

A-12

ナメクジ嗅覚中枢における自発神経活動に対する緑茶カテキンの影響

Effect of flavanols on spontaneous activity of olfactory center in the land slug

○石塚京花¹, 手塚光貴¹, 小松崎良将²*Kyouka Ishizuka¹, Koki Tezuka¹, Yoshimasa Komatsuzaki²

Abstract: Plant flavonoids have enhancing effects for cognitive functions (enhancing memory formation, anti-oxidant effect and improvement of immune system) in a wide variety of species including invertebrates. We focus Epicatechin and Epigallocatechin gallate (EGCg), both flavanols found in many food (e.g. green tea and cocoa powder) on present study. Here, we investigate the effect of EC and EGCg on the memory formation of odor aversive conditioning in land slug, *Limax valentianus*.

1. はじめに

植物フラボノイドであるカテキン類は、抗酸化作用や老化抑制作用など様々な生理活性を持つことが報告されており、その作用やメカニズムが注目されている。緑茶カテキンの1つであるエピカテキン (EC) は、近年の研究で軟体動物のオペラント学習による記憶形成を促進させることが報告されている^[1]。またエピカテキンと同じく緑茶に多く含まれる没食子酸エピガロカテキン (epigallocatechin gallate, EGCg) は虚血による長期増強現象 (LTP) の減少を食い止める作用を持つ^[2]。このように EC や EGCg は神経系の記憶学習に関わる作用が知られているがそのメカニズムはわかっていない。そこで本研究では陸生軟体動物であるチャコウラナメクジを用いてその連合学習による記憶形成に対するこれら緑茶カテキンの作用を検討した。ナメクジは古典的条件付け学習による記憶学習能を持つことが古くから知られており、また哺乳類などに比べてニューロンの数が少なく神経回路が比較的単純であることから、記憶学習機能を調べるためのモデル動物としてよく用いられてきた。本研究では、EC や EGCg がチャコウラナメクジの匂い味覚連合学習による記憶形成を強化するのか検証した。それから緑茶カテキンがどのような神経メカニズムによってその作用を発揮するのかを調べるために、嗅覚中枢である前脳葉の神経活動の変動を電気生理学的手法を用いて調べた。

2. 実験方法

本研究では、実験室で飼育・繁殖させたチャコウラナメクジを用いた (Fig.1)。まず始めに、無作為にナメクジを選んだ。高濃度 Mg^{2+} 溶液により麻酔した後、解剖し触角神経を含んだ脳神経節を取り出した。取り出した脳標本を電気生理測定チャンバーに虫ピンで固定

して培養液に浸しておいた。ナメクジの嗅覚中枢である前脳葉に生じる自発的な活動を捉えるために吸引電極を前脳葉の表面に固定し、その局所場電位 (local field potential, LFP) を測定した (Fig.3)。測定開始から十分時間が経過しその活動が安定してから、測定チャンバーに、濃度が 15 mg/L になるよう EC や EGCg を投与し、投与前と投与後の電位の変化を検証した。

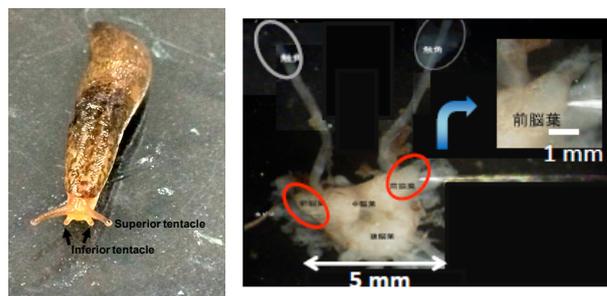


Figure 1. Land slug, *Limax valentianus* and the central nervous system. Slug has two pairs of tentacle, superior tentacle and inferior tentacle, which are olfactory system.

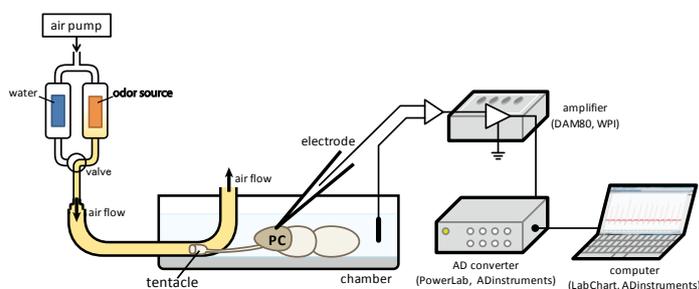


Figure 2. Electrophysiological system for LFP measurement in slug procerebral cortex (PC).

3. 結果

典型的な LFP スパイク波形を Fig.3 に示した。白丸は LFP スパイクピークを表す。EGCg を投与後、スパイク間隔周期が小さくなる傾向があったが、有意な変化は見られなかった (Fig.4)。その周期間隔のばらつき方も小さくなる傾向が見られた。また同様に EC を投与したところスパイク間周期は長くなる傾向にあったが、有意な変化は見られなかった (Fig.5)。本稿では示していないが、EGCg や EC を投与しても LFP スパイクの振幅に変化は見られなかった。

4. 考察

先行研究によりエピカテキン (EC) が記憶形成を増強するような作用が報告されているが、本研究で示したように EC や EGCg を直接ナメクジの脳神経節に投与しても、前脳葉の自発的な LFP スパイク活動に影響を与えないことから、平静時のナメクジの行動にはこれらカテキン類は大きな影響を与えないことが推測される。またこのことは過去の研究でエピカテキンを投与しても軟体動物の呼吸行動や行動量自体には影響を与えない報告に一致する^[1]。また記憶形成に対するエピカテキンの作用は、先行研究における行動実験の結果から急性かつタイミング依存性の作用であることから、嗅覚系と味覚系をつなぐ神経連絡間に生じるシナプス可塑性を直接調節する作用を持つかもしれない。

緑茶由来のカテキンであるエピカテキンや没食子酸エピガロカテキンの持つ記憶増強・神経機能回復作用のメカニズムを解明することができれば、例えばヒトの加齢による高度な神経機能低下やアルツハイマー病などによる神経欠損を食い止め、さらにはその症状を回復させる強力なツールとなり得る。本研究がその足がかりとなることを期待する。

5. 参考文献

- [1] Fruson L et al., "A flavonol present in cocoa [(-)epicatechin] enhances snail memory.", J Exp. Biol., Vol.215, pp.3566-76, 2012.
- [2] Ding J et al., "EGCG ameliorates the suppression of long-term potentiation induced by ischemia at the Schaffer collateral-CA1 synapse in the rat.", Cell Mol Neurobiol., Vol.32(2), pp267-77, 2012.

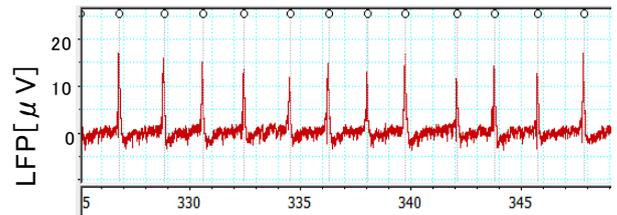


Figure 3. A typical LFP spikes recorded from procerebral cortex in slug.

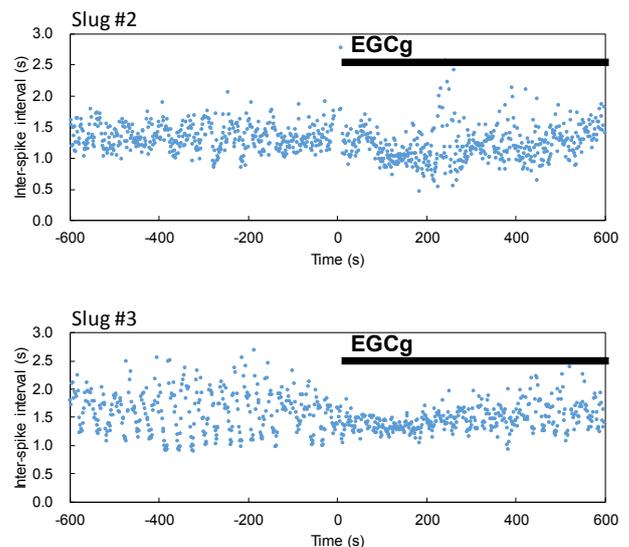


Figure 4. Effect of epigallocatechin gallate (EGCg) on LFP spikes. We added EGCg to a recording chamber at 0s.

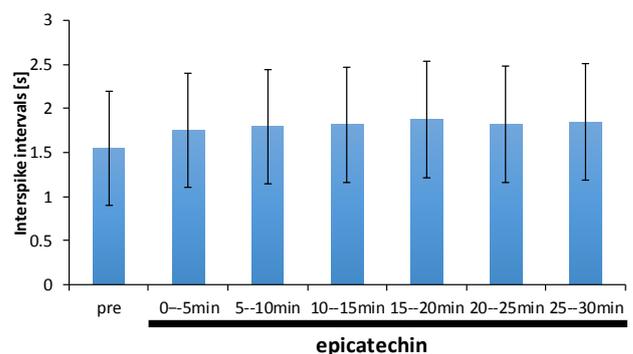


Figure 5. Effect of epicatechin (EC) on LFP spike activities.