

ナメクジの嗅覚中枢における自発振動活動とタンパク質合成 Protein synthesis and spontaneous activity in olfactory system of terrestrial slug *Limax*

○芳賀祥平¹, 江藤多門¹, 小松崎良将²

*Shouhei Haga¹, Tamon Eto¹, Yoshimasa Komatsuzaki²

Abstract: Oscillatory activity is an inherent feature of odor-evoked and spontaneous activity in the olfactory systems of mollusks and mammals, and is thought to play an important role in olfactory information processing. The terrestrial slug has highly developed olfactory system. The procerebrum (PC) in slug is the processing center for olfactory information. We can observe the spontaneous oscillation in the PC. To analyze the statistical property of the oscillatory activity, we performed a detrended fluctuation analysis (DFA), a scaling analysis technique. To investigate the long-range temporal structure of spontaneous oscillation in PC, we performed measured the local field potential of PC treated with cycloheximide, an inhibitor of protein synthesis.

1. はじめに

ナメクジは陸生軟体動物で、体表面が粘液でおおわれており、味覚、嗅覚、触覚を主な感覚機能として用い生活している。特に嗅覚神経系が発達していて、においの情報処理が中枢神経系である前脳葉 (procerebrum) で行われている。前脳葉で局所場電位 (LFP) を測定すると、自発的な振動活動が観察でき (Fig. 1), 嗅覚情報の処理に関わっていると考えられている^[1]。

心拍リズムや脳の神経細胞の自発活動は生体が生み出す活動であるため、必然的なゆらぎが見られる。近年、このゆらぎに生理学的な意味を持つことが報告され、心拍リズムや脳波のゆらぎ解析が健康状態の評価など、多方面で応用されている^[2,3]。本研究では、前脳葉における自発的な振動活動の長期時系列パターンに相関性があると考え、長時間記録された前脳葉のスパイク活動の時系列データをトレンド除去揺らぎ解析法 (DFA, Detrended Fluctuation Analysis) により解析した。様々な細胞内活動が、長期的なゆらぎ構造を特徴づけていると考えられる。そこで本研究ではタンパク質合成に着目し、タンパク質合成阻害剤がナメクジの前脳葉で観測される神経活動にどのような影響を与えるのか調べた。

2. 実験内容

本実験では研究室内で飼育した 3~4 ヶ月齢のナメクジを使用した。電気生理実験に使用したナメクジに麻酔をかけた後、解剖溶液 (NaCl 35, KCl 2, CaCl₂·2H₂O 4.9, MgCl₂·6H₂O 28, HEPES 2.36, HEPES·Na 2.64, glucose 5 (mM)) 中で脳を単離した。培養したナメクジの脳を測定溶液 (NaCl 70, KCl 2, CaCl₂·2H₂O 4.9, MgCl₂·

6H₂O 4.7, HEPES 2.36, HEPES·Na 2.64, glucose 5 (mM)) で満たした測定用チャンバーに固定し、微小なガラス電極を前脳葉に当てて、局所場電位を前脳葉で測定した。電位測定中は、常に新鮮な測定用溶液を灌流した。次に、タンパク質合成阻害物質である 10 μM cycloheximide を投与し、LFP を測定した。測定時間はすべての投与条件で、3 時間行った。

本研究では測定された LFP の時系列データを DFA により解析した。DFA は時系列データに含まれるトレンドを除去し、ゆらぎの相関性を算出することでゆらぎを定量的に解析する手法である。トレンド除去によって得られたデータの両対数プロットの直線の傾きはスケーリング指数 α と呼ばれ、 $\alpha = 0.5$ で無相関、 $\alpha > 0.5$ で相関関係を示し、 $\alpha = 1$ では $1/f$ ゆらぎ、 $\alpha = 1.5$ ではブラウンノイズと対応する^[2]。データは、平均値±標準誤差で示した。

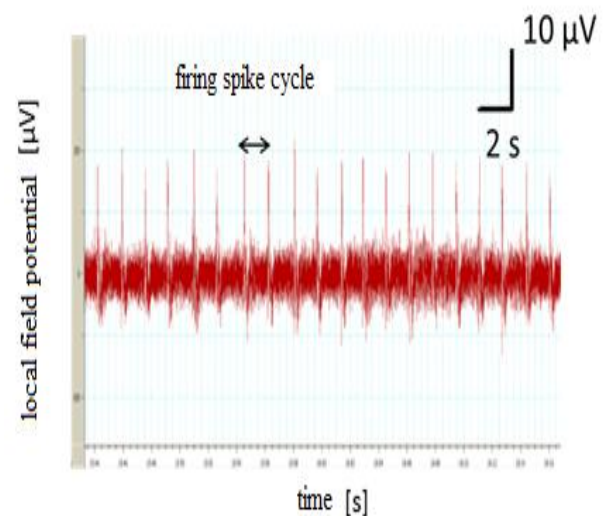


Figure 1. Typical trace of LFP in PC

3. 実験結果

測定溶液のみを灌流（対照群，control）して測定された LFP を DFA 解析したところ，スケーリング指数は $\alpha > 0.5$ を示し，LFP のスパイク間隔ゆらぎには相関性があることが分かった (Fig. 2). 次に，cycloheximide を投与して，測定したところ，LFP のスパイク間隔周期に増加傾向が見られた．さらに，cycloheximide の投与前と投与後 1 時間で DFA 解析を行ったところ，cycloheximide 投与前後でスケーリング指数の変化が見られた (Fig. 3). スケーリング指数を投与前後で比較したところ，スケーリング指数は cycloheximide の投与によって減少していた．対照群を cycloheximide 投与前と比較するために t 検定を行い，統計的に有意な差が見られた ($n=5, P<0.05$) (Fig. 4).

4. まとめ

ナメクジの前脳葉で行われている自発的な振動活動にはスパイク活動の間隔のゆらぎにおいて相関性を持ち，また長時間ではノイズ性の相関があることが分かった．

cycloheximide の投与によって，観測される LFP スパイクの発火周期に増加傾向が見られた．それにより，タンパク質合成阻害はスパイクの発火周期を増加させると考えられる．また，DFA 解析の結果から，cycloheximide は LFP におけるスケーリング指数を優位に減少させることが分かった．この結果から，タンパク質の合成は LFP スパイク間隔で見られるゆらぎや，それに寄与する長期相関特性にかかわっていると考えられる．

5. 参考文献

[1] Ito I, Watanabe S, Kimura T, Kirino Y, Ito E.,: "Negative Relationship between Odor-Induced Spike Activity and Spontaneous Oscillations in the Primary Olfactory System of the Terrestrial Slug *Limax marginatus*", *Zoological Science*, Vol.20, pp1327-1335, 2003

[2] Kobayashi M, Musha T.,: "1/f fluctuations of heart-beat period", *IEEE transactions on biomedical engineering*, Vol.29, No.6, pp-456-457, 1982.

[3] Sugase Y, Yamase S,Ueno S, Kawano K.,: "Global and fine information coded by single neuron in the temporal visual cortex.", *Nature*, Vol.400, pp869-873,1999.

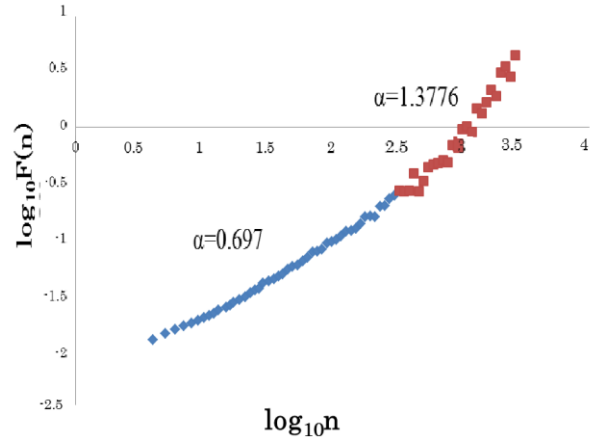


Figure 2. The long-term of correlation of LFP in the PC

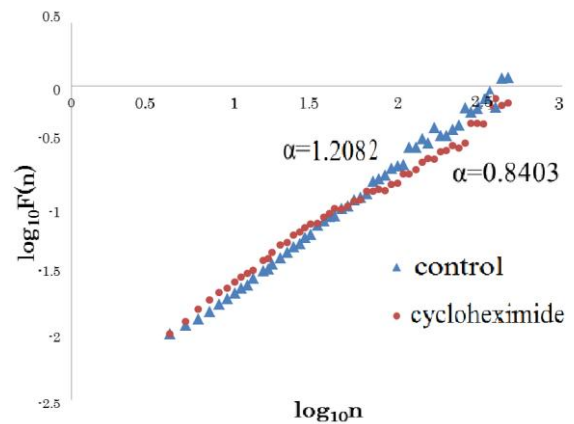


Figure 3. The Long-term correlation of LFP was reduced by the application of cycloheximide(10 μM), an inhibitor of protein synthesis

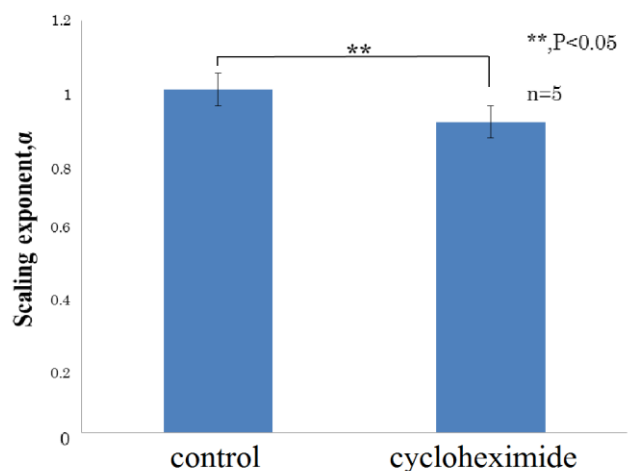


Figure 4. The effect of cycloheximide on long-range scaling exponent