

氏名	下畑 充志
博士の専攻分野の名称	博士（学術）
学位記号番号	博理工甲第 1078 号
学位授与年月日	平成 29 年 9 月 22 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Ts1Cje Down syndrome model mice exhibit environmental stimuli-triggered locomotor hyperactivity and sociability concurrent with increased flux through central dopamine and serotonin metabolism (ダウン症モデルマウス；Ts1Cje は、中枢ドーパミン、セロトニンの増加並びにそれらの代謝亢進を示すと共に環境刺激誘発による活動量と社会性の増加を示す)
論文審査委員	委員長 連携教授 山川 和弘 委員 連携教授 内匠 透 委員 教授 中井 淳一 委員 教授 弥益 恭

論文の内容の要旨

Down syndrome (DS) or trisomy 21 is the most common genetic cause of intellectual disability and is characterized by a myriad of phenotypes affecting various organs. Several mouse models of DS have been established and constitute useful tools for defining the etiology of DS. Ts1Cje mouse carrying a 7.6 Mb segmental trisomy of mouse chromosome 16 (MMU16) is among the most commonly used DS models. Ts1Cje mice display a subset of features that mimic human DS, notably craniofacial abnormalities and deficits in learning and memory. A number of molecular and physiological parameters are also affected in these mice, including oxidative stress increase and mitochondrial dysfunction, abnormal neuronal dendritic spines, abnormal synaptic plasticity, deficient embryonic and adult neurogenesis and enhanced cell proliferation in ganglionic eminences. Despite the occurrence of affective and emotional impairments in patients with Down syndrome, these parameters are poorly documented in Down syndrome mouse models, including Ts1Cje mice. Here, we developed a comprehensive approach using the Ts1Cje model in order to investigate eventual behavioral-molecular correlations. We designed and describe for the first time a large behavior screening focusing on spontaneous activity, social behavior, anxiety and depression-like behavior in various conditions. We coupled this study to a molecular study using both in-vivo microdialysis and tissue punch measurements of monoamines levels in brains from Ts1Cje mice. Ts1Cje mice were hyperactive and possibly less anxious compared to WT mice in novel environments, but significantly less active in familiar environments. Ts1Cje also showed increased social contacts with unfamiliar partners compared to their WT littermates in two different testing paradigms. Ts1Cje mice also exhibited signs of decreased depression like-behavior. Furthermore, Ts1Cje mice showed motor coordination deficit. As locomotor hyperactivity is often associated with enhanced striatal dopaminergic neurotransmission, we measured extracellular and total content of monoamines. By using intracerebral microdialysis and tissue extracts of the striatum and ventral forebrain, we

also provide evidence that extracellular dopamine (DA) and serotonin (5-HT) and their total amounts are increased in Ts1Cje mice. In addition, we found that biosynthesis and degradation of DA was accelerated in Ts1Cje striatum by using biochemical and immunohistochemical analyses. These changes in monoamines could underlie the abnormal affective and emotional behaviors observed in Ts1Cje mice. Using a comprehensive battery of behavioral tests, we identified environmental novelty stimuli-triggered hyperactivity, increased sociability, and decreased depression-like behavior in Ts1Cje mice. Our neurochemical and immunohistochemical results further suggested that Ts1Cje mice show an abnormal increase in DA and 5-HT combined with an enhanced metabolism of these transmitters, which may help explain the affective and emotional abnormalities. Especially, reports on DA metabolism in brain samples from DS patients have been rather controversial. In some cases reported in the literature, DA was decreased in the brains of elder DS patients but not in young adult with DS. The discrepancies in human studies may be due to age-specific changes and to the fact that samples were extracted post-mortem (after natural death). Although the monoamine concentration in brains from young adults with DS is still unclear, our results suggest that it is likely not decreased. Our study suggests that more extensive investigation should thus be considered before implementing monoamine treatments in DS. Monoamine metabolism alterations still require further investigation in order to understand how they are involved in the developmental and functional deficits in the brains of DS patients. Finally, our finding contributes to the understanding of molecular pathology of DS and may inform development of effective therapeutic approaches (Shimohata et al., 2017).

論文の審査結果の要旨

下畑充志氏（申請者）の提出した学位論文について、当学位論文審査委員会は発表会を開催し詳細な質疑を行って内容を審査した。以下に、審査結果の概要を示す。

ダウン症候群は21番染色体のトリソミーによる染色体異常症であり、主な症状に精神遅滞がある。ダウン症モデルマウスの1つである Ts1Cje モデルは、ヒト21番染色体に相同なマウス16番染色体の一部（約70遺伝子）をトリソミーとして持ち記憶学習機能低下を示すことが知られている。申請者の研究室では Ts1Cje モデルマウスを中心に解析を進めており、Ts1Cje トリソミー領域の遺伝子特異的な1.5倍の発現量亢進を確認した後、申請者自らも参加して酸化ストレスの上昇、神経新生の減少、脳室の拡大などの異常を多数報告している。特に主要論文では、小児ダウン症候群患者で見られる「温厚で社会的である、衝動的である、過活動を示す」などの情動的行動変化については、ダウン症モデルマウスでの報告は無いことから、申請者は Ts1Cje モデルを用いた網羅的な行動解析を実施した。同時に情動的行動に関与する事が知られている脳内モノアミンを2種類の生化学的な方法で解析した。網羅的行動試験の結果から、Ts1Cje モデルでは通常の慣れた環境では活動量は低いにもかかわらず、新規環境では過活動、不安行動の低下や社会性の増加が見られた。さらに鬱様行動の減少や運動協調性の低下が見られた事もわかり一部小児ダウン症候群患者でみられる行動変化を反映しているとしている。加えて脳内モノアミン、特に線条体でのドーパミン、セロトニンの増加をマイクロダイアリシス法、マイクロダイセクション法で検証し再現性を担保している。ドーパミン、セロトニンについてはその代謝産物の増加も確認している。特にドーパミンでは、前駆物質であるフェニルアラニン、チロシンの増加も見いだされ、ドーパミンの産生から分解までの代謝系に異常が生じている事が明らかにされている。代謝に関わる酵素の組織学的、生化学的検証によってもその異常変化について確認されている。ダウン症モデルマウスである Ts1Cje の新奇環境での活動量及び社会性行動の増加は、軽度ストレス下における環境依存の行動変化と考えられるとし、脳内モノアミン、特にドーパミン、セロトニン量の増加がこれら行動異常に関与するものとした。Ts1Cje モデルで示された行動異常とモノアミン増加の原因について、他のダウン症候群モデルマウスとの比較により Ts1Cje モデル特異的トリソミー領域に位置する遺伝子がある候補であり、そのトリソミー遺伝子の発現量亢進が Ts1Cje モデルで見られる様々な異常に関与していることが示唆された。将来的にそれら遺伝子の探索は、そのトリソミー領域特異的遺伝子欠損マウスと Ts1Cje モデルを交配して得られるマウスで解析するサブトラクション法によって見いだす事ができるとしている。最後に、現在ダウン症候群患者脳でのモノアミン解析は減少しているという報告があり、申請者の研究結果と相反しているが、その理由としてこれまでの研究では高齢の患者死後脳での解析結果であることなどがありうるとしている。実際の小児ダウン症候群患者ではむしろ脳内モノアミンが増加している可能性が示唆され、小児ダウン症候群患者に対してのモノアミン補充療法などが一部進められる中、逆効果となりうる危険性があり今後さらなる慎重な検討が必要であると提言している。

以上のように、当該論文ではダウン症モデルマウス；Ts1Cje モデルの網羅的行動試験によって新規環境での活動量の増加及び社会性の増加を見だし、さらに脳内モノアミン特にドーパミンとセロトニンの増加をダウン症モデルマウスで初めて報告した。これらの結果は申請者が筆頭著者として国際学術専門誌 *Experimental Neurology* に掲載発表している。また共同著者としての論文も国際専門誌に4編掲載されている。よって当学位論文審査委員会は、本論文が博士（学術）の学位を授与するに十分値するものと判断し合格とした。