

**Ziele und Wirkungsweise des regulatorischen  
FOXP2-Gens, Vergleich mit anderen Vertretern der FOX-Familie**

*Elena Tschumak*

**Elena Tschumak**

**Ziele und Wirkungsweise des  
regulatorischen  
FOXP2-Gens, Vergleich mit anderen  
Vertretern der FOX-Familie**

# Inhaltsverzeichnis

## 1. Einleitung

1.1 Fox-Superfamilie und FOXP2 Gen als ihr typischer Vertreter

1.2 FOXP2-Struktur und seine Isoformen

1.3 FOXP2-Polymorphien bei verschiedenen Taxa

## 2. FOXP2-Auswirkung auf neuronale Entwicklung und Differenzierung im Gehirn bei verschiedenen Tiertaxa

2.1 FOXP im Nervensystem verschiedener Arten und FOXP2-Interaktion bei neurologischen Prozessen

2.2 FoxP2-Auswirkung auf das SRPX2-Gen und die damit verbundene Synaptogenese

2.2.1 FOXP2 beeinflusst indirekt über uPAR die Expression des SRPX2-Gens

2.2.2 FOXP2-CTNAP2-Wechselwirkung und ihre Bedeutung für die genetisch bedingten Erkrankungen des ZNS und für die Lungenentwicklung

2.2.3 Sushi-Domain-Proteine als Komplement-Kontrollproteine und ihr Einfluss auf die Synapsendichte

## 3. FOXP2-Gen und das Gesangverhalten der Vögel

3.1 Wichtigste FoxP2-Funktionen bei Singvögeln

3.1.1 Die Rolle des FOXP2-Gens für die Gehirnentwicklung das Erlernen des Gesangs

3.1.2 FOXP2 bei Zebrafinken

3.1.3 Bedeutung der FoxP2-Expression für die Neuroplastizität beim Gesangslernen der Zebrafinken und anderer Singvögel

3.2 Dopaminerge Modulation im Vogelgehirn

3.2.1 Einfluss der FoxP2-Expression auf die Signalausbreitung durch AFP und HVC zum LMAN

während der Entwicklung der Singvögel und sein DARPP-32-vermittelter Einfluss auf den Vogelgesang

3.2.2 FOXP2 und die Entwicklung der Feedback-Mechanismen für die Gesangsvariabilität der Zebrafinken

3.2.3 FoxP2-Einfluss auf Dopaminrezeptoren D1Rs- und das DARPP-32 und auf die AFP-Signallaufzeiten

3.2.4 FoxP2- und D1R-Coexpression und der Einfluss der RA-Spike Timing-Variabilität auf die Latenzzeit der Signale zwischen dem LMAN und dem HVC im Vogelgehirn sowie einige Parallele zu Untersuchungen an Menschen

#### 4. Bedeutung des FOXP2-Gens für den Spracherwerb bei Säugetieren

4.1 Der Einfluss des FOXP2 auf die Ultraschall-Lautäußerungen der Mäuse

4.1.1 Foxp2-Expressionsmuster und Funktionen bei Mus musculus

4.1.2 Widersprüchliche Ergebnisse zu Foxp2-Mutationen bei Mus musculus

4.2 Die Rolle des FOXP2-Gens bei der Sprachentstehung und damit verbundenen Sprachstörungen der Menschen

4.2.1 R 533H-Mutation und ihre Makroanatomische manifestation

4.2.2 Widersprüchliche Ergebnisse zu FOXP2-Sprachfunktion

4.2.3 FOXP2-Rolle bei psychiatrischen Erkrankungen

4.3 Auf der Suche nach sprachrelevanten FOXP2-Zielgenen im menschlichen Gehirn

4.3.2 FOXP2 steuert indirekt über das RUNX das ROBO, das Vitamin D, das CREB, das Serotonin, das SPP1, das GTF2I und das USF1, wobei die RUNX-Expression selbst durch Rückkoppelungsprozesse reguliert wird

4.3.3 FOXP2 reguliert indirekt über die RUNX-AUTS2-TBR1-Kaskade das FEZF2-, das RELN-, das FOXO1-

und das DYRK1A-Gen

4.3.4 Das FOXP2 reguliert indirekt über die RUNX-UTS2-TBR1-DYRK1A-Kaskade das SIRT1 und weitere Gene und direkt einige SIRT1-Zielgene

4.3.5 FOXP2 und die Schädelentwicklung

5. Regulation verschiedener Gene durch Dimerbildung

5.1 FOXP2-Kooperation und FOXP-Homo- und -Heterodimere

5.2 FOXP-Kombinationen im ZNS der Zebrafinken

5.3 Koexpression der FOXP1- und FOXP2-Gene im Vogelgehirn als Hinweis auf die FOXP1/2 Dimerisierung

5.4. FOXP1/2/4 Dimere regulieren verschiedene Gene in der frühen neuronalen Entwicklung

5.5 Bedeutung der FOXP1/2/4-Interaktion für onkologische Prozesse

6. Weitere FOXP2-Ziele

6.1 FOXP2-Interaktion mit der Retinsäure

6.1.1 Einfluss der FOXP2 auf die-RA-Rezeptoren-Expression und seine Wirkung auf die Retinsäure-vermittelte neuronale Differenzierung

6.1.2 Parallele zwischen dem RA-vermitteltem FoxP2- Einfluss auf die neuronale Differentierung und auf den Vogelgesang sowie möglicher Rolle der FOXP2-Retinsäure-Interaktion bei einigen Erkrankungen

6.2 FOXP-2 beeinflusst NCAM1, VLDLR und weitere Zielgene im Nervensystem

6.3 FOXP2 reguliert die Protoonkogene p21WAF1/CIP1, BCL-2, HES1 und weitere krebsrelevante Gene.

7. Zukunftsausblicke

Literaturliste

Verwendete Übersichtsartikel

# 1. Einleitung

## 1.1 Fox-Superfamilie und FOXP2 Gen als ihr typischer Vertreter

Wenn man von FOX-Genfamilie spricht, so ist mit Fo - „Gabel“ ein Gen aus einer Genfamilie mit wiederkehrendem Motiv aus 110 Aminosäuren und mit X ein Transkriptionsfaktor gemeint.

Die FOX-Transkriptionsfaktoren können sich an Konsens-DNA-Stellen in den cis-regulatorischen Regionen ihrer Zielgene mit ihrer TRTTKRY-Sequenz binden, wobei R = A oder G, K = T oder G und Y = T oder C. Für die FOXP-Unterfamilie ist die TATTTRT-Sequenz und für das FOXP2 selbst sind die AATTG- und ATTTGT-Sequenzen typisch. (Vernes *et al.*, 2006)

FOXP-2 steht z. B. für ein Fox-Gen eines gabelförmigen Transkriptionsfaktors der vier Gene umfassender Unterfamilie P (FOXP1-FOXP4).

Zwar sind Forkhead Box-Gene schon in Pilzen vorhanden (Ostrow *et al.*, 2017) doch wurden sie vor allem bei Tieren untersucht, erstmals durch Weigel und Jäckle in 1989-1990. Dabei handelte es sich um den Transkriptionsfaktor der Drosophila.

Bevor im Jahr 2000 durch die Publikation von Kaestner *et al.* „Unified nomenclature for the winged helix/forkhead transcription factors“ eine einheitliche Nomenklatur eingeführt wurde, benutzte man für diese Transkriptionsfaktoren verschiedene Namen wie das FREAC, das FKH und das HFH. In der heutigen Nomenklatur stehen Buchstaben A bis R für eine durch Gen-Duplikation entstandene, kodierende Gen-Unterfamilie und die Zahlen weisen auf einzelne Gene hin. Man verwendet für fast alle Spezies die FoxP2-Bezeichnung. Eine Ausnahme stellen Nagertiere dar, für die man die

Foxp2- Bezeichnung verwendet. Für die menschliche Genvariante benutzt man den FOXP-Namen.

## **1.2 FOXP2-Struktur und seine Isoformen**

Weitere Variationen bekommt das FOXP2 durch das alternative Spleißen. Solches Spleißen ermöglicht verschiedene FOXP2-Isoformen und ruft eine Veränderung der FOXP2-Aktivität hervor. (Castellano & Downward, 2011). Die FOXP2-Expression kann je nach Gewebe- und Zelltyp an mindestens 4 Startpunkten (TSSs) begonnen werden. (Bruce & Margolis, 2002), (Schroeder & Myers, 2008).

Das FOXP2-Gen auf dem Chromosom 7 enthält mindestens 280 (nach einigen Angaben 603) kb und neben Vielzahl von Intronen (insgesamt etwa 280.000 nicht codierende Basenpaaren, nach einer im Jahre 2007 erschienen Publikation sind das 603.000 Basenpaare) noch 17 Exone (2145 codierende Basenpaare), diese Anzahl ist jedoch variabel. (Zhang *et al.*, 2002), (Wright & Hastie, 2007)

Obwohl das FOXP2-Gen hochkonserviert ist, treten bei ihm in den sich wiederholenden CAG- und CAA-Sequenzen viele Mutationen auf. Diese Region weist unterschiedliche Länge bei verschiedenen Taxa auf.

Das Proteinprodukt des FOXP2-Gens besteht aus 715 Aminosäuren, die eine hochkonservierte DNA-Bindungsdomäne enthalten, aus einer 508 bis 584 Aminosäuren aufweisenden „geflügelter“ Helix Domäne (BHT), aus einem s. g. forkhead Box, der seinerseits aus zwei stark konservierten drei Beta-sheets und drei auch hoch konservierten Alpha-Helices aufgebaut ist, sowie aus einem Helix-Turn-Helix-Motiv-Flügel. Zwischen der zweiten und der dritten Helix und in der Polyglutamin-reichen Region treten Strukturvariationen auf. Das FOXP2-Gen

besitzt einen an den Protein-Protein-Interaktionen beteiligten Zip-Finger und einen Leuzin-Zipper. Eine direkte DNA-Bindung an verschiedene Ziele in der kleinen und in der großen Furche findet zwischen der dritten Alpha-Helix (Erkennungshelix) und dem zweiten Flügel des FOX-Transkripts statt. (Kaestner *et al.*, 2000), (Enard *et al.*, 2002), (MacDermot *et al.*, 2005) Die wichtigste Rolle bei der Bindung des FOXP2-Protein an das Zielgen spielt seine Hinge Loop, und genauerer die zu ihrer Form beitragende Mutation P539A. (Morris *et al.*, 2018)

### **1.3 FOXP2-Polymorphismen bei verschiedenen Taxa**

Zwar ist das FOXP2-Gen hoch konserviert, doch treffen zwischen verschiedene Tiertaxa, vor allem bei Fledertieren, Polyglutamin-Mutationen auf. (Scharff & Haesler, 2005), (Webb & Zhang, 2005), (Chen *et al.*, 2007), (Li *et al.*, 2007), (Scharff & Petri, 2011), (Song *et al.*, 2013), Durch das menschliche FOXP2 wird die Aktivität von 61 Genen erhöht und von 55 Genen gehemmt, was bei Schimpansen nicht der Fall ist. Die FOXP2-Polymorphismen schienen jedoch keinen Einfluss auf die Hirnanatomie zu haben. Bei allen Mitgliedern der Familie Vespertilionidae Yangochiroptera wurde eine Pro302-Mutation und bei allen Mitgliedern der Familie Hipposideridae Yinpterochiroptera eine Met316-Mutation festgestellt. So beobachtete man in 13 Fledermaus-Schlägern 44 für das Protein relevante und 385 nicht relevante DNA-Veränderungen, 20 davon korrelierten mit verschiedenen echolozierenden Typen. Außerdem gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Struktur des FOXP2-Gens der Fledermäuse und der Flughunde, die keine Echolokation erlernen. (Moss & Sinha, 2003)



Die FOXP2-Expression im Gehirn erwachsener Medaka hat im Vergleich zu den Jungfischen mehr Ähnlichkeiten mit dem FOXP2-Expressionsmuster bei Säugern. Außer im Gehirn wird es bei Medaka in einer Schicht des Tectum opticum, in der Epiphyse, in den Purkinje-Zellen des Hinterhirns, im Rückenmark, im Thalamus und Hypothalamus, in den beiden Schichten der Retina erwachsener und in der embryonalen Netzhaut der jungen Fische sowie im Ovar exprimiert. (Itakuta *et al.*, 2008) Im Unterschied zur Maus und Menschen gab es jedoch keine Expression im Herzen, in der Niere und in der Milz. Es fehlte auch die Sequenz für die Codierung des N-terminalen Teil des Proteins und die 40-Glutamin-Wiederholungen, die bei Maus und bei Menschen vorhanden waren. Außerdem wurden am N-Ende eine 16 Aminosäuren- und am C-Ende eine 58 Aminosäuren-Insertionen festgestellt.

Bei der Ziege und bei der Kuh gibt es eine Thr315- und beim Schwein - eine Asp280-Substitution.

Bei Walen sind drei Aminosäure-Substitutionen (Pro302, Ala304 und Met316), ohne Unterschiede zwischen echolozierenden Zahnwalen und nicht-echolozierenden Bartenwalen, vorhanden. (Kumar & Hedges, 1998), (Chen *et al.*, 2007), (Li *et al.*, 2007), (Haesler *et al.*, 2004),

Beim Plateau Zokor war die FOXP2-Expression in der für die Motorik, für das Gedächtnis und für das Lernen verantwortlichen Großhirnrinde, im Thalamus und in den Basalganglien 3-fach höher als bei der Blindmulde. Zwei Aminosäure-Substitutionen Gln (Q)-zu-His (H) in der Position 231 und einer Ser(S)-zu-Ile (I) in der Position 235 waren evtl. für seine Empfindlichkeit gegenüber niederfrequenten seismischen Signalen verantwortlich. (Ben-Yuan *et al.*, 2014)

## **2. FOXP2-Auswirkung auf neuronale Entwicklung und Differenzierung im Gehirn bei verschiedenen Tiertaxa**

### **2.1 FOXP im Nervensystem verschiedener Arten und FOXP2-Interaktion bei neurologischen Prozessen**

Das FOXP2 reguliert bis zu 1000 andere Gene und ist schon während der Embryonalentwicklung in den Regionen, aus denen sich später Basalganglien, Thalamus und Cerebellum entwickeln, aktiv. (Review von Haesler *et al.*, 2006), (Artikel von Konopka *et al.*, 2009), (Boeckx & Benitto-Burato, 2014)

Bei der Gehirnentwicklung spielen die FOX-Gene eine bedeutende Rolle. Im Allgemeinen scheint das FoxP-Gen als Transkriptionsfaktor für das gesamte Nervensystem zu dienen.

Bei Insekten fördert das FoxP die lokomotorische Kontrolle im Rahmen motorischer Koordination und ist vor allem in den Projektionen der protozerebralen Brücke als ein Teil des zentralen Komplexes Cx aktiv. Damit zeigen sich Analogien zum FOXP und seinen Funktionen bei Vertebrata. Z. B. ist das FOXP2 für die Bildung thalamischer Kerne der Wirbeltiere von Bedeutung (Ebisu *et al.*, 2016) seine Expression in GP-Neuronen hat eine wichtige Funktion für die Motorik (Dodson *et al.*, 2015).

Nie *et al.* (2018) entdeckten 13 Fox-Gene in *Apis dorsata*, 14 in *Apis cerana*, 16 in *Apis mellifera*, in *Bombus impatiens* und in *Apis florea*, 17 in *Bombus terrestris* und 18 in *Megachile rotundata*. FoxA fehlte bei *A. dorsata* und FoxG bei *A. cerana* und *A. dorsata*. Bei *A. cerana*, waren ACSNU03719T0 (AcFoxN4), ACSNU05765T0 (AcFoxB) und ACSNU07465T0 (AcFoxL2) unterschiedlich exprimiert. Im Eierstadium war die Expression am höchsten. Das FoxJ1

war bei *A. cerana* und *A. mellifera* am stärksten in den Antennen exprimiert. Shatton und Scharff (2017) erforschten Analogien im FOXP2-Expressionsmuster in den KC Dendriten des Pilzkörpers der Honigbiene und der Fruchtfliege. Sie entdeckten 2018 zwei FoxP-Isoformen und kartierten ihre Expression im Gehirn erwachsener Honigbienen sowie während ihrer Entwicklung. Es wurden auch 11 Neuronpopulationen, in denen das FoxP exprimiert war, gefunden. Die FoxP-exprimierende Neuronen projizierten in den posterioren Trakt, der den Lappen mit dem posterioren lateralen Protocerebrum verbindet und der visuellen Verarbeitung dient. Bei der Honigbiene eng verwandten Zwergbiene sowie bei einer Hummelart beobachteten die Forscher äquivalenten FoxP-Expressionsmuster. Das FoxP-Expressionsmuster einer Honigbiene war im Bereich der Zinkfinger-, der Leucin-Zipper- und der Forkhead-Domäne ähnlich dem der *Drosophila* und homolog zu den der Vertebrata. (Kiya *et al.*, 2008)

Bei der *Drosophila* wird das FoxP im optischen Loben, in den Neuronen zwischen den medialen Blütenkelchen der Pilzkörper (MB) und dem zentralen Komplex, in den Lappen der Protocerebralbrücke (PL) und im dorsalen Lappen (DL) exprimiert. (Mendoza *et al.*, 2014)

Bei *Drosophila* sind die FoxP-Mutanten im Vergleich zum Wildtyp vor allem bei schwierigen, wenig differenzierten Aufgaben ungenauer. Wenn die Versuchstiere ihre Entscheidungen anhand eines Geruches treffen mussten, verursachte eine Verringerung der Geruchskonzentrationsdifferenz einen unverhältnismäßigen Anstieg der Reaktionszeit bei den Mutanten. (Lawton, 2014), (DasGupta *et al.*, 2014) Der FoxP-Level beeinflusst die Anzahl der K-Kanäle in den  $\alpha\beta\gamma$  KC Dendriten des Pilzkörpers der Fruchtfliegen und damit auch die Zeit für die neuronale Integration und Entscheidungsfindung. (Groschner, 2018)

Bei *Drosophila* ist das FOXP für die Produktion von Werbungsgeräuschen verantwortlich. Auch die neueren Untersuchungen belegen die FOXP-Rolle bei motorischem Lernen der *Drosophila*. (Colomb & Brembs, 2016)

Damit scheint das FoxP für die reibungslose motorische Koordination entscheidend zu sein.

So vermuteten die Forscher die Ursache der Sprachstörung in der KE-Familie in motorischer Behinderung bei schnellen Bewegungen. (Vargha-Khadem, 1998), (Watkins *et al.*, 2002) Denn auch die sensomotorische Integration ist in die frontostriatalen und frontocerebralen Abläufe eingebunden. (Middleton & Strick, 2000), (Watkins *et al.*, 2002), (Lai *et al.*, 2003), (Liegeois *et al.*, 2003)

Garcia-Calero *et al.* untersuchten 2016 in „FoxP2 protein levels regulate cell morphology changes and migration patterns in the vertebrate developing telencephalon“, ob das Foxp2 beim Einwandern der Vorläuferzellen in die Telecephalon-Mantelzone am Wechsel von der multipolaren zur bipolaren Zellform beteiligt ist. Bei diesem Wechsel verändern sich auch die Muster der radialen Migration. In dieser Arbeit untersuchten sie die Funktion des FoxP2-Proteins bei diesem Prozess sowie seine Expression im Striatum der Maus und des Huhns. Sie betrachteten dabei den Foxp2-Protein-Gradienten der Maus-Embryonen von der subventrikulären Zone bis zur Mantelschicht. Dabei stellten sie fest, dass der niedrigste Foxp2-Spiegel mit der höchsten multipolaren Migration korrelierte. In der striatalen Mantelschicht, wo die Foxp2-Proteinexpression höher ist, zeigten die Zellen auch eine bipolare Morphologie. Im cerebralen Cortex der Maus wurden gleiche Ergebnisse beobachtet. Erhöhte FoxP2-Werte in der striatalen subventrikulären Zone der Hühner korrelierten mit der bipolaren Morphologie und beeinträchtigter multipolaren radialen Migration. Somit fördert das FoxP2 den Übergang von der multipolaren zur bipolaren Morphologie durch den Gradienten-Verfahren.

Da die Zellmigration bei vielen neurologischen Erkrankungen eine wichtige Rolle spielt, wäre es sehr interessant, weitere Untersuchungen im Bezug auf die Zellmigration unter FOXP2-Einfluß evtl. zusammenwirkend mit verschiedenen FOXP-Proteinen und zelleigenen Substanzen in anderen Gehirnregionen durchzuführen.

## **2.2 FoxP2-Auswirkung auf das SRPX2-Gen und die damit verbundene Synaptogenese**

### **2.2.1 FOXP2 beeinflusst indirekt über uPAR die Expression des SRPX2-Gens**

Die SRPX2 mRNAs wurden in Neuronen mehrerer Hirnregionen, einschließlich der Großhirnrinde und des Hippocampus, gefunden. (Lein et al, 2007), (Roll *et al.*, 2010)

Humangenetische Analysen ergaben, dass eine Mutationen des Sushi-Repeat Proteins SRPX2 in Verbindung mit sprachbezogenen Störungen wie die Rolandische/ Sylvische Epilepsie, die DVD (funktional developmental verbal dyspraxia) und die Bilaterale Perisylvische Polymikrogyrie (Entwicklungsstörungen der Sprachbereiche des Kortex) stehen. Mehrere Proteine, wie z. B. das uPAR, ein Plasminogen-Aktivator-Rezeptor des Urokinase-Typs (auch als PLAUR bekannt), wurden mit diesem Prozess in Verbindung gebracht. Dabei interagiert das uPAR physikalisch mit dem SRPX2. SRPX2 / uPAR zeigten eine Ligand-Rezeptor-Wechselwirkung. Bereits 2010 zeigten Roll *et al.* in „Molecular networks implicated in speech-related disorders: FOXP2 regulates the SRPX2/uPAR complex“, dass das FoxP2 mit dem Epilepsie- und Sprache-assoziierten SRPX2 wechselwirkt und in diesem Zusammenhang mit dem uPAR Gen-Promoter interagiert.