

味覚連合記憶における緑茶由来カテキン類の作用評価

The combined effect of green tea-derived catechins on long-term memory formation of taste aversive conditioning in *Lymnaea*

松岡英樹¹, 伊藤綾香², 斎藤稔², 小松崎良将³

Hideki Matsuoka, Ayaka Itoh, Minoru Saito, Yoshimasa Komatsuzaki

Abstract: Green tea contains four main types of catechins. One of them, epicatechin (EpiC), has the enhancing effect on long-term memory (LTM) formation in *Lymnaea*. Here, we exposed *Lymnaea* to a mixture of four catechins from green tea during taste aversion conditioning to see if they had the same effect as EpiC. The results showed that the catechin mixture did not have the same effect as EpiC. Next, we demonstrated that exposure to 1.5 mg/L EpiC, which is the equal level of the catechin mixture, during training enhanced the LTM formation. These results suggest that the combination of different types of catechins may have a competitive effect on long-term memory formation in *Lymnaea*.

1. はじめに

緑茶の主要成分であるカテキン類は、抗酸化作用・癌発生率抑制・空間記憶能の強化など様々な生理活性が報告されており^[1]、生活の質向上が期待できる植物性化学物質 (phyto-chemical) として注目されている。最近、緑茶カテキンの1つであるエピカテキンが、軟体動物であるヨーロッパモノアラガイ (*Lymnaea stagnalis*; 以下、モノアラガイ) の長期記憶形成を強化することが報告されている^[2, 3]、その認知機能に対するカテキン作用メカニズムは不明のままである。

軟体動物は、比較的単純な神経構造を持ちながら、古典的条件付け・オペラント条件付け学習などにより記憶形成が可能なることから、認知機能を細胞・分子レベルで解明するためのモデル動物として、多くの研究に用いられてきた。その中でもモノアラガイは、摂食系・呼吸系の中心神経回路が詳しく調べられており、各神経回路を構成する主要なニューロンとその役割が同定されている。本研究において、モノアラガイの認知機能に対する緑茶由来カテキンの影響を調べることを目的とした。具体的には、緑茶由来のカテキン混合物存在下でモノアラガイの味覚連合学習を行い、その後の記憶形成の影響を検証した。

2. 実験方法

本研究で用いたモノアラガイは、アムステルダム自由大学 (オランダ) 由来で日本大学文理学部・斎藤研究室から譲り受け、当研究室で10年以上飼育継代した個体を用いた。実験においては、殻長17 mm から31 mm の個体を用いた。これらのモノアラガイは餌としてレタスを与えられ、不純物が取り除かれた水道水中で飼育されたものである。

味覚連合学習では、条件刺激としてモノアラガイの咀嚼行動を誘発する10 mmol/L スクロース溶液を用い、無条件刺激として咀嚼行動を抑制する10 mmol/L KCl 溶液を用いた。プレテスト、トレーニング (味覚連合学習)、ポストテストの順で行った。各テスト・トレーニングの前に、測定環境に馴化させるため pond water (PW; モノアラガイ飼育水) の入ったシャーレにモノアラガイを10分間静置した。プレテスト・ポストテストでは、馴化後にシャーレ内でスクロース溶液を15秒間与えた後、PW に入れ替え、咀嚼回数を5分間記録した。トレーニングでは、馴化後させたモノアラガイに対し、スクロース溶液に15秒間、その後KCl 溶液を15秒間与え、その後9分30秒間PW に交換し休ませた。この一連の操作を10回繰り返した。カテキン類を

1 : 日大理工・院 (前)・物理, 2 : 日大文理・生命, 3 : 日大理工・教員・物理

作用させる個体にはPW中にカテキンを溶解させたPWで9分30秒間休ませた。

3. 実験結果

モノアラガイの味覚連合学習による記憶形成に対する緑茶由来のカテキン混合物の影響を調べるために、トレーニング中に15 mg/Lのカテキン混合物 (catechin mixture, 富士フィルム和光純薬) を与えた結果、1週間後のポストテストではそしゃく回数が減少していることがわかった。2週間後のポストテストとプレテストの間には統計的に有意な差はなかった (Fig.1B)。この結果は、PWのみでトレーニングした結果 (Fig.1A) と同様の傾向を示していた。一方、15 mg/L カテキン混合物に含まれる濃度に相当する、3.8 mg/L エピカテキン (epicatechin, Sigma-Aldrich) をトレーニング中に作用させると、2週間後のポストテストにおいても咀嚼回数が減少したままで、プレテストとの間においても統計的に有意な減少が認められた。

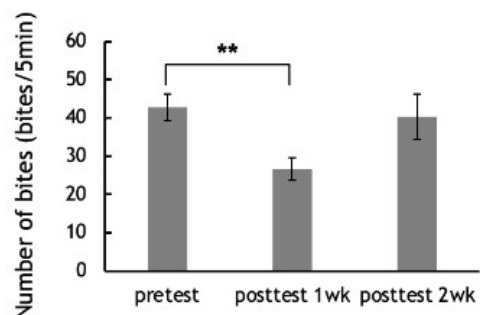
4. 考察

本研究の結果から、カテキン混合物には、先行研究で報告されているエピカテキンのようなモノアラガイの長期記憶形成を強化する働きはないと考えられる。また、エピカテキンの記憶増強作用は15 mg/Lよりも低濃度でも発現することが示された。これら結果から、異なる種類のカテキンはモノアラガイの長期記憶形成に対して、競合的に作用する可能性があることが考えられる。

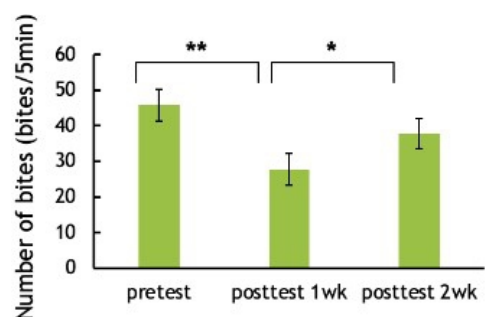
5. 参考文献

- [1] Teixeira, A.M., Sousa, C.A.: "Review on the Biological Activity of Camellia Species.", *Molecules* Vol. 26, No.8: 2178, 2021.
- [2] Itoh, A., Komatsuzaki, Y., Lukowiak, K., Saito, M. "Epicatechin increases the persistence of long-term memory formed by conditioned taste aversion in *Lymnaea*.", *J. Exp. Biol.*, Vol.224, No.3: jeb238055, 2021.

A (training in PW without catechins)



B (training with catechin mixture)



C (training with epicatechin)

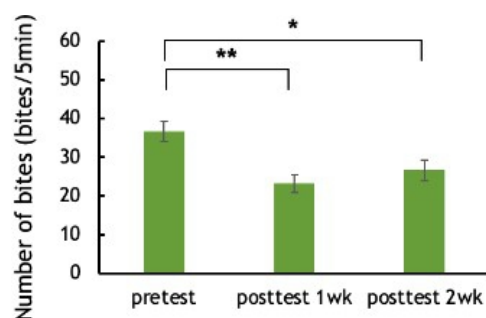


Figure1. (A) Following a taste aversive training with PW alone, the snails did not have a memory 2 weeks after the training. Whereas, epicatechin enhances long-term memory formation (C) but not catechin mixture (B).