

興奮性細胞における細胞内カルシウム イオン濃度の調節

高橋 恭一

(受付 2013年10月23日)

はじめに

生物は水、有機物¹⁾ および無機物によって構成されている。水および有機物を構成する主要元素は酸素 (O)、炭素 (C)、水素 (H) と窒素 (N) であり、ヒトではこれらの元素が体重の約96%を占める (Emsley, 1998)。残り4%として、カルシウム (Ca)、リン (P)、イオウ (S)、カリウム (K)、ナトリウム (Na)、塩素 (Cl)、マグネシウム (Mg)、ケイ素 (Si)、鉄 (Fe)、フッ素 (F)、亜鉛 (Zn)、マンガン (Mn)、コバルト (Co)、銅 (Cu)、モリブデン (Mo)、ニッケル (Ni)、ヨウ素 (I)、クロム (Cr) とセレン (Se) などが存在している (Emsley, 1998)。O、C、H と N 以外の元素はミネラルと呼ばれ、⑦生体の構成成分 (例えば、Ca や P などは骨や歯の構成成分など)、①生体物質の構成成分 (例えば、Mn、Cu や Zn は酵素、Co はビタミンそして I はホルモンの構成成分など) そして⑤生体機能の調節 (例えば、Na、K や Mg などは体液中にイオンとして存在し、pH、浸透圧、筋収縮や神経細胞間の情報伝達に関与など) の機能を果たしている。

生体ミネラルの中で Ca が最も多く、生体の構造維持に必要な骨格を形成している。骨以外 (体液中や細胞内) で Ca はカルシウムイオン (Ca^{2+}) として存在し、生体機能調節に極めて重要な役割を演じている。本稿では、興奮性細胞における細胞内 Ca^{2+} の役割ならびに Ca^{2+} 濃度変化のしくみを概説する。

生物体内の Ca

生体内で Ca は沈着型、遊離型そしてタンパク質結合型の3つの状態で存在している。ヒ

1) 元来、有機物とは生物が生成し得る化学物質を指していた。しかし、有機物が人工的に合成できるようになって以降、C (炭素元素) を含む化合物を有機物と呼ぶようになった。ヒトの身体を構成する有機物として、タンパク質、糖質、脂質、核酸やビタミンがある。

ト身体内のCaは体重の2%程度であり、その98%以上が骨（や歯）にヒドロキシアパタイト（ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ ）として存在している（沈着型カルシウム）。残り2%程は、体液（血液や細胞内液）中で遊離のカルシウムイオン（ Ca^{2+} ）としてあるいはタンパク質と結合して存在している（遊離型カルシウムおよびタンパク質結合型カルシウム）（Mundy & Guise, 1999; Pravina *et al.*, 2013）。血液中の Ca^{2+} 濃度は副甲状腺ホルモン、ビタミンDやカルシトニンなどのホルモン²⁾によって調節されている（Petersen *et al.*, 1994; Mundy & Guise, 1999）。

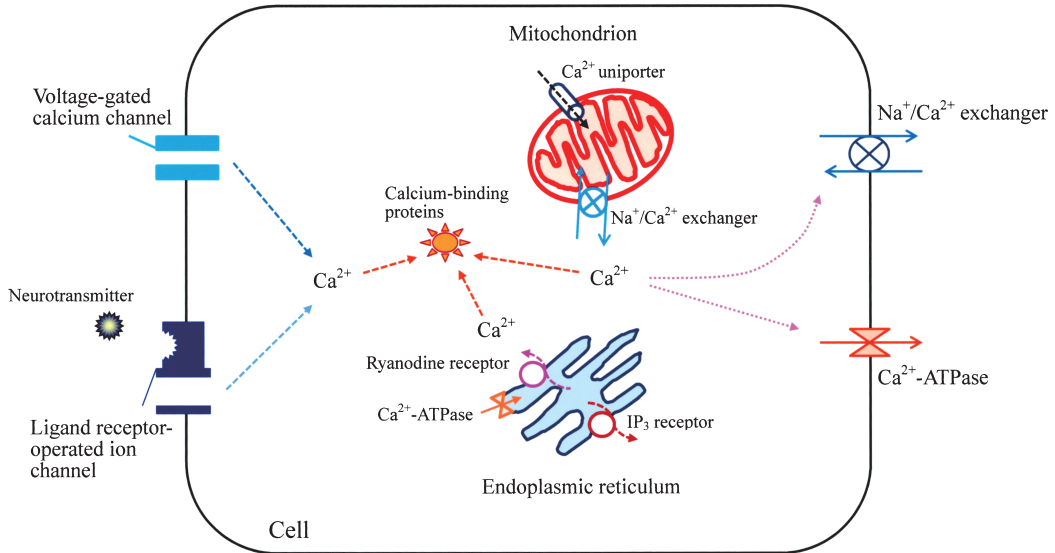
細胞内外の Ca^{2+} 濃度差は顕著であり、細胞外 Ca^{2+} は2.5 mM（ 10^{-3} のオーダー）程であるに対し、細胞内（小胞体やミトコンドリアなどは除く。）は50~100 nM（ 10^{-7} Mのオーダー）に維持されている（Simons, 1988）。細胞内の Ca^{2+} 濃度上昇は細胞死の原因となるため、低く維持されている（Kass & Orrenius, 1999; Bronner, 2001）。細胞内 Ca^{2+} 濃度を低く保つしくみとして、㊦ Ca^{2+} の細胞外への排出、㊧細胞内 Ca^{2+} の細胞内 Ca^{2+} 貯蔵庫（小胞体など）への取り込み、そして㊨細胞内 Ca^{2+} の Ca^{2+} 結合タンパク質によるキレート作用などが知られている（Bronner, 2001）。

細胞内の Ca^{2+} 濃度変化

興奮性細胞は刺激を受けると、細胞内 Ca^{2+} 濃度が速やかに上昇する。細胞膜にはリガンドレセプター（NMDA型グルタミン酸レセプター、AMPA型グルタミン酸レセプター、代謝調節型グルタミン酸レセプター、ニコチン型アセチルコリンレセプター）や電位依存性カルシウムチャネル（L型カルシウムチャネル、N型カルシウムチャネル、P/Q型カルシウムチャネル、R型カルシウムチャネル、T型カルシウムチャネル）が発現し、 Ca^{2+} の細胞内への供給路となっている（Parekh & Putney, 2005; Bootman, 2012; Grienberger & Konnerth, 2012）（第1図参照）。また、小胞体にはイノシトール三リン酸レセプター（Inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor; IP_3 receptor）とリアノジンレセプター（Ryanodine receptor）³⁾が発現し、必要に応じて細胞内（細胞質）に Ca^{2+} を供給している（Clapham, 1995; Parekh &

-
- 2) 副甲状腺ホルモンは腸管での Ca^{2+} 吸収、骨からの Ca^{2+} 溶出そして腎臓での Ca^{2+} 再吸収を促進する。一方、カルシトニンは腸管での Ca^{2+} 吸収と腎臓での Ca^{2+} 再吸収を抑制し、骨への Ca^{2+} 沈着を促進する。ビタミンDは腸管での Ca^{2+} 吸収と骨への Ca^{2+} 沈着を促進する。副甲状腺ホルモンとビタミンDは血液中の Ca^{2+} 濃度を上昇させ、カルシトニンは Ca^{2+} 濃度を減少させる。
 - 3) IP_3 レセプターとリアノジンレセプターは共に Ca^{2+} 放出チャネルタンパク質である。 IP_3 レセプターは IP_3 あるいは Ca^{2+} によって、そしてリアノジンレセプターは Ca^{2+} によって活性化され、小胞体内から Ca^{2+} を細胞内（細胞質）に放出する。 IP_3 レセプターは殆ど全ての細胞に発現し、細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加を介して多くの生理機能を支えている。一方、リアノジンレセプターは心筋そして骨格筋に発現し、細胞内 Ca^{2+} 濃度増加を誘発し、筋収縮を引き起こす。また、平滑筋と神経細胞では IP_3 レセプターとリアノジンレセプターの両方が機能していることが報じられている。

興奮性細胞における細胞内カルシウムイオン濃度の調節



第1図：細胞内 Ca²⁺ 濃度の調節

細胞内の Ca²⁺ 濃度は、細胞膜に発現するリガンドレセプターに連動して開閉するイオンチャネル (Ligand receptor-operated ion channel), 電位依存性カルシウムチャネル (Voltage-gated calcium channel), Na⁺/Ca²⁺ エクスチェンジャー (Na⁺/Ca²⁺ exchanger) や Ca²⁺-ATPase に加え、細胞内に存在する小胞体やミトコンドリアを介して調節されている。小胞体にはイノシトール三リン酸レセプター ((Inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor; IP₃ receptor) とリアノジンレセプター (Ryanodine receptor) が発現し、小胞体内から細胞内 (細胞質) に Ca²⁺ を放出する。一方、細胞内 (細胞質) の Ca²⁺ は Ca²⁺-ATPase を介して小胞体内に取り込まれる。最近、ミトコンドリア (Mitochondrion) に発現する Ca²⁺ ユニポーター (Ca²⁺ uniporter) を介して細胞内 (細胞質) の Ca²⁺ がミトコンドリア内に、そして Na⁺/Ca²⁺ エクスチェンジャーを介してミトコンドリア内の Ca²⁺ が細胞内 (細胞質) に放出されることが明らかになってきた。細胞内 (細胞質) で増加した Ca²⁺ は、Ca²⁺ 結合タンパク質 (Calcium-binding proteins) と結合して各種の機能を発現する。近年、遺伝子発現に影響することも明らかにされている (Berridge *et al.*, 2000; West *et al.*, 2001; Carasco & Hidalgo, 2006)。

Putney, 2005)。細胞内 Ca²⁺ 濃度は非刺激時に 10⁻⁷ M 程であるが、刺激が加わると 10⁻⁵ M を凌駕する濃度にまで上昇する (Berridge *et al.*, 2000)。

細胞内の Ca²⁺ 濃度を減少させるしくみも複数備わっている (Parekh & Putney, 2005; Bootman, 2012)。例えば、細胞膜にはナトリウムイオン (Na⁺)/Ca²⁺ エクスチェンジャーや Ca²⁺-ATPase が発現し、細胞内の Ca²⁺ を細胞外に排出している。また、小胞体には Ca²⁺-ATPase が発現し、細胞質の Ca²⁺ 減少に寄与している (Parekh & Putney, 2005; Bootman, 2012)。近年、ミトコンドリアが細胞内 Ca²⁺ 濃度の調節に関与している可能性も指摘されている (Duchen, 2000; Pozzan & Rizzuto, 2000; Hollenbeck, 2005; Palty *et al.*, 2010; Perocchi *et al.*, 2010)。

細胞内 Ca^{2+} の生理作用

これまでの研究によって、興奮性細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇は膜電位変化（脱分極）に関与するのみならずセカンドメッセンジャー（細胞内二次的情報伝達物質）⁴⁾ として各種の生理機能に寄与していることが報じられている（Bootman *et al.*, 2001; Parekh & Putney, 2005; Bootman, 2012）。具体的には、興奮性細胞では筋収縮、神経伝達物質の放出、シナプスの可塑性、神経軸索の伸展調節やシナプス形成などが挙げられる。細胞内の Ca^{2+} がセカンドメッセンジャー機能を発揮する際、タンパク質と連動することが多い。これまでに、 Ca^{2+} と結合するタンパク質としてカルモジュリン、パルブアルブミン、カルレチニン、カルトラクチン、カルサイクリン、カルシニューリン、プロテインキナーゼ C、ホスホリパーゼ C、カルパイン、カルビンディン、トロポニン C や S100 ファミリーなどが知られている（Baimbridge *et al.*, 1992; Clapham, 1995; Burgoyne & Weiss, 2001）。これらのタンパク質の中で、カルモジュリンが最も普遍的な Ca^{2+} 結合タンパク質であり、カルシウム-カルモジュリン複合体が細胞内の複数のタンパク質（フォスホリラーゼキナーゼ、ミオシン軽鎖キナーゼ、CaM キナーゼ [calcium-calmodulin dependent protein kinase] I~IV、CaM キナーゼキナーゼなど）の機能制御に与っている（Chin & Means, 2000; Racioppi & Means, 2012）。

興奮性細胞における細胞内 Ca^{2+} 濃度の調節

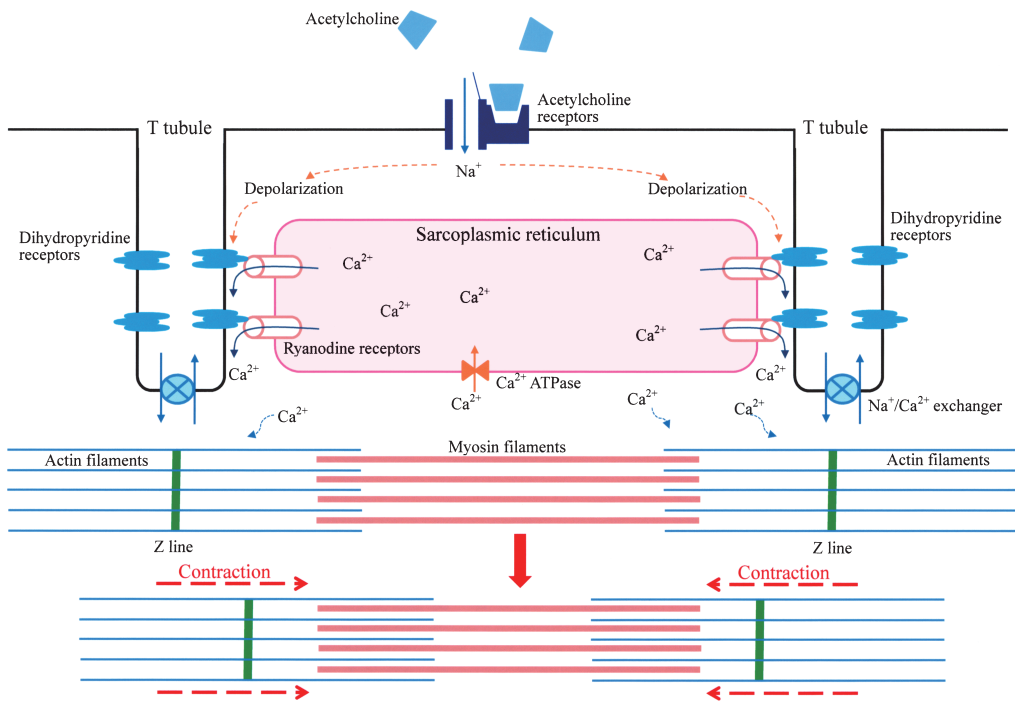
細胞内の Ca^{2+} はセカンドメッセンジャーとして多くの機能調節に関わっている。本項では、筋細胞、神経細胞ならびに視細胞における細胞内 Ca^{2+} の機能と動態を紹介する。

(a) 筋収縮と Ca^{2+} 制御

骨格筋は、直径 50~100 μm の横紋筋線維が多数集まってできている。筋線維（筋細胞）は直径 1~2 μm の筋原線維の集合体である（筋線維の長さは部位によって異なる。）。筋原線維は 2 種類の筋フィラメントからなる。太いフィラメントはミオシンそして細いフィラメントはアクチンというタンパク質で構成されている。細いフィラメントにはアクチンに加え、トロポニンとトロポミオシンと呼ばれるタンパク質が付着している（Gomes *et al.*, 2002）。

4) 細胞膜上のリガンドレセプターにリガンド（例えば、神経伝達物質やホルモンなど）が結合したとき、細胞内で惹起される変化を媒介する物質をセカンドメッセンジャーという。代表的なセカンドメッセンジャーとして、環状アデノシン一リン酸（cyclic Adenosine 3', 5'-monophosphate; cAMP）、環状グアノシン一リン酸（cyclic Guanosine 3', 5'-monophosphate; cGMP）、イノシトール三リン酸（Inositol 1, 4, 5-trisphosphate; IP_3 ）、ジアシルグリセロール（1, 2-Diacylglycerol; DAG）、 Ca^{2+} などがある。

運動神経終末からアセチルコリン (Acetylcholine) が放出されると、神経筋接合部 (神経と筋のシナプス部) を拡散し筋細胞膜上のニコチン型アセチルコリンレセプター (Acetylcholine receptor) にまで達し、結合する (Hirsch, 2007)。この結果、終板電位 (シナプス電位) が発生する。この終板電位が閾値を超えれば、筋細胞に活動電位が発生する。この活動電位はT管 (T tubule) に発現するジヒドロピリジンレセプター (Dihydropyridine receptor) を活性化し、このレセプターと連結する筋小胞体 (Sarcoplasmic reticulum) のリアノジンレセプター (Ryanodine receptor) カルシウム放出チャネルを開口させて Ca^{2+} を細胞内 (細胞質) に放出する (Fill & Copello, 2002) (第2図参照)。この Ca^{2+} がトロポニンC (Ca^{2+} 結



第2図：筋収縮における Ca^{2+} の役割

運動神経終末から放出されたアセチルコリン (Acetylcholine) は神経筋接合部を拡散し、筋細胞に発現するアセチルコリンレセプター (Acetylcholine receptor) に結合し、脱分極 (Depolarization) を発生する。この脱分極は筋細胞に活動電位を惹起し、T管 (T tubule) に発現するジヒドロピリジンレセプター (Dihydropyridine receptor) を活性化する。筋小胞体 (Sarcoplasmic reticulum) にはジヒドロピリジンレセプターと連結するリアノジンレセプター (Ryanodine receptor) が存在し、ジヒドロピリジンレセプターの活性化に伴いリアノジンレセプターカルシウム放出チャネルが開口し、小胞体内から細胞内 (細胞質) に Ca^{2+} が放出される。この Ca^{2+} はトロポニンC (Ca^{2+} 結合タンパク質) に結合し、アクチンフィラメント (Actin filament) とミオシンフィラメント (Myosin filament) の相互作用を可能にする。この結果、筋収縮 (Contraction) が生じる。運動神経の活動が停止し、活動電位が消失すると、 Ca^{2+} は Ca^{2+} -ATPase を介して筋小胞体に取り込まれるか、あるいは細胞膜上の $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ エクスチェンジャー ($\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger) によって細胞外に汲み出され、細胞質 Ca^{2+} が減少し筋収縮は終了する。

合タンパク質)と結合すると、トロポニンCを含むトロポニン複合体の構造が変化し、トロポミオシンによるアクチンとミオシンの結合阻害が解除される。結果として、筋線維は収縮する(Gomes *et al.*, 2002; Francini & Squecco, 2010)。運動神経の活動が停止(静止状態)すると、 Ca^{2+} は筋小胞体に発現する Ca^{2+} -ATPaseを介して取り込まれるか、あるいは細胞膜上の $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エクスチェンジャー($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger)を介して細胞外に汲み出され、細胞質 Ca^{2+} が減少するため筋収縮は終了する。

(b) 神経伝達物質放出と Ca^{2+} 制御

脊椎動物中枢神経系における化学シナプスでは、神経終末の細胞膜付近に神経伝達物質が充填されたシナプス小胞が多数認められる。活動電位が神経終末にまで到達すると、アクティブゾーン⁵⁾にある電位依存性カルシウムチャネル(Voltage-gated calcium channel)が開口し、シナプス終末内の Ca^{2+} 濃度が上昇する。この結果、シナプス小胞はシナプス終末の細胞膜に融合し、神経伝達物質を細胞外に放出する(Schneggenburger & Neher, 2005; Neher & Salaba, 2008)。これを、開口放出(Exocytosis)と呼ぶ。

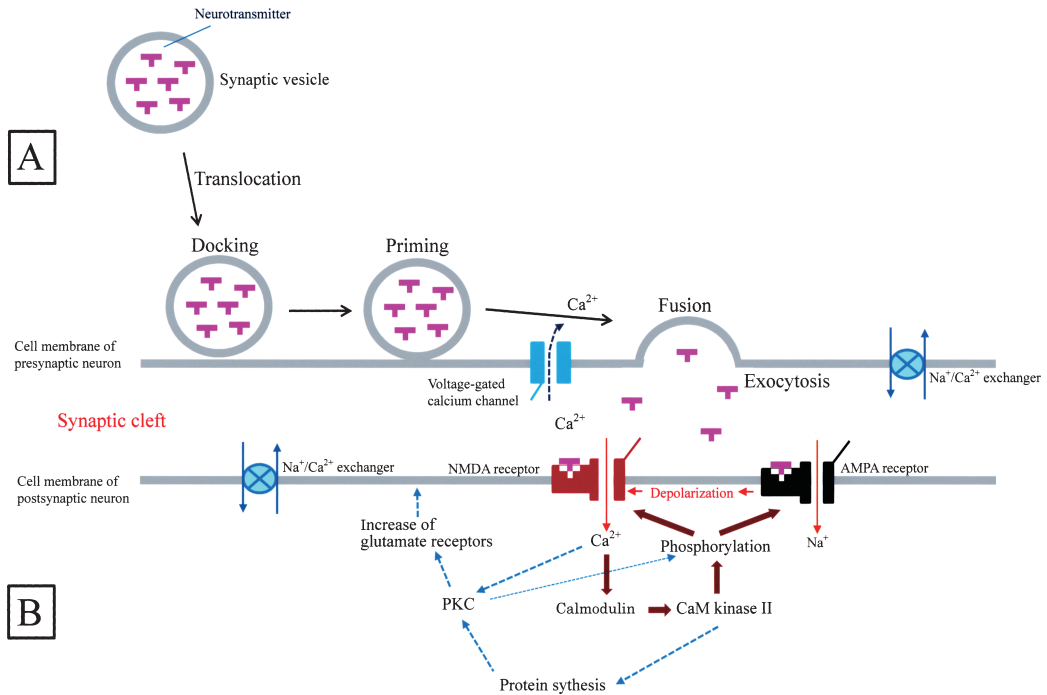
開口放出にはシナプス小胞の細胞膜付近への移動(Translocation)→細胞膜への付着(Docking)→放出準備過程(Priming)→シナプス小胞と細胞膜の融合(Fusion)→開口放出という一連の過程を経ることが知られている(Wojcik & Brose, 2007; Jahn & Fasshauer, 2012)(第3図A参照)。脱分極に伴いシナプス終末内に流入した Ca^{2+} はシナプス小胞上にあるシナプトタグミン(カルシウム・リン脂質結合タンパク質)に結合し、シナプス小胞がシナプス終末の細胞膜融合し開口放出すると考えられている(Jahn & Fasshauer, 2012)。神経細胞に活動電位が発生しなくなると、シナプス終末のカルシウムチャネル活性は消失し、細胞内の Ca^{2+} は細胞膜に発現する $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エクスチェンジャー($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger)や Ca^{2+} -ATPaseを介して細胞外に排出される。

(c) シナプス可塑性と Ca^{2+} 制御

記憶や学習⁶⁾のメカニズムとして、シナプスの可塑性が知られている(例えば, Ho *et al.*, 2012)。シナプスの可塑性は、神経細胞間のシナプス伝達の効率がシナプス入力の高さや頻

-
- 5) シナプス小胞が神経終末の細胞膜に融合し、神経伝達物質を放出する特殊な部位をアクティブゾーンという。近年、このアクティブゾーンに複数のタンパク質(Bassoon, Piccolo, RIM1やCASTなど)が発現していることが明らかになったが、機能については未だ不明である。
 - 6) 学習と記憶は脳の持つ高次機能であり、これらの形成にシナプスの可塑性が関係していることが提唱され、長期増強や長期抑圧がそのモデルとして長年研究されてきた。シナプス可塑性において、グルタミン酸レセプターが中心的な役割を果たしていることが明らかになっている。最近では、可塑性に関わる分子(タンパク質)や遺伝子レベルの研究が進行している。

興奮性細胞における細胞内カルシウムイオン濃度の調節



第3図：神経伝達物質放出 (A) と長期増強 (B) における Ca^{2+} の役割

A：神経細胞のシナプス終末には、神経伝達物質 (Neurotransmitter) を充填したシナプス小胞が存在する。シナプス小胞は、細胞膜付近への移動 (Translocation)→細胞膜への付着 (Docking)→放出準備過程 (Priming)→シナプス小胞と細胞膜の融合 (fusion)→開口放出という一連の過程を経る。開口放出には、アクティブゾーンに存在するカルシウムチャネルを介する細胞内への Ca^{2+} 流入が不可欠である。細胞内に流入した Ca^{2+} は、細胞膜に発現する $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エクスチェンジャー ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger) や Ca^{2+} -ATPase を介して排出される。B：頻回刺激などによって AMPA 型グルタミン酸レセプター (AMPA receptor) が持続的に活性化すると、シナプス後神経細胞には大きな脱分極 (Depolarization) が生じ、マグネシウムイオン (Mg^{2+}) による NMDA 型グルタミン酸レセプター (NMDA receptor) の阻害が除去される。このため、NMDA 型グルタミン酸レセプターは活性化し、細胞内に大量の Ca^{2+} が流入する。この Ca^{2+} はカルモジュリン (Calmodulin) を介して CaM キナーゼ II (CaM kinase II) を活性化し、AMPA 型グルタミン酸レセプターをリン酸化してシナプス電流を増大させる。また、 Ca^{2+} が PKC を活性化してグルタミン酸レセプターを増加 (Increase of glutamate receptors) させ、細胞膜への付加を制御している可能性がある。この経路は CaM キナーゼ II が新規タンパク質を合成 (Protein synthesis) することによっても生じる可能性がある。

度などによって可塑的に変化する現象であり、 Ca^{2+} やリン酸化酵素などのみならず、遺伝子発現も関与していることが明らかになっている (Ho *et al.*, 2012)。シナプス前神経細胞を高頻度で刺激すると、シナプス後神経細胞に現れるシナプス電位が増大し、これが長期間続くとき、この現象を期増強という。また、低頻度刺激などによりシナプス電位が長期間減弱することを長期抑圧という。

例えば、長期増強の誘発には細胞内 Ca^{2+} の増加が必須であり、また維持にも Ca^{2+} が不可欠であることが知られている (Kumar, 2011; Lüscher & Malenka, 2012)。哺乳動物脳の海

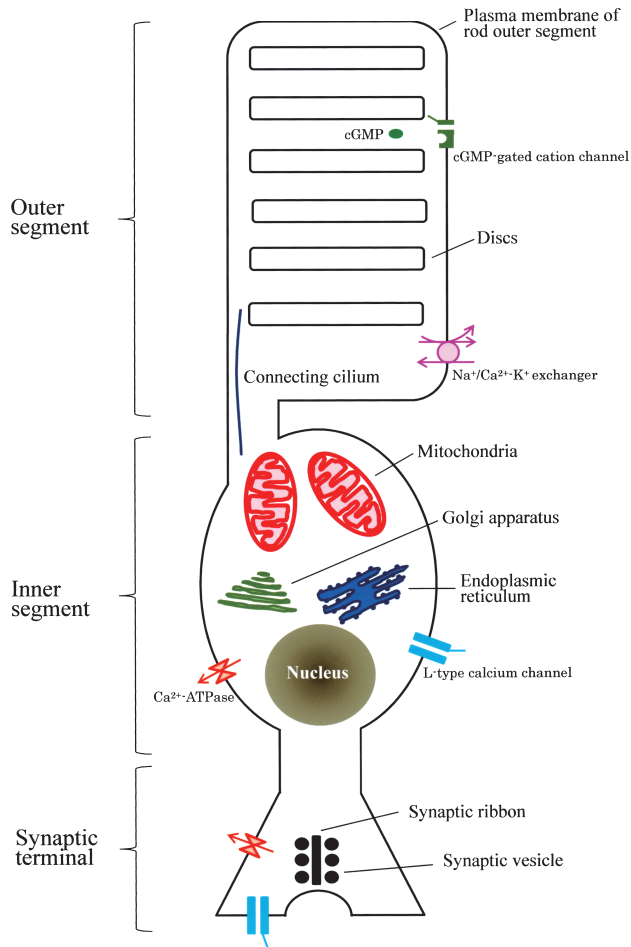
馬 CA3 領域にある錐体細胞から伸展するシェファー側枝は、CA1 領域の錐体細胞とシナプス結合している。このシナプスにおいてグルタミン酸が放出されると、(RS)- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4 isoxazolepropionic acid (AMPA) 型グルタミン酸レセプター (AMPA receptor) が活性化し、錐体細胞は脱分極する。ところが、高頻度刺激などによって AMPA 型グルタミン酸レセプターが持続的に活性化すると、錐体細胞に大きな脱分極 (Depolarization) が生じ、マグネシウムイオン (Mg^{2+}) による N-Methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸レセプター (NMDA receptor) の障害が除去される。この結果、NMDA 型レセプターが活性化し、錐体細胞内に大量の Ca^{2+} が流入する。この Ca^{2+} はカルモジュリン (Calmodulin) を介して CaM キナーゼ II (CaM kinase II) を活性化し、AMPA 型グルタミン酸レセプターをリン酸化してシナプス電流を増大させる (Lledo *et al.*, 1995; Barria *et al.*, 1997) (第 3 図 B 参照)。これが長期増強の始まりである。さらに、細胞内の Ca^{2+} は新規のタンパク質合成 (Protein synthesis) やプロテインキナーゼ C (Protein kinase C; PKC) を活性化する経路を介して長期増強を維持することも報じられている (Malinow *et al.*, 1989; Solderling & Derkach, 2000; Kudoh *et al.*, 2001; Ling *et al.*, 2006)。細胞内に流入した Ca^{2+} はタンパク質と結合し機能を発現することはよく調査されているが、この Ca^{2+} 結合タンパク質がどのように活動を停止するのか、その後細胞内に流入した Ca^{2+} がどのように排出されるのかなどについては十分に解明されていない。とはいえ、細胞膜に発現する Na^+/Ca^{2+} エクスチェンジャーや Ca^{2+} -ATPase ならびに細胞内の小胞体などによる調節が行われていることに疑いの余地はない。

(d) 脊椎動物網膜桿体による光受容と Ca^{2+} 制御

桿体は、外節 (Outer segment)、内節 (Inner segment) そしてシナプス終末 (Synaptic terminal) の 3 つの部分からなる (第 4 図参照)。外節では光受容と膜電位変化の発生、内節では光応答の形成そしてシナプス終末では神経伝達物質の放出と、それぞれが異なる機能を営んでいる。

網膜が光照射されると、桿体外節内にある円盤膜上のロドプシンはフォトロドプシン→バソロドプシン→ルミロドプシン→メタロドプシン I→メタロドプシン II と変化する。メタロドプシン II はトランスデューシンを、続いてトランスデューシンはホスホジエステラーゼを活性化する (例えば, Hong, 1999; Lamb & Pugh, 2006)。この結果、細胞質の環状グアノシン一リン酸 (cyclic Guanosine 3', 5'-monophosphate; cGMP) は Guanosine 5'-monophosphate に分解され、一連の光化学反応が終了する (Kawamura, 1993b, 1994)。桿体外節の形質膜 (細胞膜) (Plasma membrane of outersegment) には、cGMP の結合に伴い開口する陽イオンチャネル (cGMP 依存性陽イオンチャネル) (cGMP-gated cation channel) が存在する。

興奮性細胞における細胞内カルシウムイオン濃度の調節



第4図：桿体におけるCa²⁺調節

脊椎動物網膜には、昼光視に関係する錐体と薄明視に関係する桿体の2種類が存在する。桿体には視物質としてロドプシンが存在し、この物質が光を受容すると、光化学反応が進行する。結果として、外節（Outer segment）内のcGMPが減少する。暗時には、外節内に大量のcGMPが存在し、外節の細胞膜（Plasma membrane of outer segment）に発現するcGMP依存性陽イオンチャネル（cGMP-gated cation channel）を開口している。このチャネルを通じて、細胞外からNa⁺やCa²⁺が外節内に流入する。Ca²⁺は外節内でCa²⁺結合タンパク質に結合し、光感度調節などの働きをしている。細胞内からCa²⁺はNa⁺/Ca²⁺-K⁺エキスチャンジャー（Na⁺/Ca²⁺-K⁺ exchanger）を介して細胞外に排出される。外節は結合線毛（Connecting cilium）を介して内節（Inner segment）に繋がっている。内節には、細胞核（Nucleus）、小胞体（Endoplasmic reticulum）、ゴルジ体（Golgi apparatus）そしてミトコンドリア（Mitochondria）などが存在し、代謝の中心をなしている。この部位にはL型カルシウムチャネル（L-type calcium channel）が発現し、内節内へのCa²⁺の供給をしている。勿論、小胞体も内節内へのCa²⁺供給に寄与している。また、シナプス終末（Synaptic terminal）にもL型カルシウムチャネルが発現し、シナプスリボン（Synaptic ribbon）周辺に存在するシナプス小胞（Synaptic vesicle）を開口放出させるためにシナプス終末内にCa²⁺を供給している。近年、カルシウムチャネル以外にシナプス終末内に存在する小胞体もCa²⁺の供給源であることが報じられている。内節およびシナプス終末の細胞内Ca²⁺の除去には、細胞膜に発現するCa²⁺-ATPaseのみならず細胞内の小胞体やミトコンドリアなどが関与している。

暗時には外節内に多量の cGMP が存在するため、cGMP 依存性陽イオンチャネルは開口状態にある。このため、 Na^+ や Ca^{2+} などが電気化学的勾配に従い細胞外から内に流入し、桿体は脱分極する。光受容に伴い細胞質の cGMP 濃度が減少すると、この cGMP 依存性陽イオンチャネルは閉塞し、 Na^+ などの流入が減少あるいは消失するため、桿体は過分極する (Pugh & Lamb, 1990, 1993; Kawamura, 1993b, 1994)。外節で発生した膜電位変化は、内節の細胞膜に発現する各種のイオンチャネルによる修飾を受け、光応答 (膜電位変化) を形成する。この光応答に基づき、シナプス終末ではグルタミン酸の放出量を調節する。桿体各部には固有の Ca^{2+} 供給経路と排出機構が存在し、各部の特異な機能を支えている。

d-1 桿体外節の Ca^{2+} 調節

暗時には cGMP 依存性陽イオンチャネルを介して流入する Ca^{2+} によって、外節内の Ca^{2+} 濃度は 500 nM にも達する (Gray-Keller & Detwiler, 1994)。また、明時には外節内の Ca^{2+} 濃度は暗時の数分の一以下にまで減少する。外節内に流入した Ca^{2+} はリカバリン (cGMP 分解を Ca^{2+} 濃度依存的に制御するタンパク質)、カルモジュリン (cGMP 依存性陽イオンチャネルへの cGMP 結合性を制御するタンパク質) や Guanylate cyclase activating protein (GCAP) (外節内の Ca^{2+} 濃度の減少に伴い cGMP 合成酵素を活性化するタンパク質) などの Ca^{2+} 依存性タンパク質の活性を制御し、桿体の光感度などを調節している (Koch & Stryer, 1988; Kawamura, 1993a; Hsu & Molday, 1994)。また、外節内で上昇した Ca^{2+} は $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}-\text{K}^+$ エクスチェンジャー ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}-\text{K}^+$ exchanger) を介して細胞外に排出される (Yau & Nakatani, 1984; Prinsen *et al.*, 2002) (第 4 図参照)。

d-2 桿体内節の Ca^{2+} 調節

内節には細胞核 (Nucleus)、ゴルジ体 (Golgi apparatus)、小胞体 (Endoplasmic reticulum) やミトコンドリア (Mitochondria) も存在し、桿体の代謝の中心である。内節への Ca^{2+} 供給経路として、細胞膜に発現する電位依存性 (L 型) カルシウムチャネル (L-type calcium channel) と細胞内に存在する小胞体などが知られている (Bader *et al.*, 1979; Barnes, 1994; Krizaj *et al.*, 1999, 2003) (第 4 図参照)。内節ならびにシナプス終末に発現する L 型カルシウムチャネルは、化学物質 (細胞内外の Ca^{2+} 、ドーパミン、水素イオンなど) による修飾作用を受けることが知られている (Barnes *et al.*, 1993; Barnes, 1994; Baldrige *et al.*, 1998; Stella & Thoreson, 2000)。カルシウムチャネルと小胞体以外に、細胞内に存在するミトコンドリアも細胞内 Ca^{2+} 調節に関与している可能性がある (Szikra & Krizaj, 2007)。内節内の Ca^{2+} は細胞膜に発現する Ca^{2+} -ATPase を介して細胞外に排出されると同時に、小胞体やミトコンドリア内に回収される (Krizaj *et al.*, 2003)。

d-3 桿体シナプス終末の Ca^{2+} 調節

視細胞のシナプス終末にはシナプスリボン (Synaptic ribbon) という特殊な構造が認めら

れる (Heidelberger *et al.*, 2005; Fox & Sanes, 2007)。シナプス終末内のシナプス小胞 (Synaptic vesicle) が開口放出するには Ca^{2+} が必要であり, この Ca^{2+} はシナプスリボン直下の細胞膜に発現する L 型カルシウムチャネルを介して供給されている (第 4 図参照)。シナプス終末内に流入した Ca^{2+} は細胞膜に発現する Ca^{2+} -ATPase を介して排出される。また, シナプス終末内には小胞体が存在しており, この小胞体に発現するリアノジンレセプターが細胞内 Ca^{2+} 濃度の調節に関与している可能性も報じられている (Krizaj *et al.*, 1999, 2003; Cadetti *et al.*, 2006)。

おわりに

興奮性細胞のみならず非興奮性細胞においても細胞内 Ca^{2+} の機能解析が進み, 代謝, 免疫, 内分泌, 受精, 発生, 分化, 細胞分裂や細胞運動などの重要な生理現象に関わっていることが報じられている (Berridge *et al.*, 2000; Clapham, 2007)。近年, 細胞内 Ca^{2+} 濃度を可視化する技術が進歩し, 細胞内で Ca^{2+} が示す時間的および空間的な変化を観察することができるようになってきた (Takahashi *et al.*, 1999)。実際, Ca^{2+} の時空間的なパターンの変化が, カルシウムウエーブやカルシウムオシレーションなどとして捉えられ, これらが Ca^{2+} の機能発現に重要な意味を持つことも解明されつつある (Berridge *et al.*, 2000; Dupont *et al.*, 2011; Ross, 2013)。今後, Ca^{2+} の生理作用における分子基盤の解明ならびに病態との関連に関する研究が進展することが望まれる。

引用文献

- Baimbridge, K. G., Ceilo, M. R. and Rogers, J. H. (1992), Calcium-binding proteins in the nervous system, *Trends Neurosci.*, **15**: 303–308.
- Bader, C. R., Macleish, P. R. and Schwartz, E. A. (1979), A voltage clamp study of the light response in solitary rods of the tiger salamander, *J. Physiol.*, **296**: 1–26.
- Baldrige, W. H., Kurenyi, D. E. and Barnes, S. (1998), Calcium-sensitive calcium influx in photoreceptor inner segments, *J. Neurophysiol.*, **79**: 3012–3018.
- Barnes, S. (1994), After transduction: Response shaping and control of transmission by ion channels of the photoreceptors inner segment, *Neuroscience*, **3**: 447–459.
- Barnes, S., Merchant, V. and Mahmud, F. M. (1993), Modulation of transmission gain by protons at the photoreceptor output synapse, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **90**: 10081–10085.
- Barria, A., Muller, D., Derkach, V., Griffith, L. C. and Soderling, T. R. (1997), Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation, *Science*, **276**: 2042–2045.
- Berchtold, M. W., Brinkmeier, H. and Muntener, M. (2000), Calcium ion in skeletal muscle: Its crucial role for muscle function, plasticity, and disease, *Physiol. Rev.*, **80**: 1215–1254.
- Berridge, M. J., Lipp, P. and Bootman, M. D. (2000), The versatility and universality of calcium signalling, *Nature Rev.*, **1**: 11–21.
- Bootman, M. D. (2012), Calcium signaling, *Cold Spring Harb. Perspect Biol.*, **4**: 1–3.

- Bootman, M. D., Lipp, P. and Berridge, M. J. (2001), The organization and functions of local Ca^{2+} signals, *J. Cell Sci.*, **114**: 2213–2222.
- Bronner, F. (2001), Extracellular and intracellular regulation of calcium homeostasis, *ScientificWorld*, **1**: 919–925.
- Burgoyne, R. D. and Weiss, J. L. (2001), The neuronal calcium sensor family of Ca^{2+} -binding proteins, *Biochem. J.*, **353**: 1–12.
- Cadetti, L., Bryson, E. J., Ciccone, C. A., Rable, K. and Thoreson, W. B. (2006), Calcium-induced calcium release in rod photoreceptor terminals boosts synaptic transmission during maintained depolarization, *Eur. J. Neurosci.*, **23**: 2983–2990.
- Carrasco, M. A. and Hidalgo, C. (2006), Calcium microdomains and gene expression in neurons and skeletal muscle cells, *Cell Calcium*, **40**: 575–583.
- Chin, D. and Means, A. R. (2000), Calmodulin: a prototypical calcium sensor, *Trends Cell Biol.*, **10**: 322–328.
- Clapham, D. E. (1995), Calcium signaling, *Cell*, **80**: 259–268.
- Clapham, D. E. (2007), Calcium signaling, *Cell*, **131**: 1047–1058.
- Duchen, M. R. (2000), Mitochondria and calcium: from cell signaling to cell death, *J. Physiol.*, **529**: 57–68.
- Dupont, C., Combettes, L., Bird, G. S. and Putney, J. W. (2011), Calcium oscillations, *Cold Spring Herb. Perspect. Biol.*, **3**: 1–18.
- Emmsley, J. (1999), *The Elements*, 3rd ed., Oxford, Clarendon Press.
- Fill, M. and Copello, J. A. (2002), Ryanodine receptor calcium release channels, *Physiol. Rev.*, **82**: 893–922.
- Fox, M. A. and Sanes, J. R. (2007), Synaptotagmin I and II are present in distinct subsets of central synapses, *J. Comp. Neurol.*, **503**: 280–296.
- Francini, F. and Squecco, R. (2010), Excitation-contraction coupling and mechano-sensitivity in denervated skeletal muscle, *Eur. J. Transloc. Myol.*, **1**: 121–130.
- Gomes, A. V., Potter, J. D. and Szeszyna-Cordary, D. (2002), The role of troponins in muscle contraction, *IUBMB Life*, **54**: 323–333.
- Gray-Keller, M. P. and Detwiler, P. B. (1994), The calcium feedback signal in the phototransduction cascade of vertebrate rods, *Neuron*, **13**: 849–861.
- Grienberger, C. and Konnerth, A. (2012), Imaging calcium in neuron, *Neuron*, **73**: 862–885.
- Heidelberger, R., Thoreson, W. B. and Witkovsky, P. (2005), Synaptic transmission at retinal ribbon synapses, *Prog. Retin. Eye Res.*, **24**: 682–720.
- Hirsch, N. P. (2007), Neuromuscular junction in health and disease, *Br. J. Anaesth.*, **99**: 132–138.
- Ho, V. M., Lee, J.-A. and Martin, K. C. (2012), The cell biology of synaptic plasticity, *Science*, **334**: 623–628.
- Hollenbeck, P. J. (2005), Mitochondria and neurotransmission: Evacuating the synapse, *Neuron*, **47**: 331–333.
- Hong, F. T. (1999), Interfacial photochemistry of retinal protein, *Prog. Sur. Sci.*, **62**: 1–237.
- Hsu, Y. T. and Molday, R. S. (1994), Modulation of the cGMP-gated channel of rod photoreceptor cells by calmodulin, *Nature*, **361**: 76–79.
- Jahn, R. and Fasshauer, D. (2012), Molecular machines governing exocytosis of synaptic vesicles, *Nature*, **490**: 201–207.
- Kass, G. E. N. and Orrenius, S. (1999), Calcium signaling and cytotoxicity, *Environ. Health Pers.*, **107**: 25–35.
- Kawamura, S. (1993a), Rhodopsin phosphorylation as a mechanism of cyclic GMP phosphodiesterase regulation by S-modulin, *Nature*, **362**: 855–857.
- Kawamura, S. (1993b), Molecular aspects of photoreceptor adaptation in vertebrate retina, *Int. Rev. Neurobiol.*, **35**: 43–86.
- Kawamura, S. (1994), Photoreceptor light-adaptation mediated by S-modulin, a member of a possible regulatory protein family of protein phosphorylation in signal transduction, *Neurosci. Res.*, **20**: 293–298.
- Koch, K. W. and Stryer, L. (1988), Highly cooperative feedback control of retinal rod guanylate cyclase by calcium ions, *Nature*, **334**: 64–66.
- Krizaj, D., Lai, F. A. and Copenhagen, D. R. (2003), Ryanodine stores and calcium regulation in the inner segments of salamander rods and cones, *J. Physiol.*, **547**: 761–774.
- Krizaj, D., Bao, J.-X., Schmitz, Y., Witkovsky, P. and Copenhagen, D. R. (1999), Caffeine-sensitive calcium

- stores regulate synaptic transmission from retinal rod photoreceptors, *J. Neurosci.*, **19**: 7249–7261.
- Kudoh, S. N., Nagai, R., Kiyosue, K. and Taguchi, T. (2001), PKC and CamKII dependent synaptic potentiation in cultured cerebral neurons, *Brain Res.*, **915**: 79–87.
- Kumar, A. (2011), Long-term potentiation at CA3-CA1 hippocampal synapses with special emphasis on aging, disease, and stress, *Fron. Aging Neurosci.*, **3**: 1–20.
- Lamb, T. D. and Pugh, E. N. Jr. (2006), Phototransduction, Dark adaptation, and rhodopsin regeneration, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **47**: 5138–5152.
- Ling, D. S. F., Benardo, L. S. and Sacktor, T. C. (2006), Protein kinase M ζ enhances excitatory synaptic transmission by increasing the number of active postsynaptic AMPA receptors, *Hippocampus*, **16**: 443–452.
- Lledo, P. M., Hjelmstad, G. O., Mukherji, S., Soderling, T. R., Malenka, R. C. and Nicoll, R. A. (1995), Calcium/calmodulin-dependent kinase II and long-term potentiation enhance synaptic transmission by the same mechanism, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **92**: 11175–11179.
- Lüscher, C. and Malenka, R. C. (2012), NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD), *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **4**: 1–15.
- Malinow, R., Schuiman, H. and Tsien, R. W. (1989), Inhibition of postsynaptic PKC or CaMKII blocks induction but not expression of LTP, *Science*, **245**: 862–866.
- Mundy, G. R. and Guise, T. A. (1999), Hormonal control of calcium homeostasis, *Clin. Chem.*, **45**: 1347–1352.
- Neher, E. and Sakaba, T. (2008), Multiple roles of calcium ions in the regulation of neurotransmitter release, *Neuron*, **59**: 861–872.
- Palty, R., Silverman, W. F., Hershfinkel, M., Caporale, T., Sensi, S. L., Parnis, J., Nolte, C., Fishman, D., Shoshan-Barmatz, V., Herrmann, S., Khananshvil, D. and Sekler, I. (2010), NCLX is an essential component of mitochondrial Na⁺/Ca²⁺ exchange, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **107**: 436–441.
- Parekh, A. B. and Putney, J. W. Jr. (2005), Store-operated calcium channels, *Physiol. Rev.*, **85**: 757–810.
- Perocchi, F., Gohil, V. M., Girgis, H. S., Bao, X. R., McCombs, J. E., Oalmer, A. E. and Mootha, V. (2010), MICU1 encodes a mitochondrial EF hand protein required for Ca²⁺ uptake, *Nature*, **467**: 291–297.
- Petersen, H. H., Petersen, C. C. H. and Kasai, H. (1994), Calcium and hormone action, *Ann. Rev. Physiol.*, **56**: 297–319.
- Pozzan, T. and Rizzuto, R. (2000), The renaissance of mitochondrial calcium transport, *Eur. J. Biochem.*, **267**: 5269–5273.
- Pravina, P., Sayaji, D. and Avinash, M. (2013), Calcium and its role in human body, *Int. J. Res. Pharmaceut. Biomed. Sci.*, **4**: 659–668.
- Prinsen, C. F. M., Cooper, C. B., Szerencsei, R. T., Murphy, S. K., Demetrick, D. J. and Schnetkamp, P. M. (2002), The retinal rod and cone Na⁺/Ca²⁺-K⁺ exchanger, in Baehr, W. and Palczewski, K., eds., *Photoreceptors and calcium*, New York, NY, Kluwer Academic/Plenum publishers.
- Pugh, E. N. Jr. and Lamb, T. D. (1990), Cyclic GMP and calcium: The internal messengers of excitation and adaptation in vertebrate photoreceptors, *Vision Res.*, **30**: 1923–1948.
- Pugh, E. N. Jr. and Lamb, T. D. (1993), Amplification and kinetics of the activation steps in phototransduction, *Biochim. Biophys. Acta*, **1141**: 111–149.
- Racioppi, L. and Means, A. R. (2012), Calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2: Roles in signaling and pathophysiology, *J. Biol. Chem.*, **287**: 31658–31665.
- Ross, W. N. (2013), Understanding calcium waves and sparks in central neurons, *Nature Rev.*, **13**: 157–168.
- Schneggenburger, R. and Neher, E. (2005), Presynaptic calcium and control of vesicle fusion, *Curr. Opin. Neurobiol.*, **15**: 266–274.
- Simons, T. J. (1988), Calcium and neuronal function, *Neurosurg. Rev.*, **11**: 119–129.
- Soderling, T. R. and Derkach, V. A. (2000), Postsynaptic protein phosphorylation and LTP, *Trends. Neurosci.*, **23**: 75–80.
- Stella, S. L. and Thoreson, W. B. (2000), Differential modulation of rod and cone calcium currents in tiger salamander retina by D2 dopamine receptors and cAMP, *Eur. J. Neurosci.*, **12**: 3537–3548.
- Szikra, T. and Krizaj, D. (2007), Intracellular organelles and calcium homeostasis in rods and cones, *Vis. Neurosci.*, **24**: 733–743.

- Takahashi, A., Camacho, P., Lechleiter, J. D. and Herman, B. (1999), Measurement of intracellular calcium, *Physiol. Rev.*, **79**: 1089–1125.
- West, A. E., Chen, W. G., Dalva, M. B., Dolmetsch, R. E., Kornhauser, J. M., Shaywitz, A. J., Takasu, M. A., Tao, X. and Greenberg, M. E. (2001), Calcium regulation of neuronal gene expression, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **98**: 11024–11031.
- Wojcik, S. M. and Brose, N. (2007), Regulation of membrane fusion in synaptic excitation-secretion coupling: Speed and accuracy matter, *Neuron*, **55**: 11–24.
- Yau, K. W. and Nakatani, K. (1984), Electrogenic Na-Ca exchange in retinal rod outer segment, *Nature*, **311**: 661–663.