, J. A. Collapsin: a protein in brain that induces the collapse and paralysis of neuronal growth cones. *Cell* 75, 217-227 (1993).

7）Brose, K. & Tessier-Lavigne, M. Slit proteins: key regulators of axon guidance, axonal branching, and cell migration. *Curr Opin Neurobiol* 10, 95-102 (2000).

8）Flanagan, J. G. & Vanderhaeghen, P. The ephrins and Eph receptors in neural development. *Annu Rev Neurosci* 21, 309-345, (1998).

9）Islam, S. M., Shinmyo, Y., Okafuji, T. *et al*. Draxin, a repulsive guidance protein for spinal cord and forebrain commissures. *Science* 323, 388-393, (2009).

10) Ahmed, G., Shinmyo, Y., Ohta, K. *et al*. Draxin Inhibits Axonal Outgrowth through the Netrin Receptor DCC. *J Neurosci* 31, 14018-14023, (2011).

11) Lopez-Bendito, G. & Molnar, Z. Thalamocortical development: how are we going to get there? *Nat Rev Neurosci* 4, 276-289, (2003).

12) Lopez-Bendito, G., Cautinat, A., Sanchez, J. A. *et al*. Tangential neuronal migration controls axon guidance: a role for neuregulin-1 in thalamocortical axon navigation. *Cell* 125, 127-142, (2006).

13) Dufour, A., Seibt, J., Passante, L. *et al*. Area specificity and topography of thalamocortical projections are controlled by ephrin/Eph genes. *Neuron* 39, 453-465 (2003).

14) Powell, A. W., Sassa, T., Wu, Y. *et al*. Topography of thalamic projections requires attractive and repulsive functions of Netrin-1 in the ventral telencephalon. *PLoS Biol* 6, e116, (2008).

15) Fukuchi-Shimogori, T. & Grove, E. A. Neocortex patterning by the secreted signaling molecule FGF8. *Science* 294, 1071-1074, (2001).

16) Blakemore, C. & Molnar, Z. Factors involved in the establishment of specific interconnections between thalamus and cerebral cortex. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 55, 491-504 (1990).

17) Chen, Y., Magnani, D., Theil, T. *et al*. Evidence that descending cortical axons are essential for thalamocortical axons to cross the pallial-subpallial boundary in the embryonic forebrain. *PLoS One* 7, e33105, (2012).

18) Deck, M., Lokmane, L., Chauvet, S. *et al*. Pathfinding of corticothalamic axons relies on a rendezvous with thalamic projections. *Neuron* 77, 472-484, (2013).

19) Shinmyo Y., Riyadh M. A., Ahmed G. *et al*. Draxin from neocortical neurons controls the guidance of thalamocortical projections into the neocortex. *Nature Communications*, 6, 10232 (2015).

20) Tcherkezian, J., Brittis, P. A., Thomas, F. *et al*. Transmembrane receptor DCC associates with protein synthesis machinery and regulates translation. *Cell* 141, 632-644, (2010).

21) Mire, E., Mezzera, C., Leyva-Diaz, E. *et al*. Spontaneous activity regulates Robo1 transcription to mediate a switch in thalamocortical axon growth. *Nat Neurosci* 15, 1134-1143, (2012).