

魚類網膜水平細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度変化に 関与するメカニズム

高橋 恭一

(受付 2019年8月30日)

1. はじめに

日本の研究者が発見し、命名権を獲得した113番目の元素、ニホニウム（元素記号：Nh）が元素周期表に記載された（2016年11月28日に国際純正・応用化学連合 [International Union of Pure and Applied Chemistry; IUPAC] が発表した元素周期表に Nh が記載された。）（Morita *et al.*, 2004, 2007, 2009, 2012）。現在、周期表に元素は118種類あり、この中で自然界に約90種類が存在している（残りは、30種類程は人工的に合成された元素である。）ことが知られている。ヒトの身体（細胞、組織や器官）を構成する元素として約60種類が知られている。これらの元素の中で、酸素（O）、炭素（C）、水素（H）と窒素（N）の4つの元素が約96%を占め、タンパク質、脂質、糖質、ビタミンや核酸などの有機物を構成している。残りの元素約4%はミネラル（無機質）と呼ばれている。ヒトの身体を構成する元素は存在量（70 kgの標準的男性を対象として、体重1 g中の各元素の含有量を測定した。）に基づき、⑦10 mg以上存在する元素を多量元素（生体内で多い順に、O, C, H, N, カルシウム [Ca] とリン [P]）、④1~10 mg存在する元素を少量元素（生体内で多い順に、カリウム [K], イオウ [S], ナトリウム [Na], 塩素 [Cl] とマグネシウム [Mg]）、⑤1 mg~100 μg存在する元素を微量元素（マンガン [Mn], 銅 [Cu], 亜鉛 [Zn], 鉄 [Fe], フッ素 [F], とケイ素 [Si] など）、そして⑥100 μg以下の元素を超微量元素（クロム [Cr], バナジウム [V], セレン [Se], コバルト [Co], ヨウ素 [I], ニッケル [Ni] とモリブデン [Mo] など）の4グループに分けられる（例えば、Lide, 2005）。従って、ミネラルは多量元素から超微量元素に至る総ての分類に存在し、身体のpHや浸透圧を調節、酵素やその他の生理活性物質の構成成分など様々な生理機能を支えている（例えば、Soetan *et al.*, 2010; Zoroddu *et al.*, 2019）。

ヒト体内のカルシウム量は体重の1~2%であり、その殆どが骨や歯にヒドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$) として存在する。この状態のカルシウムを沈着型カルシウムと呼ぶ。残りのカルシウムは血液や細胞内液中に遊離カルシウムイオン (Ca^{2+}) として、あるいはタンパク質と結合して存在する。それぞれは遊離型カルシウムおよびタンパク質結合型カルシ

ウムと呼ばれる (Mundy & Guise, 1999; Pravina *et al.*, 2013)。つまり、体内でカルシウムは沈着型、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。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程度であるに対し、細胞内は $50\sim 100\text{ nM}^{1)}$ と極めて少ない (Simons, 1988)。細胞内 Ca^{2+} 濃度の極端な上昇は細胞死²⁾を誘発するため、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、⑦細胞内 Ca^{2+} の細胞外への排出、⑧細胞内 Ca^{2+} の細胞内 Ca^{2+} 貯蔵庫 (小胞体やミトコンドリア³⁾)への取り込み、そして⑨細胞内 Ca^{2+} のタンパク質への結合などが知られている (Bronner, 2001)。

細胞内 Ca^{2+} は筋肉の収縮、ホルモン分泌、神経軸索終末からの神経伝達物質放出、神経細胞間シナプスの形成や可塑性、神経突起の伸展調節などに関与している (例えば, Petersen *et al.*, 1994; Berridge *et al.*, 2000; Bootman *et al.*, 2001; Bers, 2002; Carafoli, 2003; Dayanithi *et al.*, 2009; Bootman, 2012)。これらの役割には、細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇がイオン担体として膜電位変化 (脱分極) を惹起するのみならず、細胞内セカンドメッセンジャーとして各種の生理機能に寄与することと密接に関係している (Bootman *et al.*, 2001; Parekh & Putney, 2005; Bootman, 2012)。細胞内 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⁴⁾としてカルモジュリン、パルプアルブミン、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、 Ca^{2+} -カルモジュリン複合体が細胞内の複数のタンパク質 (フォスフォリラーゼキナーゼ、ミオシン軽鎖キナーゼ、 Ca^{2+} /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼI~IV [Calcium-calmodulin dependent protein kinase I~IV: CaMK I~IVと略記する。]、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)。

近年、脊椎動物網膜において、電位依存性カルシウムチャネル、各種のレセプターと連動するイオンチャネルを介した Ca^{2+} の細胞内移動、細胞内のカルシウム貯蔵庫である小胞体からの Ca^{2+} 放出、そして細胞膜にある $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エキスチェンジャーや Ca^{2+} ポンプによる Ca^{2+} の細胞外移動のしくみが次第に明らかになってきた。しかし、筋肉や脳などでの研究成果に比べ、網膜神経細胞での細胞内 Ca^{2+} に関する研究は未だ不十分な状況にある。本論文では、古くから電気生理学的のみならず形態学的・生化学的研究が行われ、多くの研究成果が蓄積している魚類網膜の第二次神経細胞である水平細胞の細胞内 Ca^{2+} 調節について調査した。

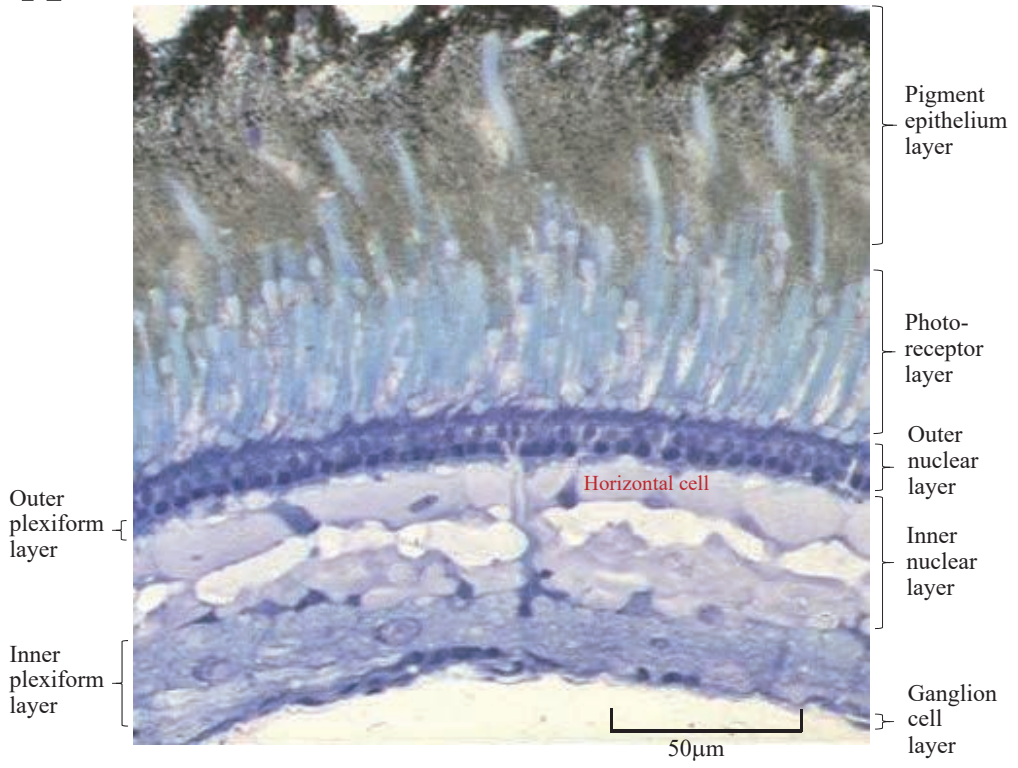
2. 網膜の構造と水平細胞の機能

脊椎動物網膜は、5種類の神経細胞（視細胞、双極細胞、水平細胞、アマクリン細胞と神経節細胞）によって構成されている（第1図A参照）。視細胞のみが光感受性を持ち、昼間の光受容を担う錐体と薄明（夜間）の光受容を担う桿体に分類される。光は視細胞外節で受容され、光化学反応と酵素反応を経て膜電位変化に変換される（例えば、Pugh & Lamb, 1990, 1993; Kawamura, 1993b, 1994）。視細胞（錐体と桿体）は暗時に脱分極し、神経伝達物質としてL-グルタミン酸を放出している（例えば、Miller & Schwartz, 1983; Ayoub *et al.*, 1989; Copenhagen & Jahr, 1989; Schmitz & Witkovsky, 1996, 1997）。明時に、視細胞は過分極する。この過分極は光強度に依存するため、視細胞によるL-グルタミン酸放出は過分極の程度に応じて減少あるいは停止する。このようにして、明暗に伴う視細胞の膜電位変化はL-グルタミン酸の放出量に変換され、第二次神経細胞である双極細胞と水平細胞にシナプス伝達（化学シナプス）される。

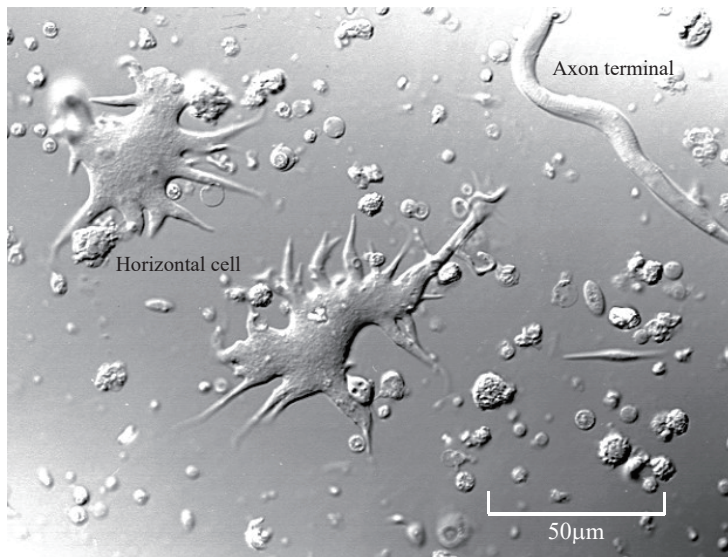
双極細胞は受容野中心部に対する光照射と、中心部を除く周辺部に対する光照射とで全く反対の膜電位変化を示す同心円型中心-周辺拮抗的受容野を有している（例えば、Werblin & Dowling, 1969; Kaneko, 1970, 1973, 1979, 1983; Kaneko & Tachibana, 1982; Saito & Kaneko, 1983; Kaneko & Saito, 1983）。この拮抗的受容野はコントラスト強調の初期過程を形成していると考えられている。また、水平細胞では三原色説過程から反対色説過程への変換が生じ、色覚の初期過程を形成している（例えば、Tomita, 1963, 1965; Naka & Rushton, 1967; Gouras, 1972; Daw, 1973; Stell *et al.*, 1975; Burkhardt, 1977; Burkhardt & Hassin, 1978）。これらの細胞からの出力は、アマクリン細胞や神経節細胞にシナプス伝達されるが、この過程でさらに高度な情報抽出が行われる（神経節細胞では、方向選択性細胞が見つまっている。）（例えば、Barlow & Levick, 1965; Taylor *et al.*, 2000; Fries *et al.*, 2002）。網膜内で処理された視覚情報は、神経節細胞の軸索（視神経線維）を介して脳へと伝播される。

双極細胞の受容野中心部への光照射に対する膜電位変化は、視細胞からの双極細胞への直接的なシナプス入力によって形成される（Ishida *et al.*, 1980）。一方、受容野周辺部への光照射に対する膜電位変化には水平細胞から視細胞に対する抑制作用が影響する。水平細胞は電気シナプス（ギャップ結合）結合し、数mmに達する広い受容野を有している（例えば、Kaneko, 1971）。このため、光照射面積に応じた膜電位変化を発生する（例えば、Tomita *et al.*, 1958）。水平細胞は視細胞（錐体）に対して抑制作用を示すため、受容野中心部を除く周辺部に光照射を行ったとき発生する水平細胞の過分極は受容野中心部にある視細胞終末を脱分極させ、視細胞からのL-グルタミン酸放出量を増大させる。この結果、受容野中心部への光

A



B



照射によって双極細胞に発生する膜電位変化は受容野中心部と真逆となる。つまり、双極細胞の周辺部応答は、水平細胞から視細胞に対する抑制作用が双極細胞にシナプス伝達された結果形成される（例えば、Baylor *et al.*, 1971; Fuortes & Simon, 1974; Toyoda & Tonosaki, 1978）。

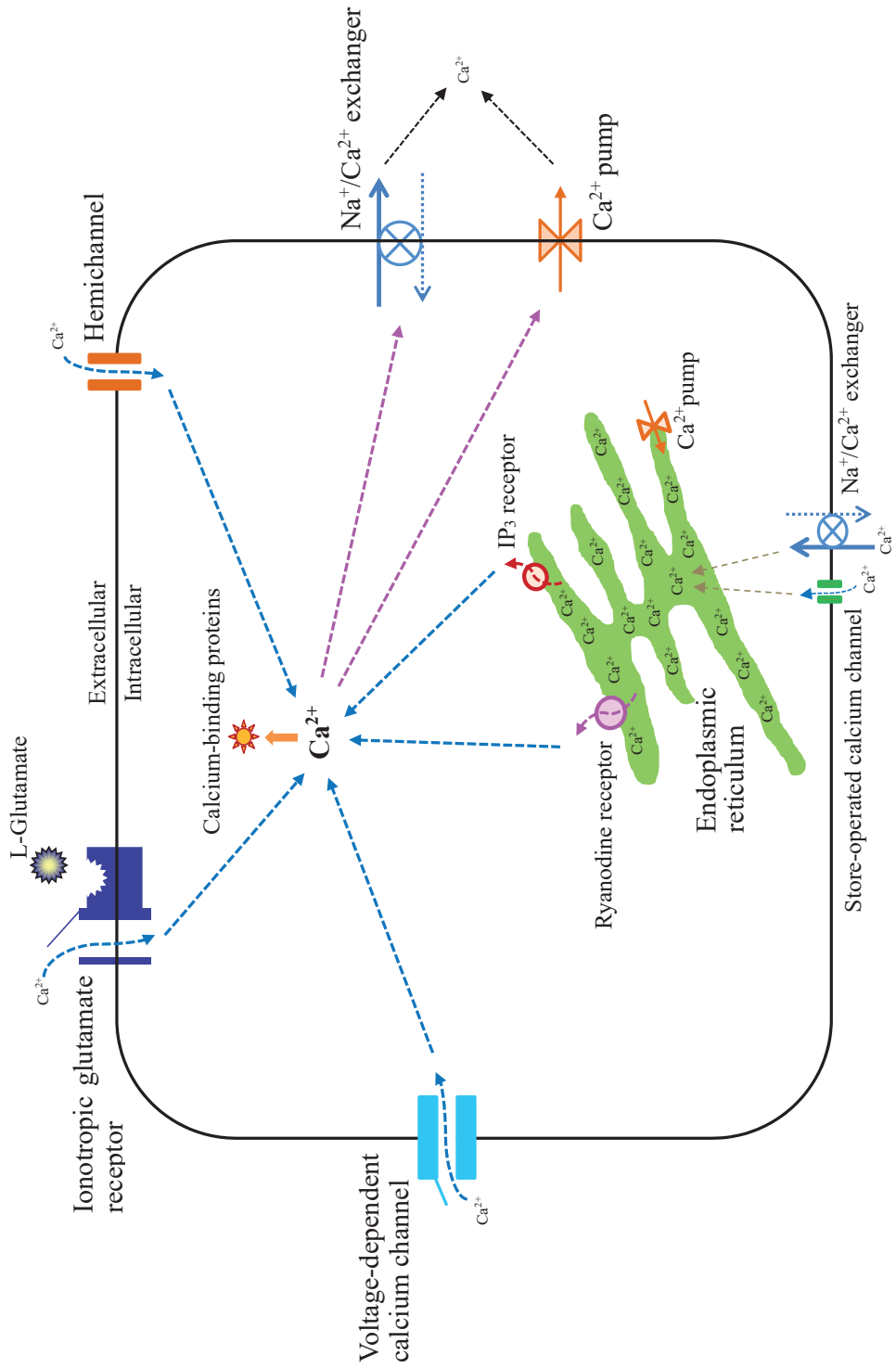
以上のように、水平細胞は視細胞（錐体）への抑制作用を介して拮抗的受容野形成と反対色過程形成に関与している。近年、水平細胞から錐体への抑制作用に関し、 γ -Aminobutyric acid (GABA) を介する抑制性シナプス説（最近、GABA 説とも呼ばれている。）以外に、新たな2仮説（細胞外電流説と細胞外 pH 説）（現在、細胞外電流説はエファプス説、細胞外 pH 説は pH 説 [あるいはプロトン説] と呼ばれている。）が加わり、3仮説の何れが真のしくみであるのかに関する研究が続いている（例えば、Byzov *et al.*, 1977; Lam *et al.*, 1980; Kamermans *et al.*, 2001; Hirasawa & Kaneko, 2003）。

2-1 水平細胞の細胞膜

魚類は生息環境により、網膜視細胞の構成が大きく異なる。コイ (*Cyprinus carpio*) やキンギョ (*Carassius auratus*) に代表される動物には3タイプの錐体（赤色錐体、緑色錐体と青色錐体）と1タイプの桿体が存在する（例えば、Tomita, 1963, 1964, 1965; Stell *et al.*, 1975）。各視細胞は異なる水平細胞（3タイプの錐体水平細胞と1タイプの桿体水平細胞）とシナプス連絡している。一方、アメリカナマズ (*Ictalurus punctatus*) 網膜では錐体と桿体がそれぞれ1タイプしかなく、それぞれは異なる水平細胞とシナプス連絡している（第1図 A と B 参照）（例えば、Naka & Carraway, 1975; Sakai & Naka, 1988）。水平細胞は視細胞

第1図：アメリカナマズ網膜 (A) および単離した水平細胞 (B) の光学顕微鏡観察

A：約5時間暗順応した体長約15 cmのアメリカナマズから眼球を摘出し、4°Cの4% Paraformaldehyde/0.1 M-Phosphate buffer (pH 7.4) の中で3時間固定し、0.1 M-Phosphate buffer (pH 7.4) で眼球を洗浄した。その後、20% Sucrose/0.1 M-Phosphate buffer (pH 7.4) 中に8時間静置した。眼球から網膜を剥離し、これをOCT包埋剤 (Tissue Tek, Miles, Inc.) 中で凍結し、クリオスタットを用いて厚さ10 μm の切片を作製した。この切片をトルイジンブルーで染色し、顕微鏡 (Optiphot 2, Nikon) 写真を撮影した。この写真から、神経細胞の配置ならびに層構造を識別することができる。視細胞 (Photoreceptor layer) の上層には、褐色の色素細胞層 (Pigment epithelium layer) が存在する。視細胞の細胞体が存在する外顆粒層 (Outer nuclear layer) の下部には、視細胞、双極細胞と水平細胞がシナプス連絡する外網状層 (Outer plexiform layer) が認められる。双極細胞、水平細胞とアマクリン細胞の細胞体が存在する部位が内顆粒層 (Inner nuclear layer) であり、その下方に双極細胞、アマクリン細胞と神経節細胞がシナプス連絡する内網状層 (Inner plexiform layer) がある。視細胞でとらえられた光環境変化は外網状層と内網状層で処理されて視覚情報となり、神経節細胞層 (Ganglion cell layer) に伝播される。大型の水平細胞 (Horizontal cell) は、他の神経細胞からの区別は容易であった。B：単離後4時間経過した細胞懸濁液 50 μl をスライドグラスに置き、顕微鏡観察した (補助説明参照)。多数の樹状突起を有する2つの錐体水平細胞 (Cone horizontal cell) を示した。錐体水平細胞は長い軸索と太い軸索終末 (Axon terminal) を有するが、これらは単離操作 (機械処理) によって細胞体から外れ、細胞体と離れて観察されることが多い。本写真でも2つの単離水平細胞から少し外れた場所に、軸索終末が観察された。



から興奮性入力を受け、そして視細胞に対して抑制性出力を送っている。視細胞から水平細胞へのシナプスでは、神経伝達物質としてL-グルタミン酸が使われている（例えば、Miller & Schwartz, 1983; Ayoub *et al.*, 1989; Copenhagen & Jahr, 1989; Schmitz & Witkovsky, 1996, 1997）。水平細胞から視細胞への抑制作用に関しては、現在3仮説（エファプス説、GABA説とpH説）が提唱されており、未だ決着を見ていない（例えば、Byzov *et al.*, 1977; Lam *et al.*, 1978, 1980; Kamermans *et al.*, 2001; Hirasawa & Kaneko, 2003）。

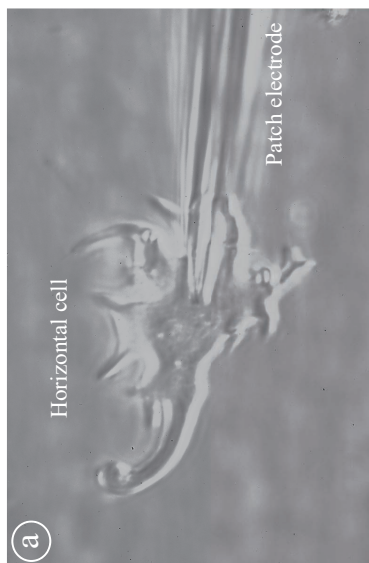
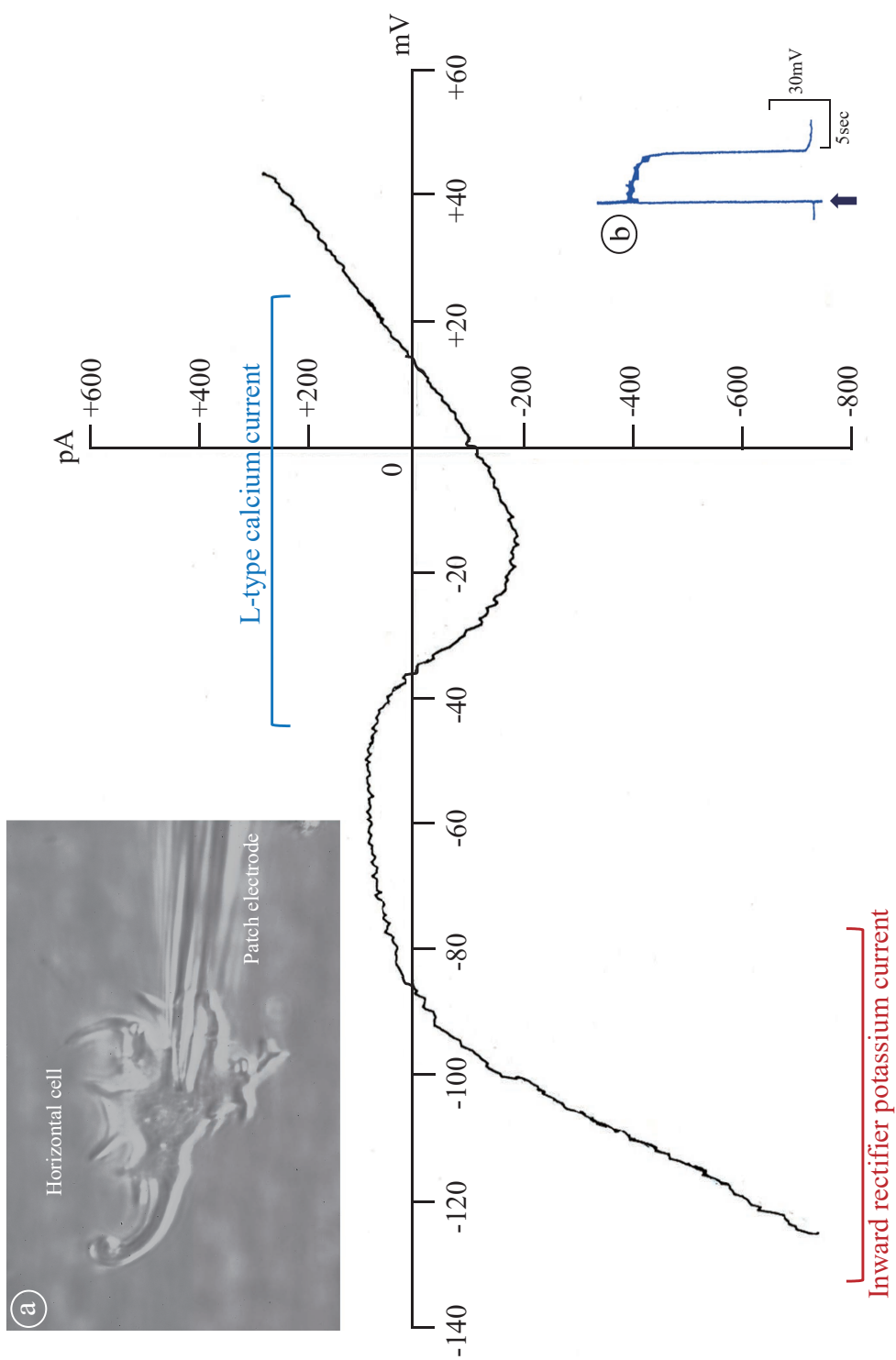
魚類網膜の水平細胞膜には、㊦レセプターとしてグルタミン酸レセプター、GABAレセプターとドーパミンレセプター（Ionotropic glutamate receptor）、㊧トランスポーターとしてGABAトランスポーター、㊨電位依存性イオンチャネルとして電位依存性ナトリウムチャネル、内向き整流性カリウムチャネル（異常整流性カリウムチャネルともいう。）、持続性外向きカリウムチャネル（遅延整流性カリウムチャネルともいう。）、一過性外向きカリウムチャネルと電位依存性カルシウムチャネル（Voltage-dependent calcium channel）、㊩エクステンジャーとして $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エクステンジャー（ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger）と Na^+/H^+ エクステンジャー、そして㊪ポンプとして Na^+/K^+ ポンプと Ca^{2+} ポンプ（ Ca^{2+} pump）が発現していることが明らかになっている（第2図参照）（例えば、Tachibana, 1981, 1983; Shingai & Christensen, 1983, 1986; Yasui, 1987; DeVries & Schwartz, 1989; Kobayashi *et al.*, 1994; Eliasof & Jahr, 1997; Hayashida *et al.*, 1998; Micci & Christensen, 1998）。

2-2 水平細胞の細胞内 Ca^{2+} 研究

魚類網膜水平細胞は内顆粒層にある大型の細胞であり、レンガを積み重ねたように配置している（第1図A参照）。このため、ガラス管微小電極の刺入が容易であり、網膜で最初に膜電位変化が細胞内誘導された（Svaetichin, 1953, 1956）。その後、水平細胞はギャップ結合、グルタミン酸レセプター、GABAレセプターやドーパミンレセプターの電気生理学的研究のみならず、光学および電子顕微鏡による神経回路や化学・電気シナプスの形態学的研究

第2図：水平細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度変化に関するしくみ

水平細胞内の Ca^{2+} 濃度は、細胞膜に発現するグルタミン酸レセプターに連動するイオンチャネル（Ionotropic glutamate receptor）、電位依存性カルシウムチャネル（Voltage-dependent calcium channel）、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エクステンジャー（ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger）や Ca^{2+} ポンプ（ Ca^{2+} pump）に加え、細胞内に存在する小胞体（Endoplasmic reticulum）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; IP_3 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（Intracellular）に Ca^{2+} を放出する。一方、細胞内の Ca^{2+} は Ca^{2+} ポンプを介して小胞体内に取り込まれる。小胞体への Ca^{2+} 供給路として、ストア依存性チャネル（Store-operated calcium channel）と $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エクステンジャーの逆転輸送の可能性が報じられている。また、水平細胞にはコネキシンやパネキシンからなるヘミチャネル（Hemichannel）が存在することも知られている。細胞内で増加した Ca^{2+} は、 Ca^{2+} 結合タンパク質（Calcium-binding proteins）と結合して各種の生理作用を発現する。



に盛んに利用されてきた（例えば, Yamada & Ishikawa, 1965; Stell, 1967, 1975; Dowling & Werblin, 1969; Werblin & Dowling, 1969; Kolb, 1970, 1974, 1979）。最近では, これらの研究に免疫組織化学や分子生物学的手法が付加され, より精度の高い解析が行われるようになってきている（例えば, Crooks & Kolb, 1992; Badea & Nathans, 2004; Johnson *et al.*, 2004; Liu & Sanes, 2017）。

水平細胞を含む網膜神経細胞の細胞内セカンドメッセンジャー（Cyclic adenosine monophosphate [cAMP], Cyclic guanosine monophosphate [cGMP], イノシトール三リン酸 [IP_3], ジアシルグリセロール, やー酸化窒素 [NO] など）に関する研究は1980年代に始まり, 重要な知見が得られてきた。近年, 他領域で細胞内メッセンジャーとして Ca^{2+} の重要性が多数報じられ, 水平細胞を含む網膜神経細胞でも細胞内 Ca^{2+} 調節に関する研究が始まった（例えば, Akopian & Witkovsky, 2002; Country & Jonz, 2017; Kovács-Öller *et al.*, 2019）。

2-2-1 水平細胞のイオンチャネル型および代謝型グルタミン酸レセプター

水平細胞の細胞膜（シナプス下膜）に発現するイオンチャネル型グルタミン酸レセプターとして, Kainic acid (KA)/(RS)- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4 isoxazolepropionic acid (AMPA) 型グルタミン酸レセプターが重要な役割を演じていることは古くから知られている（例えば, Rowe & Ruddock, 1982a, b; Takahashi & Murakami, 1988）。近年, AMPA 型グルタミン酸レセプターが水平細胞のシナプスレセプターとして機能している可能性が高いことが報じられた（Okada *et al.*, 1999; Huang & Liang, 2005; Huang *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2010）。他の動物種と異なり, アメリカナマズ (*Ictalurus punctatus*) 網膜およびキンギョ (*Carassius auratus*) 網膜の水平細胞には AMPA 型グルタミン酸レセプターのみならず N-Methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸レセプターも発現している（O'Dell &

第3図：アメリカナマズ網膜から単離した水平細胞に惹起される膜電流変化

正常リンガー液灌流下で, 単離水平細胞からパッチ電極による膜電流記録に成功した後, リンガー液を修飾リンガー液に変更した。-70 mV に膜電位固定した単離水平細胞に, 鋸刃状の膜電位変化 (-124 mV ~ +46 mV, 1 秒) を与え, このときに発生する膜電流を記録した（補助説明参照）。この鋸波状膜電位変化によって, 2つの膜電流が顕著となった。-70 mV 付近で活性化し, 過分極するにつれて膜電流が増大する内向き整流性カリウム電流 (Inward rectifier potassium current) と -45 mV 付近で活性化し, -20 mV に最大値 (約 200 pA) を持つ L 型カルシウム電流 (L-type calcium current) であった。水平細胞の暗時の膜電位が -20 ~ -45 mV であることを踏まえると, L 型カルシウムチャネルは暗時に常時活性化している可能性が高く, このチャネルを通じて Ca^{2+} が水平細胞内に流入していると考えられる。水平細胞に L-グルタミン酸を投与した際に細胞内に増加する Ca^{2+} 量の約半分は L 型カルシウムチャネルを介しているという試算がある (Hayashida *et al.*, 1998; Hayashida & Yagi, 2002; Huang & Liang, 2005)。左上④は, パッチ電極 (Patch electrode) を用いて錐体由来水平細胞 (Horizontal cell) から膜電流を導出する様子を写真撮影した。右下⑤は, ガラス管微小電極を用いて記録した水平細胞の膜電位記録である。静止電位は -80 mV であった。水平細胞にガラス管微小電極を通じて脱分極通電を与えると, カルシウム依存性活動電位が発生した。

Christensen, 1986, 1989)。この NMDA 型グルタミン酸レセプターはその活性が細胞外のマグネシウムイオン (Mg^{2+}) によって阻害されており、この阻害がなくなるには膜電位が $-20 \sim -10$ mV になる必要がある。水平細胞の膜電位は $-60 \sim -20$ mV の範囲で変化するため、NMDA 型グルタミン酸レセプターは殆ど活性化しないと考えられる。従って、この NMDA 型グルタミン酸レセプターが細胞内 Ca^{2+} 上昇に大きく貢献するとは考え難い。

水平細胞にはイオンチャネル型に加え、代謝型グルタミン酸レセプターも存在する（例えば、Nawy *et al.*, 1989; Yasui *et al.*, 1990; Takahashi & Copenhagen, 1992; Dixon & Copenhagen, 1997; Gafka *et al.*, 1999; Linn & Gafka, 1999)。代謝型グルタミン酸レセプターは水平細胞に発現しているにもかかわらず、視細胞からのシナプス入力によって水平細胞に発生する膜電位変化には直接的な影響しないと考えられている（Yang & Wu, 1989; Luo & Liang, 2003）。現在、代謝型グルタミン酸レセプター視細胞から水平細胞へのシナプス連絡の修飾および水平細胞に発現する電位依存性イオンチャネルの修飾に関与することが報じられている（Dixon & Copenhagen, 1997; Linn & Gafka, 1999）。

2-2-2 水平細胞の電位依存性カルシウムチャネル

Johnston & Lam (1981) および Tachibana (1981) は、魚類網膜から単離した水平細胞に時間経過の長い活動電位が発生することを見出した（第3図右下⑥参照）。この活動電位は、電位依存性カルシウムチャネルの活性化による（Tachibana, 1981, 1983; Shingai & Christensen, 1983, 1986）。近年、水平細胞に発現する電位依存性カルシウムチャネルは1種類ではなく、複数の異なるタイプ（L型のみならずT型のカルシウムチャネルが存在する。）が発現していることが明らかとなった（第1表参照）（例えば、Sullivan & Lasater, 1992; Dixon *et al.*, 1993; Pfeiffer-Linn & Lasater, 1996）。電位依存性カルシウムチャネル以外に、遅延整流性カリウムチャネル、一過性外向性カリウムチャネル、内向き整流性カリウムチャネルに加え電位依存性ナトリウムチャネルが発現していることも報じられている（例えば、Tachibana, 1983; Shingai & Christensen, 1983, 1986）。

水平細胞に発現するイオンチャネルは、膜電位の変化と維持のみならず生理活性に必要なイオンの供給路としても機能していると考えられている。

2-2-3 水平細胞のポンプとエキスチェンジャー

網膜を構成する神経細胞の機能を維持するには、細胞内外のイオンを含む物質環境の恒常性維持が不可避である。細胞内の各種イオンは膜電位発生のみならず細胞内の酵素反応などにも関係するため、その濃度はイオンチャネルのみならず複数のしくみで調整されている。

多くの動物細胞と同様に、水平細胞にも Na^+/K^+ ポンプ (Na^+/K^+ ATPase) が発現し、細

第1表：魚類網膜の水平細胞内 Ca^{2+} 濃度変化に影響する因子

レセプター, イオンチャネル, エクスチェンジャー, ポンプ		動物の和名	動物の種名	文献		
細胞膜	グルタミン酸レセプター	イオンチャネル型グルタミン酸レセプター	NMDA型グルタミン酸レセプター	アメリカナマズ	<i>Ictalurus punctatus</i>	O'Dell & Christensen, 1986, 1989; Linn & Christensen, 1992; Eliazov & Jahr, 1997
			Ca^{2+} 透過性AMPA型グルタミン酸レセプター	キンギョ	<i>Carassius auratus</i>	Shen <i>et al.</i> , 2006; Jiang <i>et al.</i> , 2008; Wang <i>et al.</i> , 2008
				ヨーロッパパーチ	<i>Perca fluviatus</i>	Shmidt, 1997
				ホワイトパーチ	<i>Roccus americana</i>	Shmidt, 1997
				アメリカナマズ	<i>Ictalurus punctatus</i>	Eliasof & Jahr, 1997
	キンギョ	<i>Carassius auratus</i>		Huang <i>et al.</i> , 2005, 2006; Sun <i>et al.</i> , 2010		
	コイ	<i>Cyprinus carpio</i>	Okada <i>et al.</i> , 1999			
	代謝型グルタミン酸レセプター (グループIとグループIII)	アメリカナマズ	<i>Ictalurus punctatus</i>	Linn & Gafka, 1999		
	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	キンギョ	<i>Carassius auratus</i>	Tachibana, 1981, 1983; Jonz & Barnes, 2007	
			アメリカナマズ	<i>Ictalurus punctatus</i>	Johnston & Lam, 1981; Shingai & Christensen, 1983, 1986; Dixon <i>et al.</i> , 1993; Takahashi <i>et al.</i> , 1993; Linn & Gafka, 2001	
ホワイトパーチ			<i>Roccus americana</i>	Lasater, 1986		
コイ			<i>Cyprinus carpio</i>	Murakami & Takahashi, 1987; Hayashida & Yagi, 2002		
エイ			<i>Raja erinacea & Raja ocellata</i>	Malchow <i>et al.</i> , 1990; Haugh-Scheidt <i>et al.</i> , 1995		
ホワイトバス			<i>Roccus chrysops</i>	Pfeiffer-Linn & Lasater, 1996*		
T型カルシウムチャネル	ホワイトバス	<i>Roccus chrysops</i>	Sullivan & Lasater, 1992			
ストア依存性カルシウムチャネル	コイ	<i>Cyprinus carpio</i>	Lv <i>et al.</i> , 2014			
エクスチェンジャーとポンプ	Na^+/Ca^{2+} エクスチェンジャー	コイ	<i>Cyprinus carpio</i>	Yasui, 1987		
		キンギョ	<i>Carassius auratus</i>	Hayashida <i>et al.</i> , 1998		
		アメリカナマズ	<i>Ictalurus punctatus</i>	Micci & Christensen, 1998		
	Ca^{2+} ポンプ (Ca^{2+}/H^+ ポンプあるいは Ca^{2+} ATPase)	キンギョ	<i>Carassius auratus</i>	Hayashida <i>et al.</i> , 1998; Kreitzer <i>et al.</i> , 2012		
		アメリカナマズ	<i>Ictalurus punctatus</i>	Micci & Christensen, 1998; Kreitzer <i>et al.</i> , 2007; Jacoby <i>et al.</i> , 2012		
		エイ	<i>Raja erinacea & Raja ocellata</i>	Molina <i>et al.</i> , 2004		
細胞膜	ギャップ結合とヘミチャネル#	サメ	<i>Mustelus cans</i>	Kaneko, 1971		
		コイ	<i>Cyprinus carpio</i>	Yamada & Ishikawa, 1965; Teranishi <i>et al.</i> , 1983; Kaneko & Stuart, 1984; Janssen-Bienhold <i>et al.</i> , 1998, 2001; Dermietzel <i>et al.</i> , 2000		
		ホワイトパーチ	<i>Roccus americana</i>	Lasater & Dowling, 1985		
		アメリカナマズ	<i>Ictarulus punctatus</i>	Sakuranaga & Naka, 1985; DeVries & Schwartz, 1989, 1992; Dixon <i>et al.</i> , 1996		
		ホワイトバス	<i>Roccus chrysops</i>	Lasater, 1987		
		キンギョ	<i>Carassius auratus</i>	Schmitz & Wolburg, 1991; Shen <i>et al.</i> , 2003; Jonz & Barnes, 2007; Liu <i>et al.</i> , 2009		
		ゼブラフィッシュ	<i>Danio rerio</i>	McMahon, 1994; McMahon & Brown, 1994; Dermietzel <i>et al.</i> , 2000; Kammermans <i>et al.</i> , 2001; Zoidl <i>et al.</i> , 2004; Shields <i>et al.</i> , 2007; Prochnow <i>et al.</i> , 2009a, b; Klaasen <i>et al.</i> , 2011; Sun <i>et al.</i> , 2012		
		ジャイアントダニオ	<i>Devario danio</i>	McMahon & Mattson, 1996		
		ハイブリッドストライプドバス	<i>Roccus chrysops x Roccus Saxitalis</i>	Zhang & McMahon, 2000; Sun <i>et al.</i> , 2009		
小胞体	リアノジンレセプター	アメリカナマズ	<i>Ictalurus punctatus</i>	Linn & Christensen, 1992; Micci & Christensen, 1998; Linn & Gafka, 2001		
		エイ	<i>Raja erinacea & Raja ocellata</i>	Haugh-Scheidt <i>et al.</i> , 1995		
		ホワイトバス	<i>Moroni chrysops</i>	Solessio & Lasater, 2002		
		キンギョ	<i>Carassius auratus</i>	Huang <i>et al.</i> , 2004, 2006		
		コイ	<i>Cyprinus carpio</i>	Lv <i>et al.</i> , 2014		
	イノシトール三リン酸レセプター	アメリカナマズ	<i>Ictalurus punctatus</i>	Micci & Christensen, 1998; Linn & Gafka, 2001		

*Pfeiffer-Linn & Lasater (1996) はホワイトバス網膜水平細胞に発現するカルシウムチャネルがL型カルシウムチャネルと同じ電位依存性ならびに Bay K8644 感受性を有するが, P型カルシウムチャネル拮抗薬にも感受性を示すことを見出した。このため, このカルシウムチャネルにPLチャネルという名称を与えた。しかし, PLチャネルは上記論文以外に報告されていない。本表では, PLチャネルをL型カルシウムチャネルに含めた。

#ヘミチャネルを構成する膜タンパク質として, コネキシンのみならずパネキシンも含む (Prochnow *et al.*, 2009a, b)。

胞内外の Na^+ と K^+ の調節に役立っている（例えば, McGrail & Sweadner, 1986; Yazulla & Studholme, 1987; Shimura *et al.*, 1998; Wetzel *et al.*, 1999; Nelson *et al.*, 2003）。さらに, $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ エクスチェンジャー, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エクスチェンジャー, Na^+/H^+ エクスチェンジャーおよび Ca^{2+} ポンプ ($\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ ポンプあるいは $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ ATPase) が水平細胞に発現し, 細胞内の Cl^- , Ca^{2+} や H^+ などの調節に与っていることが報告されている（第 1 図参照）（例えば, Yasui, 1987; Kobayashi *et al.*, 1994; Molina *et al.*, 2004; Micci & Christensen, 1998; Kreitzer *et al.*, 2007）。

2-2-4 水平細胞のギャップ結合とヘミチャネル

同種の水平細胞は電気シナプスで結合しているため, 大きな受容野を有している (Yamada & Ishikawa, 1965; Kaneko, 1971; Stell & Lightfoot, 1975; Baldrige *et al.*, 1987, 1998)。電気シナプスはギャップ結合チャネルの集合体であり, 隣接する細胞膜に発現するヘミチャネルが密着してできている。ギャップ結合チャネルは物質通路を形成し, 分子量1,000以下の分子やイオンを非選択的に透過するが, 分子量2,000を超える分子は透過しないことが知られている（例えば, Kumar & Gilula, 1996）。当然, このギャップ結合チャネルを介して Ca^{2+} は細胞間を移動する。

水平細胞の樹状突起の細胞膜に, ギャップ結合チャネルを構成するヘミチャネルが単独で発現していることが明らかになっている（例えば, Kamermans *et al.*, 2001; Prochnow *et al.*, 2009a, b）。このヘミチャネルは細胞外の Ca^{2+} に対する感受性は有するが, 細胞内 Ca^{2+} の影響は受けない (DeVries & Schwartz, 1992)。勿論, ヘミチャネルは物質通路として, Ca^{2+} の細胞内への供給に関与している可能性が考えられる。

3. 水平細胞の細胞内 Ca^{2+} 貯蔵庫

特定の細胞小器官の中に Ca^{2+} を貯蔵し, 刺激に応じて Ca^{2+} を細胞内に放出することが知られている（例えば, Berridge, 1993; Pozzan *et al.*, 1994; Clapham, 1995）。小胞体やミトコンドリアが Ca^{2+} 貯蔵庫としての役割を果たしており, これらを細胞内カルシウムストアと呼ぶ。

魚類網膜水平細胞において, 小胞体⁵⁾ が Ca^{2+} 貯蔵庫の役割を担っていることが報告されている（第 1 表参照）(Linn & Christensen, 1992; Haugh-Scheidt *et al.*, 1995; Micci & Christensen, 1998; Linn & Gafka, 2001; Solessio & Lasater, 2002; Huang *et al.*, 2004, 2006; Lv *et al.*, 2014)。小胞体にはリアノジンレセプター (Ryanodine receptor) とイノシトール三リン酸レセプター (Inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor; IP_3 receptor) (IP_3 レセプター)

が存在し、 Ca^{2+} を小胞体に貯蔵そして放出することによって細胞内 Ca^{2+} 濃度を調節している（第2図参照）。

4. 水平細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度変化

暗時、視細胞が放出するL-グルタミン酸によって、水平細胞に発現するAMPA型グルタミン酸レセプターは活性化し、このレセプターと連動する陽イオンチャネルを開口させる。このチャネルを通じて Na^+ や Ca^{2+} が細胞内に流入し、脱分極状態となる。この脱分極は電位依存性カルシウムチャネルを活性化し、細胞内への Ca^{2+} 流入を生む。このようにして、AMPA型グルタミン酸レセプターと電位依存性カルシウムチャネルの活性化によって上昇した細胞内 Ca^{2+} は、さらに小胞体にあるリアノジンレセプターを介して Ca^{2+} を細胞内に放出する（小胞体にある IP_3 レセプターを介する細胞内への Ca^{2+} 放出も見込まれる。）（Linn & Christensen, 1992; Haugh-Scheidt *et al.*, 1995; Micci & Christensen, 1998; Linn & Gafka, 2001; Solessio & Lasater, 2002; Huang *et al.*, 2004, 2006; Lv *et al.*, 2014）。3つのメカニズムを介して、暗時、水平細胞内の Ca^{2+} 濃度は上昇する。暗黒が長期間持続すれば、水平細胞内には Ca^{2+} が貯留（蓄積）し、毒性を生む可能性がある。このため、上昇した細胞内 Ca^{2+} は速やかに減少させる、あるいは細胞内 Ca^{2+} を上昇させないしくみが水平細胞に備わっていると推測される。

これまでの研究により、⑦水平細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させるしくみとして、細胞膜にグルタミン酸レセプターと電位依存性カルシウムチャネル、細胞内の小胞体にはリアノジンレセプターと IP_3 レセプター、④水平細胞内 Ca^{2+} 濃度を下げるしくみとして、細胞膜に $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エキスチェンジャーと Ca^{2+} ポンプ、小胞体に小胞体型 Ca^{2+} ポンプ、さらに細胞内の Ca^{2+} 結合タンパク質が機能する（第1表と第2図参照）。近年、特に小胞体内の Ca^{2+} が枯渇したとき、小胞体に Ca^{2+} を供給するために小胞体型 Ca^{2+} ポンプ以外に、ストア依存性カルシウムチャネル（Store-operated calcium channel）や $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エキスチェンジャーの逆転輸送が役立っていると考えられている（第1表と第2図参照）。

5. 水平細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度調節

明暗に伴い視細胞が放出するL-グルタミン酸量が増加するため、これを受け取る水平細胞の膜電位も大きく変化する。水平細胞の暗時の膜電位は $-40 \sim -25$ mVであるのに対して、明時には $-55 \sim -65$ mVである。このような膜電位の変化と併行して、水平細胞内 Ca^{2+} 濃度も変化するに違いない。

アメリカナマズ網膜から単離した水平細胞を用いた実験では、静止状態（膜電位が -55 mV 付近にある。）では細胞内 Ca^{2+} 濃度は平均で 75 nM 程であった。しかし、 10 mM の L-グルタミン酸と投与すると、細胞内 Ca^{2+} 濃度は一過性には数 mM にまで上昇し、その後約 600 nM に維持されることが示された (Hayashida & Yagi, 2002)。この一過性の Ca^{2+} 上昇は、主にグルタミン酸レセプターの活性化に伴う小胞体の Ca^{2+} 放出による可能性が高く、そして持続性の Ca^{2+} 上昇は主にグルタミン酸レセプターの活性化に伴う電位依存性カルシウムチャネルによる可能性が高いこと報じられた (Hayashida & Yagi, 2002)。また、Hayashida & Yagi (2002) は、細胞内 Ca^{2+} の排出には $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ エクスチェンジャーと Ca^{2+} ポンプが機能していることを明らかにした。

近年、興奮性細胞のみならず非興奮性細胞において多くの研究が行われて、細胞内 Ca^{2+} の重要性が次々と見出されている。水平細胞においても細胞内 Ca^{2+} を調査する研究が始まっているが、細胞内 Ca^{2+} の正確な動態（時空間の Ca^{2+} 濃度変化）の詳細は未だ行われていない（例えば、Hayashida & Yagi, 2002）。従って、水平細胞の膜電位と細胞内 Ca^{2+} の関係や細胞内 Ca^{2+} 緩衝能⁶⁾ に関する知見は未だ不十分である（例えば、Akopian & Witkovsky, 2002; Country & Jonz, 2017）。とはいえ、Solessio & Lasater (2002) により、水平細胞の Ca^{2+} 緩衝能は 2500 以上であるという報告がなされている。多くの神経細胞では Ca^{2+} 緩衝能が $20\sim 200$ であるのに対して、水平細胞の数値は極めて高く、これは暗時に発生する水平細胞への持続的な Ca^{2+} 流入によって細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇し過ぎないようにするためであろうと考えられている。

6. 水平細胞の細胞内 Ca^{2+} の役割

細胞外 Ca^{2+} 濃度は、 $1\sim 3$ mM に維持されている。しかし、静止状態（非興奮状態）の細胞では細胞内 Ca^{2+} が数 10 nM と極めて低く保たれている。細胞刺激により、細胞内 Ca^{2+} 濃度は数百 nM まで増加し、これが筋収縮、細胞分化、分泌、増殖、細胞死、神経伝達物質放出、シナプス可塑性、遺伝子発現のような生命現象を惹起することが知られている（例えば、Mackrill, 1999; Clapham, 2007; Bagur & Hajnóczky, 2017）。

これまでの研究により、魚類網膜水平細胞の細胞内 Ca^{2+} は GABA 放出と水平細胞樹状突起先端の形成（伸長）と退行に細胞内 Ca^{2+} が関与していることが報じられている（例えば、Lam *et al.*, 1980; Wu & Dowling, 1980; Weiler & Wagner, 1984; Ayoub & Lam, 1985; Djamgoz *et al.*, 1989）。何れも水平細胞から錐体（視細胞）への抑制作用に関係している。

魚類網膜において、GABA 説は水平細胞から錐体への抑制作用のしくみとして多年にわたり信じられてきた仮説である。これまでの研究によって、水平細胞からの GABA 放出には

Ca^{2+} 依存性開口放出と Ca^{2+} 非依存性の GABA トランスポーターの2つのしくみが報じられている (Lam *et al.*, 1980; Wu & Dowling, 1980; Ayoub & Lam, 1985, 1987; Schwartz, 1987, 2002)。Ayoub & Lam (1985) はキンギョ網膜から単離した水平細胞を用い、細胞外 K^+ 上昇に伴う水平細胞の脱分極によって GABA 放出が促進されることを踏まえ、脱分極が小さいとき Ca^{2+} 依存性そして脱分極が大きいとき Ca^{2+} 非依存性の GABA 放出を生じることを報じている。しかし、GABA そしてそのアンタゴニストが抑制作用に影響しないことを報じる研究が現れ、GABA 説は劣勢となっている (Verweij *et al.*, 1996)。

水平細胞の樹状突起は、錐体シナプス終末の陥入に入り込みシナプス連絡している。明順応下の網膜において、水平細胞の樹状突起はさらに細い突起 (棘 [Spinule]) を数多く形成し、一方暗順応下の網膜ではこの棘が消失することを見出した (例えば、Weiler & Wagner, 1984; Djamgoz *et al.*, 1989; Kirsch *et al.*, 1990)。暗順応下では、棘の消失に加え、色対比型水平細胞の波長特異性の消失が一致して生じたため、この棘の形成と消失は水平細胞から錐体への抑制作用と密接に関わっていると結論付けた (Kirsch *et al.*, 1990; Kröger & Wagner, 1996)。近年、暗順応下での水平細胞の棘の消失が、錐体が放出した L-グルタミン酸によって水平細胞の Ca^{2+} 透過型 AMPA 型グルタミン酸を活性化し、水平細胞内に流入した Ca^{2+} が CaMKII⁷⁾ に作用することで生じることを見出した (Schmitz *et al.*, 1995; Okada *et al.*, 1999)。しかし、CaMKII は水平細胞の樹状突起に発現しているものの、その近くにカルモジュリンは検出されず、CaMKII の存在部近辺にカルレンドリンが共存していることが報告されている (Schultz *et al.*, 2004)。

7. 終わりに

これまで興奮性細胞および非興奮性細胞の細胞内 Ca^{2+} に関し、膨大な数の研究が行われてきた。近年、細胞内 Ca^{2+} 信号の可視化が可能となり、細胞内 Ca^{2+} の時空間的変化を調査できるようになり、 Ca^{2+} の作用は細胞内 (細胞質) と細胞核に及ぶ多種多様な細胞機能制御に結びついていることが明らかになった。

脊椎動物網膜では、細胞内 Ca^{2+} の研究が二度注目を集めた。一つ目は、視細胞の膜電位変化に細胞内 Ca^{2+} が関与していることを報じた研究である (例えば、Hagins, 1972; Hagins & Yoshikami, 1974)。残念ながら、 Ca^{2+} ではなく、cGMP が視細胞の膜電位変化に関与しているという結論⁸⁾ に至ったが、その後光受容の複数のプロセスに Ca^{2+} が関与していることが明らかになっている (例えば、Miki *et al.*, 1975; Hubbel & Bownds, 1979; Liebman & Pugh, 1979; Fesenko *et al.*, 1985)。実際、細胞内 Ca^{2+} は視細胞内の S-モデュリンやリカバリンに作用して光応答の持続時間調整、あるいは GCAP に作用して明順応時の光感度の調整に関与

していることなどが報じられている（例えば、Koch & Stryer, 1988; Dizhoor *et al.*, 1991; Kawamura, 1993a）。二つ目は、視細胞からの L-グルタミン酸放出に Ca^{2+} が関与していることを報じた研究である（例えば、Matthews & Fuchs, 2010）。視細胞のシナプス終末にシナプスリボンが存在し、この周辺にシナプス小胞が認められる（例えば、Townes-Anderson *et al.*, 1985; Thoreson *et al.*, 2004）。この小胞が細胞膜に融合し、その内容物である L-グルタミン酸をシナプス間隙に放出するには、シナプス終末内の Ca^{2+} 上昇が必要であることが明らかになっている（このような神経伝達物質の放出を、 Ca^{2+} 依存性開口放出という。）（例えば、Schmitz & Witkovsky, 1997; Thoreson *et al.*, 2004; Heidelberger *et al.*, 2005; Rabl *et al.*, 2006）。

視細胞以外の網膜神経細胞において、細胞内 Ca^{2+} の調節ならびにその機能に関する研究は漸く緒に就いたところである。これまでに、水平細胞では細胞膜と小胞体に細胞内 Ca^{2+} を制御するしくみが備わっていること、そして水平細胞内 Ca^{2+} が視細胞（錐体）に対する抑制作用（ Ca^{2+} 依存性 GABA 放出と水平細胞樹状突起の棘形成）に関与していることが示されたが、依然として他領域の Ca^{2+} 研究に比べて遅れた状況にあることは歪めない。今後、水平細胞も含め網膜神経細胞の細胞内 Ca^{2+} とタンパク質（酵素）の関わり、さらに細胞内 Ca^{2+} の転写調節因子活性化を介した遺伝子発現制御などを明らかにするため、生理学的のみならず生化学的・分子生物学的・免疫組織化学的手法を駆使した研究を加速させる必要がある。

薬品名の表記

本論文中に記載されている薬品類は、日本語表記に努めた。しかし、正式名称が長く、略称を用いる薬品類は、日本語表記を省略して英語表記のみに留めた。

引用文献

- Akopian, A. and Witkovsky, P. (2002), Calcium and retinal function, *Mol. Neurobiol.*, **25**: 113–132.
- Ayoub, G. S. and Lam, D. M. (1985), The content and release of endogenous GABA in isolated horizontal cells of the goldfish retina, *Vision Res.*, **25**: 1187–1193.
- Ayoub, G. S. and Lam, D. M. (1987), Accumulation of gamma-aminobutyric acid by horizontal cells isolated from the goldfish retina, *Vision Res.*, **27**: 2027–2034.
- Ayoub, G. S., Korenbrot, J. and Copenhagen, D. R. (1989), Release of endogenous glutamate from isolated cone photoreceptors of the lizard, *Neurosci. Res.*, **Suppl. 10**: 47–57.
- Badea, T. C. and Nathans, J. (2004), Quantitative analysis of neuronal morphologies in the mouse retina visualized by using a genetically directed reporter, *J. Comp. Neurol.*, **480**: 331–351.
- Bagur, R. and Hajnóczky, G. (2017), Intracellular Ca^{2+} sensing: Its role in calcium homeostasis and signaling, *Mol. Cell*, **66**: 780–788.
- Baimbridge, K. G., Ceilo, M. R. and Rogers, J. H. (1992), Calcium-binding proteins in the nervous system, *Trends Neurosci.*, **15**: 303–308.
- Baldrige, W. H., Ball, A. K. and Miller, R. C. (1987), Dopaminergic regulation of horizontal cell gap junc-

- tion particle density in goldfish retina, *J. Comp. Neurol.*, **265**: 428–436.
- Baldrige, W. H., Vaney, D. I. and Weiler, R. (1998), The modulation of intracellular coupling in the retina, *Sem. Cell Develop. Biol.*, **9**: 311–318.
- Barlow, H. B. and Levick, W. R. (1965), The mechanism of directional selective units in rabbit's retina, *J. Physiol.*, **178**: 477–504.
- Baylor, D. A., Fuortes, M. G. F. and O'Brayan, P. M. (1971), Receptive fields of cones in the retina of the turtle, *J. Physiol.*, **214**: 265–294.
- Berridge, M. J. (1993), Inositol trisphosphate and calcium signaling, *Nature*, **361**: 315–325.
- Berridge, M. J., Lipp, P. and Bootman, M. D. (2000), The versatility and universality of calcium signaling, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **1**: 11–21.
- Bers, D. M. (2002), Cardiac excitation-contraction coupling, *Nature*, **415**: 198–205.
- Bootman, M. D. (2012), Calcium signaling, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **4**: 1–3 (<https://cshperspectives.cshlp.org/content/4/7/a011171>).
- 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.
- Brown, J. E., Coles, J. A. and Pnto, L. H. (1977), Effects of injections of calcium and EGTA into the outer segments of retinal rods of *Bufo marinus*, *J. Physiol.*, **269**: 707–722.
- Burgoyne, R. D. and Weiss, J. L. (2001), The neuronal calcium sensor family of Ca^{2+} -binding proteins, *Biochem. J.*, **353**: 1–12.
- Burkhardt, D. A. (1977), Responses and receptive-field organization of cones in perch retinas, *J. Neurophysiol.*, **40**: 53–62.
- Burkhardt, D. A. and Hassin, G. (1978), Influences of cones upon chromatic- and luminosity-type horizontal cells in pikeperch retinas, *J. Physiol.*, **281**: 125–137.
- Byzov, A. L., Golubtsov, K. V. and Trifonov, J. A. (1977), The model of mechanism of feedback between horizontal cells and photoreceptors in vertebrate retina, In *Vertebrate Photoreception* (Eds. H. B. Barlow and P. Fatt), pp265–274, Academic Press, London.
- Carafoli, E. (2003), The calcium-signaling saga: Tap water and protein crystals, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **4**: 326–332.
- Chin, D. and Means, A. R. (2000), Calmodulin: a prototypical calcium sensor, *Trends Cell Biol.*, **10**: 322–328.
- Choi, D. W. (1988), Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system, *Neuron*, **1**: 623–634.
- Clapham, D. E. (1995), Calcium signaling, *Cell*, **80**: 259–268.
- Clapham, D. E. (2007), Calcium signaling, *Cell*, **131**: 1047–1058.
- Copenhagen, D. R. and Jahr, C. E. (1989), Release of endogenous excitatory amino acids from turtle photoreceptors, *Nature*, **341**: 536–539.
- Country, M. W. and Jonz, M. G. (2017), Calcium dynamics and regulation in horizontal cells of the vertebrate retina: Lessons from teleosts, *J. Neurophysiol.*, **117**: 523–536.
- Crooks, J. and Kolb, H. (1992), Localization of GABA, glycine, glutamate and tyrosine hydroxylase in the human retina, *J. Comp. Neurol.*, **315**: 287–302.
- Daw, N. W. (1973), Neurophysiology of color vision, *Physiol. Rev.*, **53**: 571–611.
- Dayanithi, G., Viero, C. and Shibuya, I. (2009), The role of calcium in the action and release of vasopressin and oxytocin from CNS neurones/terminals to the heart, *J. Physiol. Pharmacol.*, **59** (Suppl. 8): 7–26.
- Djamgoz, M. B. A., Kirsch, M. and Wagner, H.-J. (1989), Haloperidol suppresses light-induced spinule formation and biphasic responses of horizontal cells in fish (roach) retina, *Neurosci. Lett.*, **107**: 200–204.
- Dermietzel, R., Kremer, M., Papatoglu, G., Stang, A., Skerrett, I. M., Gomes, D., Srinivas, M., Janssen-Bienhold, U., Weiler, R., Nicholson, B. J., Bruzzone, R. and Spray, D. C. (2000), Molecular and functional diversity of neural connexins in the retina, *J. Neurosci.*, **20**: 8331–8343.
- DeVries, S. H. and Schwartz, E. A. (1989), Modulation of an electrical synapse between solitary pairs of

- catfish horizontal cells by dopamine and second messengers, *J. Physiol.*, **414**: 351–375.
- DeVries, S. H. and Schwartz, E. A. (1992), Hemi-gap-junction channels in solitary horizontal cells of the catfish retina, *J. Physiol.*, **445**: 201–230.
- Dixon, D. B. and Copenhagen, D. R. (1997), Metabotropic glutamate receptor mediated suppression of an inward rectifier current is linked via a cGMP cascade, *J. Neurosci.*, **17**: 8945–8954.
- Dixon, D. B., Takahashi, K.-I. and Copenhagen, D. R. (1993), L-glutamate suppresses HVA calcium current in catfish horizontal cells by raising intracellular proton concentration, *Neuron*, **11**: 267–277.
- Dixon, D. B., Takahashi, K.-I., Bieda, M. and Copenhagen, D. R. (1996), Quinine, intracellular pH and modulation of hemi-gap junctions in catfish horizontal cells, *Vision Res.*, **36**: 3925–3931.
- Dizhoor, A. M., Ray, S., Kumar, S., Niemi, G., Spencer, M., Brolley, D., Walsh, K. A., Philipov, P. P., Hurley, J. B. and Stryer, L. (1991), Recoverin: A calcium sensitive activator of retinal rod guanylate cyclase, *Science*, **251**: 915–918.
- Dowling, J. E. and Werblin, F. S. (1969), Organization of retina of the mudpuppy, *Necturus maculosus*: I Synaptic structure, *J. Neurophysiol.*, **32**: 315–338.
- Eliasof, S. and Jahr, C. E. (1997), Rapid AMPA receptor desensitization in catfish cone horizontal cells, *Vis. Neurosci.*, **14**: 13–18.
- Fesenko, E. E., Kolesnikov, S. S. and Lyubarsky, A. L. (1985), Induction by cyclic-GMP of cationic conductance in plasma membrane retinal rod outer segment, *Nature*, **313**: 310–313.
- Fried, S. I., Münch, T. A. and Werblin, F. S. (2002), Mechanism and circuitry underlying directional selectivity in the retina, *Nature*, **420**: 411–414.
- Fuortes, M. G. F. and Simon, E. J. (1974), Interactions leading to horizontal cell responses in the turtle retina, *J. Physiol.*, **240**: 177–199.
- Gafka, A. C., Vogel, K. S. and Linn, C. L. (1999), Evidence of metabotropic glutamate receptor subtypes found on catfish horizontal and bipolar retinal neurons, *Neuroscience*, **90**: 1403–1414.
- Gouras, P. (1972), S-potential. Physiology of photo-receptor organ, In *Handbook of sensory Physiology*, Vol. VII/2, pp513–529, Springer-Verlag, Berlin.
- Hagins, W. A. (1972), The visual process: Excitatory mechanisms in the primary receptor cells, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **1**: 131–158.
- Hagins, W. A. and Yoshikami, S. (1974), A role for Ca^{2+} in excitation of retinal rods and cones, *Exp. Eye Res.*, **18**: 299–305.
- Hamill, O. P., Marty, E., Sakmann, B. and Sigworth, F. J. (1981), Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches, *Pflügers Arch.*, **391**: 85–100.
- Haugh-Scheidt, L., Malchow, R. P. and Ripps, H. (1995), GABA transport and calcium dynamics in horizontal cells from the skate retina, *J. Physiol.*, **488**: 565–576.
- Hayashida, Y. and Yagi, T. (2002), On the interaction between voltage-gated conductances and Ca^{2+} regulation mechanisms in retinal horizontal cells, *J. Neurophysiol.*, **87**: 172–182.
- Hayashida, Y., Yagi, T. and Yasui, S. (1998), Ca^{2+} regulation by the Na^{+} - Ca^{2+} exchanger in retinal horizontal cells depolarized by L-glutamate, *Neurosci. Res.*, **31**: 189–199.
- Heidelberger, R., Thoreson, W. B. and Witkovsky, P. (2005), Synaptic transmission at retinal ribbon synapses, *Prog. Retin. Eye Res.*, **24**: 682–720.
- Hirasawa, H. and Kaneko, A. (2003), pH changes in the invaginating synaptic cleft mediate feedback from horizontal cells to cone photoreceptors by modulating Ca^{2+} channels, *J. Gen. Physiol.*, **122**: 657–671.
- Huang, S. Y. and Liang, P. J. (2005), Ca^{2+} -permeable and Ca^{2+} -impermeable AMPA receptors coexist on horizontal cells, *Neuroreport*, **16**: 263–266.
- Huang, S. Y., Liu, Y. and Liang, P. J. (2004), Role of Ca^{2+} store in AMPA-triggered Ca^{2+} dynamics in retinal horizontal cells, *Neuroreport*, **15**: 2311–2315.
- Huang, S. Y., Hu, J., Gong, H. and Liang, P. (2006), Postsynaptic calcium pathway contributes to synaptic plasticity between retinal cones and luminosity-type horizontal cells, *Acta Physiol. Sin.*, **58**: 407–414.
- Hubbell, W. L. and Bownds, M. D. (1979), Visual transduction in vertebrate photoreceptors, *Ann. Rev. Neurosci.*, **2**: 17–34.

- Ishida, A. T., Stell, W. T. and Lightfoot, D. O. (1980), Rod and cone inputs to bipolar cells in goldfish retina, *J. Comp. Neurol.*, **191**: 315–335.
- Jacoby, J., Kreitzer, M. A., Alford, S., Qian, H., Tchernookova, B. K., Naylor, E. R. and Malchow, R. P. (2012), Extracellular pH dynamics of retinal horizontal cells examined using electrochemical and fluorometric methods, *J. Neurophysiol.*, **107**: 868–879.
- Janssen-Bienhold, U., Dermietzel, R. and Weiler, R. (1998), Distribution of connexin43 immunoreactivity in the retinas of different vertebrates, *J. Comp. Neurol.*, **396**: 310–321.
- Janssen-Bienhold, U., Schultz, K., Gellhaus, A., Schmidt, P., Ammermuller, J. and Weiler, R. (2001), Identification and localization of connexin26 within the photoreceptor-horizontal cell synaptic complex, *Vis. Neurosci.*, **18**: 169–178.
- Jiang, X. D., Wang, X. L., Sun, Y., Gong, H. Q. and Liang, P. J. (2008), NMDA modulation of GABA transporter current in carp retinal horizontal cells, *Brain Res.*, **1240**: 105–110.
- Johnson, J., Sherry, D. M., Liu, X., Fremneau, R. T., Seal, R. P., Edwards, R. H. and Copenhagen, D. R. (2004), Vesicular glutamate transporter 3 expression identifies glutamatergic amacrine cells in the rodent retina, *J. Comp. Neurol.*, **477**: 386–398.
- Johnston, D. and Lam, D. M. (1981), Regenerative and passive membrane properties of isolated horizontal cells from a teleost retina, *Nature*, **292**: 451–454.
- Jonz, M. G. and Barnes, S. (2007), Proton modulation of ion channels in isolated horizontal cells of the goldfish retina, *J. Physiol.*, **581**: 529–541.
- Kamermans, M., Fahrenfort, I., Schultz, K., Janssen-Bienhold, U., Sjoerdsma, T. and Weiler, R. (2001), Hemichannel-mediated inhibition in the outer retina, *Science*, **292**: 1178–1180.
- Kaneko, A. (1970), Physiological and morphological identification of horizontal, bipolar and amacrine cells in goldfish retina, *J. Physiol.*, **207**: 623–633.
- Kaneko, A. (1971), Electrical connexions between horizontal cells in the dogfish retina, *J. Physiol.*, **213**: 95–105.
- Kaneko, A. (1973), Receptive field organization of bipolar and amacrine cells in the goldfish retina, *J. Physiol.*, **235**: 133–153.
- Kaneko, A. (1979), Physiology of the retina, *Ann. Rev. Neurosci.*, **2**: 169–191.
- Kaneko, A. (1983), Retinal bipolar cells: their function and morphology, *Trends Neurosci.*, **6**: 219–223.
- Kaneko, A. and Saito, T. (1983), Ionic mechanisms underlying the responses of off-center bipolar cells in the carp retina: II Studies on responses evoked by transretinal current stimulation, *J. Gen. Physiol.*, **81**: 603–612.
- Kaneko, A. and Stuart, A. E. (1984), Coupling between horizontal cells in the carp retina revealed by diffusion of Lucifer yellow, *Neurosci. Lett.*, **47**: 1–7.
- Kaneko, A. and Tachibana, M. (1982), Retinal bipolar cells with double colour-opponent receptive field, *Nature*, **293**: 220–222.
- Kass, G. E. N. and Orrenius, S. (1999), Calcium signaling and cytotoxicity, *Environ. Health Pers.*, **107**: 25–35.
- Kawasaki, A., Han, A.-H., Wei, J.-Y., Hirata, K., Otori, Y. and Barnstable, C. J. (2002), Protective effect of arachidonic acid on glutamate neurotoxicity in rat retinal ganglion cells, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **43**: 1835–1842.
- Kawamura, S. (1993a), Molecular aspects of photoreceptor adaptation in vertebrate retina, *Int. Rev. Neurobiol.*, **35**: 43–86.
- Kawamura, S. (1993b), Rhodopsin phosphorylation as a mechanism of cyclic GMP phosphodiesterase regulation by S-modulin, *Nature*, **362**: 855–857.
- 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.
- Kirsch, M., Djamgoz, M. B. A. and Wagner, H.-J. (1990), Correlation of spinule dynamics and plasticity of the horizontal cell spectral response in cyprinid fish retina: Quantitative analysis, *Cell Tiss. Res.*, **260**: 123–130.

- Klaassen, L. J., Sun, Z., Steijaert, M. N., Bolte, P., Fahrenfort, I., Sjoerdsma, T., Klooster, J., Claassen, Y., Shields, C. R., Ten Eikelder, H. M., Janssen-Bienhold, U., Zoidl, G., McMahon, D. G. and Kamermans, M. (2011), Synaptic transmission from horizontal cells to cones is impaired by loss of connexin hemichannels, *PLoS Biol.*, **9**: 1–17 (<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001107>).
- Kobayashi, S., Morgans, C. W., Casey, J. R. and Kopito, R. R. (1994), AE3 anion exchanger isoforms in the vertebrate retina: Developmental regulation and differential expression in neurons and glia, *J. Neurosci.*, **14**: 6266–6279.
- Koch, K.-W. and Stryer, L. (1988), Highly cooperative feedback control of retinal rod guanylate cyclase by calcium ions, *Nature*, **334**: 64–66.
- Kolb, H. (1970), Organization of the outer plexiform layer of the primate retina: electron microscopy of Golgi-impregnated cells, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, **B258**: 261–283.
- Kolb, H. (1974), The connections between horizontal cells and photoreceptors in the retina of the cat: electron microscopy of Golgi preparations, *J. Comp. Neurol.*, **155**: 1–14.
- Kolb, H. (1979), The inner plexiform layer in the retina of the cat: electron microscopic observation, *J. Neurocytol.*, **8**: 295–329.
- Kovács-Öller, T., Szarka, G., Ganczer, A., Tengölics, Á., Balogh, B. and Völgyi, B. (2019), Expression of Ca^{2+} -binding buffer proteins in the human and mouse retinal neurons, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**: 1–22 (<https://doi.org/10.3390/ijms20092229>).
- Kreitzer, M. A., Collis, L. P., Molina, A. J., Smith, P. J. and Malchow, R. P. (2007), Modulation of extracellular proton fluxes from retinal horizontal cells of the catfish by depolarization and glutamate, *J. Gen. Physiol.*, **130**: 169–182.
- Kreitzer, M. A., Jacoby, J., Naylor, E., Baker, A., Grable, T., Tran, E., Booth, S. E., Qian, H. and Malchow, R. P. (2012), Distinctive patterns of alterations in proton efflux from goldfish retinal horizontal cells monitored with self-referencing H^+ selective electrodes, *Eur. J. Neurosci.*, **36**: 3040–3050.
- Kritis, A. A., Stamoula, E. G., Paniskaki, A., Theofanis, D. and Vavilis, T. D. (2015), Researching glutamate-induced cytotoxicity in different cell lines: A comparative/collective analysis/study, *Front. Cell Neurosci.*, **9**: 1–18 (<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00091>).
- Kröger, R. H. H. and Wagner, H.-J. (1996), Horizontal cell spinule dynamics in fish are affected by rearing in monochromatic light, *Vision Res.*, **36**: 3879–3889.
- Kumar, N. M. and Gilula, N. B. (1996), The gap junction communication channel, *Cell*, **84**: 381–388.
- Lam, D. M. K., Lasater, E. M. and Naka, K.-I. (1978), γ -aminobutyric acid: A neurotransmitter candidate for cone horizontal cells of the catfish retina, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**: 6310–6313.
- Lam, D. M., Su, Y., Chin, C., Brandon, C., Wu, J. Y., Marc, R. E. and Lasater, E. M. (1980), GABA-ergic horizontal cells in the teleost retina, *Brain Res. Bull.*, **5**: 137–140.
- Lasater, E. M. (1986), Ionic currents of cultured horizontal cells isolated from white perch retina, *J. Neurophysiol.*, **55**: 499–513.
- Lasater, E. M. (1987), Retinal horizontal cell gap junctional conductance is modulated by dopamine through a cyclic AMP-dependent protein kinase, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **84**: 7319–7323.
- Lasater, E. M. and Dowling, J. E. (1985), Dopamine decreases conductance of the electrical junctions between cultured retinal horizontal cells, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **82**: 3025–3029.
- Lewerenz, J. and Maher, P. (2015), Chronic glutamate toxicity in neurodegenerative diseases – What is the evidence ?, *Front. Neurosci.*, **9**: 1–20 (<https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00469>).
- Lewerenz, J. and Maher, P. (2015), Chronic glutamate toxicity in neurodegenerative diseases – What is the evidence ?, *Front. Neurosci.*, **9**: 1–20 (<https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00469>).
- Lide, D. A. (ed.) (2005), *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 85 edition, pp1228, CRC Press, Boca Raton (<http://www.hbcpnetbase.com>).
- Liebman, P. A. and Pugh Jr, E. N. (1979), The control of phosphodiesterase in rod disk membranes: Kinetics, possible mechanisms and significance for vision, *Vision Res.*, **19**: 375–380.
- Linn, C. P. and Christensen, B. N. (1992), Excitatory amino acid regulation of intracellular Ca^{2+} in isolated catfish cone horizontal cells measured under voltage- and concentration-clamp conditions, *J. Neurosci.*

- 12**: 2156–2164.
- Linn, C. L. and Gafka, A. C. (1999), Activation of metabotropic glutamate receptors modulates the voltage-gated sustained calcium current in a teleost horizontal cell, *J. Neurophysiol.*, **81**: 425–434.
- Linn, C. L. and Gafka, A. C. (2001), Modulation of a voltage-gated calcium channel linked to activation of glutamate receptors and calcium-induced calcium release in the catfish retina, *J. Physiol.*, **535**: 47–63.
- Liu, J. and Sanes, J. R. (2017), Cellular and molecular analysis of dendritic morphogenesis in a retinal cell type that senses color contrast and ventral motion, *J. Neurosci.*, **37**: 12247–12262.
- Liu, C. R., Xu, L., Zhong, Y. M., Li, R. X. and Yang, X. L. (2009), Expression of connexin 35/36 in retinal horizontal and bipolar cells of carp, *Neuroscience*, **164**: 1161–1169.
- Lucus, D. R. and Newhouse, J. P. (1957), The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina, *Arch. Ophthalmol.*, **58**: 193–201.
- Luo, F. J. and Liang, P. J. (2003), Metabotropic glutamate receptor-mediated hetero-synaptic interaction of red- and green-cone inputs to LHC of carp retina, *Brain Res. Bull.*, **60**: 67–71.
- Lv, T., Gong, H. Q. and Liang, P. J. (2014), Caffeine-induced Ca^{2+} oscillations in type I horizontal cells of the carp retina and the contribution of the store-operated Ca^{2+} entry pathway, *PLOS ONE* **9**: 1–11 (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100095>).
- Mackrill, J. J. (1999), Protein-protein interactions in intracellular Ca^{2+} -release channel function, *Biochem J.*, **337**: 345–361.
- Malchow, R. P., Qian, H., Ripps, H. and Dowling, J. E. (1990), Structural and functional properties of two types of horizontal cell in the skate retina, *J. Gen. Physiol.*, **95**: 177–198.
- Mark, L. P., Prost, R. W., Ulmer, J. L., Smith, M. M., Daniels, D. L., Strottmann, J. M., Brown, W. D. and Haccin-Bey, L. (2001), Pictorial review of glutamate excitotoxicity: Fundamental concepts for neuroimaging, *Am. J. Neuroradiol.*, **22**: 1813–1824.
- Matthews, G. and Fuchs, P. (2010), The diverse roles of ribbon synapses in sensory neurotransmission, *Nat. Rev. Neurosci.*, **11**: 812–822.
- McGrail, K. M. and Sweadner, K. J. (1986), Immunofluorescent localization of two different Na, K-ATPases in the rat retina and in identified dissociated retinal cells, *J. Neurosci.*, **6**: 1272–1283.
- McMahon, D. G. (1994), Modulation of electrical synaptic transmission in zebrafish retinal horizontal cells, *J. Neurosci.*, **14**: 1722–1734.
- McMahon, D. G. and Brown, D. R. (1994), Modulation of gap junction channel gating at zebrafish retinal electrical synapses, *J. Neurophysiol.*, **72**: 2257–2268.
- McMahon, D. G. and Mattson, M. P. (1996), Horizontal cell electrical coupling in the giant danio: synaptic modulation by dopamine and synaptic maintenance by calcium, *Brain Res.*, **718**: 89–96.
- Meldrum, B. S. (2000), Glutamate as a neurotransmitter in the brain: Review of physiology and pathology, *J. Nutr.*, **130**: 1007S–1015S.
- Meldrum, B. and Garthwaite, J. (1990), Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease, *Trends Pharmacol. Sci.*, **11**: 379–387.
- Micci, M. A. and Christensen, B. N. (1998), $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange in catfish retina horizontal cells: regulation of intracellular Ca^{2+} store function, *Am. J. Physiol.*, **274**: C1625–C1633.
- Miki, N., Baraban, J. M., Keirns, J. J., Boyce, J. J. and Bitensky, M. W. (1975), Purification and properties of the light-activated cyclic nucleotide phosphodiesterase of rod outer segments, *J. Biol. Chem.*, **250**: 6320–6327.
- Miller, W. H. and Nicol, G. D. (1979), Evidence that cyclic GMP regulates membrane potential in retinal rod photoreceptors, *Nature*, **280**: 64–66.
- Miller, A. M. and Schwartz, E. A. (1983), Evidence for the identification of synaptic transmitters released by photoreceptors of the toad retina, *J. Physiol.*, **334**: 325–349.
- Molina, A. J., Verzi, M. P., Birnbaum, A. D., Yamoah, E. N., Hammar, K., Smith, P. J. and Malchow, R. P. (2004), Neurotransmitter modulation of extracellular H^+ fluxes from isolated retinal horizontal cells of the skate, *J. Physiol.*, **560**: 639–657.
- Morita, K., Morimoto, K., Kaji, D., Akiyama, T., Goto, S., Haba, H., Ideguchi, E., Kanungo, R., Katori, K.,

- Koura, H., Kudo, H., Ohnishi, T., Ozawa, A., Suda, T., Sueki, K., Xu, H.-S., Yamaguchi, T., Yoneda, A., Yoshida, A. and Zhao, Y.-L. (2004), Experiment on the synthesis of element 113 in the reaction $^{209}\text{Bi} (^{70}\text{Zn},n) ^{278}113$, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **73**: 2593–2596.
- Morita, K., Morimoto, K., Kaji, D., Akiyama, T., Goto, S., Haba, H., Ideguchi, E., Katori, K., Koura, H., Kikunaga, H., Kudo, H., Ohnishi, T., Ozawa, A., Sato, N., Suda, T., Sueki, K., Tokanai, F., Yamaguchi, T., Yoneda, A. and Yoshida, A. (2007), Observation of second decay chain from $^{278}113$, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **76**: 1–2 (<http://journals.jps.jp/doi/10.1143/JPSJ.76.045001>).
- Morita, K., Morimoto, K., Kaji, D., Haba, H., Ozeki, K., Kudou, Y., Sato, N., Sumita, T., Yoneda, A., Ichikawa, T., Fujimori, Y., Goto, S., Ideguchi, E., Kasamatsu, Y., Katori, K., Komori, Y., Koura, H., Kudo, H., Ooe, K., Ozawa, A., Tokanai, F., Tsukada, K., Yamaguchi, T., and Yoshida, A. (2009), Decay properties of ^{266}Bh and ^{262}Db produced in the $^{248}\text{Cm} + ^{23}\text{Na}$ reaction, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **78**: 1–6 (<http://journals.jps.jp/doi/abs/10.1143/JPSJ.78.064201>).
- Morita, K., Morimoto, K., Kaji, D., Haba, H., Ozeki, K., Kudou, Y., Sumita, T., Wakabayashi, Y., Yoneda, A., Tanaka, K., Yamaki, S., Sakai, R., Akiyama, T., Goto, S., Hasebe, H., Huang, M., Huang, T., Ideguchi, E., Kasamatsu, Y., Katori, K., Kariya, Y., Kikunaga, H., Koura, H., Kudo, H., Mashiko, A., Mayama, K., Mitsuoka, S., Moriya, T., Murakami, M., Murayama, H., Namai, S., Ozawa, A., Sato, N., Sueki, K., Takeyama, M., Tokanai, F., Yamaguchi, T. and Yoshida, A. (2012), New result in the production and decay of an isotope, $^{278}113$, of the 113th Element, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **81**: 1–4 (<http://journals.jps.jp/doi/10.1143/JPSJ.81.103201>).
- Mundy, G. R. and Guise, T. A. (1999), Hormonal control of calcium homeostasis, *Clin. Chem.*, **45**: 1347–1352.
- Murakami, M. and Takahashi, K.-I. (1987), Calcium action potential and its use for measurement of reversal potentials of horizontal cell responses in carp retina, *J. Physiol.*, **386**: 165–180.
- Murakami, M., Shimoda, Y., Nakatani, K., Miyachi, E.-I. and Watanabe, S.-I. (1982a), GABA- mediated negative feedback from horizontal cells to cones in carp retina, *Jpn. J. Physiol.*, **32**: 911–926.
- Murakami, M., Shimoda, Y., Nakatani, K., Miyachi, E.-I. and Watanabe, S.-I. (1982b), GABA- mediated negative feedback and color opponency in carp retina, *Jpn. J. Physiol.*, **32**: 927–935.
- Murphy, T. H., Miyamoto, M., Sastre, A., Schnaar, R. L. and Coyle, J. T. (1989), Glutamate toxicity in a neuronal cell line involves inhibition of cysteine transport leading to oxidative stress, *Neuron*, **2**: 1547–1558.
- Naka, K.-I. and Carraway, N. R. G. (1975), Morphological and functional identification of catfish retinal neurons I Classical morphology, *J. Neurophysiol.*, **38**: 53–71.
- Naka, K.-I. and Rushton, W. A. H. (1967), The generation and spread of S-potentials in fish (*Cyprinidae*), *J. Physiol.*, **192**: 437–461.
- Nakatani, K. and Yau, K.-W. (1988), Guanosin 3',5'-cyclic monophosphate-activated conductance studied in a truncated rod outer segment of the toad, *J. Physiol.*, **395**: 731–753.
- Nawy, S., Sie, A. and Copenhagen, D. R. (1989), The glutamate analog 2-amino-4- phosphonobutyrate antagonizes synaptic transmission from cones to horizontal cells in the goldfish retina, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **86**: 1726–1730.
- Nelson, R., Bender, A. M. and Connaughton, V. P. (2003), Stimulation of sodium pump restores membrane potential to neurons excited by glutamate in zebrafish distal retina, *J. Physiol.*, **549**: 787–800.
- O'Dell, T. and Christensen, B. N. (1986), N-methyl-D-aspartate receptors coexist with kainate and quisqualate receptors on single isolated catfish horizontal cells, *Brain Res.*, **381**: 359–362.
- O'Dell, T. and Christensen, B. N. (1989), Horizontal cells isolated from catfish retina contain two types of excitatory amino acid receptors, *J. Neurophysiol.*, **61**: 1097–1109.
- Okada, T., Schultz, K., Geurtz, W., Hatt, H. and Weiler, R. (1999), AMPA-preferring receptors with high Ca^{2+} permeability mediate dendritic plasticity of retinal horizontal cells, *Eur. J. Neurosci.*, **11**: 1085–1095.
- Olney, J. W. (1986), Inciting excitotoxic cytocide among central neurons, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **203**: 631–645.
- Olney, J. W. (1990), Excitotoxic amino acids and neuropsychiatric disorders, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*,

- 30**: 47–71.
- Parekh, A. B. and Putney, J. W. Jr. (2005), Store-operated calcium channels, *Physiol. Rev.*, **85**: 757–810.
- Prentice, H., Modi, J. P. and Wu, J.-Y. (2015), Mechanisms of neuronal protection against excitotoxicity, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial dysfunction in stroke and neurodegenerative diseases, *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2015: 1–7 (<http://dx.doi.org/10.1155/2015/964518>).
- Petersen, H. H., Petersen, C. C. H. and Kasai, H. (1994), Calcium and hormone action, *Ann. Rev. Physiol.*, **56**: 297–319.
- Pfeiffer-Linn, C. L. and Lasater, E. M. (1996), Whole cell and single-channel properties of a unique voltage-activated sustained calcium current identified in teleost retinal horizontal cells, *J. Neurophysiol.*, **75**: 609–619.
- Pozzan, T., Rizzuto, R., Volpe, P. and Meldolesi, J. (1994), Molecular and cellular physiology of intracellular calcium stores, *Physiol. Rev.*, **74**: 595–636.
- Pravina, P., Sayaji, D. and Avinash, M. (2013), Calcium and its role in human body, *Int. J. Res. Pharmaceut. Biomed. Sci.*, **4**: 659–668.
- Prochnow, N., Hoffmann, S., Dermietzel, R. and Zoidl, G. (2009a), Replacement of a single cysteine in the fourth transmembrane region of zebrafish pannexin 1 alters hemichannel gating behavior, *Exp. Brain Res.*, **199**: 255–264.
- Prochnow, N., Hoffmann, S., Vroman, R., Klooster, J., Bunse, S., Kamermans, M., Dermietzel, R. and Zoidl, G. (2009b), Pannexin1 in the outer retina of the zebrafish, *Danio rerio*, *Neuroscience*, **162**: 1039–1054.
- 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.
- Rabl, K., Cadetti, L. and Thoreson, W. B. (2006), Paired-pulse depression at photoreceptor synapses, *J. Neurosci.*, **26**: 2555–2563.
- Racioppi, L. and Means, A. R. (2012), Calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2: Roles in signaling and pathophysiology, *J. Biol. Chem.*, **287**: 31658–31665.
- Rousseaux, C. G. (2008), A review of glutamate receptors II: Pathophysiology and pathology, *J. Toxicol. Pathol.*, **21**: 133–173.
- Rowe, J. S. and Ruddock, K. H. (1982a), Hyperpolarization of retinal horizontal cells by excitatory amino acid neurotransmitter antagonists, *Neurosci. Lett.*, **30**: 251–256.
- Rowe, J. S. and Ruddock, K. H. (1982b), Depolarization of retinal horizontal cells by excitatory amino acid neurotransmitter agonists, *Neurosci. Lett.*, **30**: 257–262.
- Saito, T. and Kaneko, A. (1983), Ionic mechanisms underlying the responses of off-center bipolar cells in the carp retina: I Studies on responses evoked by light, *J. Gen. Physiol.*, **81**: 589–601.
- Sakai, H. M. and Naka, K.-I. (1988), Neuron network in catfish retina: 1968–1987, *Prog. Retin. Res.*, **7**: 149–208.
- Sakuranaga, M. and Naka, K.-I. (1985), Signal transmission in the catfish retina: I Transmission in the outer retina, *J. Neurophysiol.*, **53**: 373–389.
- Schmitz, Y. and Wolburg, H. (1991), Gap junction morphology of retinal horizontal cells is sensitive to pH alterations *in vitro*, *Cell Tiss. Res.*, **263**: 303–310.
- Schmidt, K. F. (1997), Properties of glutamate-gated ion channels in horizontal cells of the perch retina, *Vision Res.*, **37**: 2023–2028.
- Schmitz, Y. and Witkovsky, P. (1996), Glutamate release by the intact light-responsive photoreceptor layer of the *Xenopus* retina, *J. Neurosci. Meth.*, **68**: 55–60.
- Schmitz, Y. and Witkovsky, P. (1997), Dependence of photoreceptor glutamate release on a dihydropyridine-sensitive calcium channel, *Neuroscience*, **78**: 1209–1216.
- Schmitz, Y., Kohler, K. and Zrenner, E. (1995), Evidence for calcium/calmodulin dependence of spinule retraction in retinal horizontal cells, *Vis. Neurosci.*, **12**: 413–424.
- Schultz, K., Janssen-Bienhold, U., Gundelfinger, E. D., Kreutz, M. R. and Weiler, R. (2004), Calcium-binding

- protein Caldendrin and CaMKII are localized in spinules of the carp retina, *J. Comp. Neurol.*, **479**: 84–93.
- Schwartz, E. A. (1987), Depolarization without calcium can release gamma-aminobutyric acid from a retinal neuron, *Science*, **238**: 350–355.
- Schwartz, E. A. (2002), Transport-mediated synapses in the retina, *Physiol. Rev.*, **82**: 875–891.
- Shen, Y., Zhang, A. J. and Yang, X. L. (2003), Uncoupling of horizontal cells alters the receptive fields of retinal bipolar cells, *Neuroreport*, **14**: 2159–2162.
- Shen, Y., Zhang, M., Jin, Y. and Yang, X. L. (2006), Functional N-methyl-D-aspartate receptors are expressed in cone-driven horizontal cells in carp retina, *Neurosignals*, **15**: 174–179.
- Shields, C. R., Klooster, J., Claassen, Y., Ul-Hussain, M., Zoidl, G., Dermietzel, R. and Kamermans, M. (2007), Retinal horizontal cell-specific promoter activity and protein expression of zebrafish connexin 52.6 and connexin 555, *J. Comp. Neurol.*, **501**: 765–779.
- Shimura, M., Tamai, M., Zushi, I. and Akaike, N. (1998), Characterization of the electrogenic Na^+ - K^+ pump in horizontal cells isolated from the carp retina, *Neuroscience*, **86**: 233–240.
- Shingai, R. and Christensen, B. N. (1983), Sodium and calcium currents measured in isolated catfish horizontal cells under voltage clamp, *Neuroscience*, **10**: 893–897.
- Shingai, R. and Christensen, B. N. (1986), Excitable properties and voltage-sensitive ion conductances of horizontal cells isolated from catfish (*Ictalurus punctatus*) retina, *J. Neurophysiol.*, **56**: 32–49.
- Shinozaki, H. and Konishi, S. (1970), Actions of several anthelmintics and insecticides on rat cortical neurones, *Brain Res.*, **24**: 368–371.
- Simons, T. J. (1988), Calcium and neuronal function, *Neurosurg. Rev.*, **11**: 119–129.
- Soetan, K. O., Olaiya, C. O. and Oyewole, O. E. (2010), The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review, *Afr. J. Food Sci.*, **4**: 200–222.
- Solessio, E. and Lasater, E. M. (2002), Calcium-induced calcium release and calcium buffering in retinal horizontal cells, *Vis. Neurosci.*, **19**: 713–725.
- Stell, W. K. (1967), The structure and relationships of horizontal cells and photoreceptor-bipolar synaptic complexes in goldfish retina. *Am. J. Anat.*, **121**: 401–432.
- Stell, W. K. (1975), Horizontal cell axons and axon terminals in goldfish retina, *J. Comp. Neurol.*, **159**: 503–519.
- Stell, W. K. and Lightfoot, D. O. (1975), Color-specific interconnections of cones and horizontal cells in the retina of the goldfish, *J. Comp. Neurol.*, **159**: 473–502.
- Stell, W. K., Lightfoot, D. O., Wheeler, T. G. and Leeper, H. F. (1975), Functional polarization of cone horizontal cell dendrites and synapses, *Science*, **190**: 989–990.
- Sullivan, J. M. and Lasater, E. M. (1992), Sustained and transient calcium currents in horizontal cells of the white bass retina, *J. Gen. Physiol.*, **99**: 85–107.
- Sun, Z., Zhang, D. Q. and McMahon, D. G. (2009), Zinc modulation of hemi-gap-junction channel currents in retinal horizontal cells, *J. Neurophysiol.*, **101**: 1774–1780.
- Sun, Y., Jiang, X. D., Liu, X., Gong, H. Q. and Liang, P. J. (2010), Synaptic contribution of Ca^{2+} -permeable and Ca^{2+} -impermeable AMPA receptors on isolated carp retinal horizontal cells and their modulation by Zn^{2+} , *Brain Res.*, **1317**: 60–68.
- Sun, Z., Risner, M. L., van Asselt, J. B., Zhang, D. Q., Kamermans, M. and McMahon, D. G. (2012), Physiological and molecular characterization of connexin hemichannels in zebrafish retinal horizontal cells, *J. Neurophysiol.*, **107**: 2624–2632.
- Svaetichin, G. (1953), The cone action potential, *Acta Physiol. Scand.*, **29** (Suppl. 106): 565–600.
- Svaetichin, G. (1956), Spectral response curves from single cones, *Acta Physiol. Scand.*, **39** (Suppl. 134): 17–46.
- Tachibana, M. (1981), Membrane properties of solitary horizontal cells isolated from goldfish retina, *J. Physiol.*, **321**: 141–161.
- Tachibana, M. (1983), Permeability changes induced by L-glutamate in solitary retinal horizontal cells isolated from *Carassius auratus*, *J. Physiol.*, **358**: 153–167.
- Takahashi, K.-I. and Copenhagen, D. R. (1992), APB suppresses synaptic input to retinal horizontal cells in

- fish: A direct action on horizontal cells modulated by intracellular pH, *J. Neurophysiol.*, **67**: 1633–1642.
- Takahashi, K.-I. and Murakami, M. (1988), Subtype of excitatory amino acid receptor in cone horizontal cells of the carp retina as specified by reversal potential measurement technique, *Neurosci. Res.*, **5**: 453–464.
- Takahashi, K.-I., Dixon, D. B. and Copenhagen, D. R. (1993), Modulation of a sustained calcium current by intracellular pH in horizontal cells of fish retina, *J. Gen. Physiol.*, **101**: 695–714.
- Taylor, W. R., He, S., Levick, W. R. and Vaney, D. I. (2000), Dendritic computation of direction selectivity by retinal ganglion cells, *Science*, **289**: 2347–2350.
- Teranishi, T., Negishi, K. and Kato, S. (1983), Dopamine modulates S-potential amplitude and dye-coupling between external horizontal cells in carp retina, *Nature*, **301**: 243–246.
- Thoreson, W. B., Rabl, K., Townes-Anderson, E. and Heidelberger, R. (2004), A highly Ca^{2+} -sensitive pool of vesicles contributes to linearity at the rod photoreceptor ribbon synapse, *Neuron*, **42**: 595–605.
- Tomita, T. (1963), Electrical activity in the vertebrate retina, *J. Opt. Soc. Amer.*, **53**: 49–57.
- Tomita, T. (1964), Mechanisms subserving color coding in the vertebrate retina, Abstr. II, C III.1, pp105–110, IOPAB (International Organization for Pure and Applied Biophysics), International Biophysics Meeting Paris-Orsay.
- Tomita, T. (1965), Electrophysiological study of the mechanisms subserving color coding in the fish retina, *Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol.*, **30**: 559–566.
- Tomita, T., Tosaka, T., Watanabe, K. and Sato, Y. (1958), The fish in ERG response to different types of illumination, *Jpn. J. Physiol.*, **8**: 41–50.
- Townes-Anderson, E., MacLeish, P. R. and Raviola, E. (1985), Rod cells dissociated from mature salamander retina: ultrastructure and uptake of horseradish peroxidase, *J. Cell Biol.*, **100**: 175–188.
- Toyoda, J.-I. and Tonosaki, K. (1978), Effect of polarization of horizontal cells on the on-centre bipolar cell of carp retina, *Nature*, **276**: 399–400.
- Verweij, J., Kamermans, M. and Spekreijse, H. (1996), Horizontal cells feedback to cones by shifting the cone calcium-current activation range, *Vision Res.*, **36**: 3943–3953.
- Wahlestedt, C., Golanov, E., Yamamoto, S., Yee, F., Ericson, H., Yoo, H., Inturrisi, C. E. and Reis, D. J. (1993), Antisense oligodeoxynucleotides to NMDA-R1 receptor channel protect cortical neurons from excitotoxicity and reduce focal ischaemic infarctions, *Nature*, **363**: 260–263.
- Wang, X. L., Jiang, X. D. and Liang, P. J. (2008), Intracellular calcium concentration changes initiated by N-methyl-D-aspartic acid receptors in retinal horizontal cells, *Neuroreport*, **19**: 675–678.
- Weiler, R. and Wagner, H.-J. (1984), Light-dependent change of cone-horizontal cell interactions in carp retina, *Brain Res.*, **298**: 1–9.
- Werblin, F. S. and Dowling, J. E. (1969), Organization of the retina of the mudpuppy, *Necturus Maculosus*: II Intracellular recording, *J. Neurophysiol.*, **32**: 339–355.
- Wetzel, R. K., Arystarkhova, E. and Sweadner, K. J. (1999), Cellular and subcellular specification of Na, K-ATPase alpha and beta isoforms in the postnatal development of mouse retina, *J. Neurosci.*, **19**: 9878–9889.
- Wu, S. M. and Dowling, J. E. (1980), Effects of GABA and glycine on the distal cells of the cyprinid retina, *Brain Res.*, **199**: 401–414.
- Yamada, E. and Ishikawa, T. (1965), The fine structure of the horizontal cells in some vertebrate retinae, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **30**: 383–392.
- Yang, X.-L. and Wu, S. M. (1989), Effects of CNQX, APB, PDA and kynurenate on horizontal cells of the tiger salamander retina, *Vis. Neurosci.*, **3**: 207–212.
- Yasui, S. (1987), Ca and Na homeostasis in horizontal cells of the cyprinid fish retina: Evidence for Na-Ca exchanger and Na-K pump, *Neurosci. Res.*, **Suppl 6**: S133–S146.
- Yasui, S., Yamada, M. and Djamgoz, M. B. A. (1990), Dopamine and 2-amino-4-phosphonobutyrate differentially modify spectral responses of H1 horizontal cells in carp retina, *Exp. Brain Res.*, **83**: 79–84.
- Yau, K.-W. and Nakatani, K. (1985), Light-suppressible, cGMP-sensitive conductance in the plasma membrane of an isolated, dialyzed rod outer segment, *Nature*, **317**: 252–255.
- Yazulla, S. and Studholme, K. M. (1987), Ultracytochemical distribution of ouabain-sensitive K^{+} -dependent,

- p-nitrophenylphosphatase in the synaptic layers of goldfish retina, *J. Comp. Neurol.*, **261**: 74–84.
- Zhang, D. Q. and McMahon, D. G. (2000), Direct gating by retinoic acid of retinal electrical synapses, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **97**: 14754–14759.
- Zoidl, G., Bruzzone, R., Weickert, S., Kremer, M., Zoidl, C., Mitropoulou, G., Srinivas, M., Spray, D. C. and Dermietzel, R. (2004), Molecular cloning and functional expression of zfCx52.6: A novel connexin with hemichannel-forming properties expressed in horizontal cells of the zebrafish retina, *J. Biol. Chem.*, **279**: 2913–2921.
- Zoroddu, M. A., Aashet, J., Crisponi, G., Medici, S., Peana, M. and Nurchi, V. M. (2019), The essential metals for humans: a brief overview, *J. Inorg. Biochem.*, **195**: 120–129.

【注】

- モル濃度とは、溶質の物質量を溶液の体積（容積）で割った値を指す。1 mol/l（1 M と表記することが多い。）とは、1 l 中に原子あるいは分子などがアボガドロ定数（ 6.02×10^{23} 個）存在すること意味する。つまり、mol/l とは 1 l 中の原子や分子などの個数である。従って、一つの原子や分子などの重量が測定できれば、1 l 中の原子や分子の重量を知ることが可能である。mM は M の $\frac{1}{1,000}$ であり、1 l 中の個数は 6.02×10^{-20} を意味している。一方、nM は M の $\frac{1}{1,000,000,000}$ であり、1 l 中の個数は 6.02×10^{-14} を意味している。例えば、細胞外の Ca^{2+} 濃度が約 2 mM そして細胞内の Ca^{2+} 濃度が約 200 nM であれば、細胞内外の Ca^{2+} 濃度差は10,000倍となる。
- 脳において、L-グルタミン酸は神経細胞が放出する興奮性神経伝達物質の代表であり、記憶・学習などの高次機能に関与していることは周知である。一方で、細胞外の過剰なグルタミン酸は毒性を持つことが知られている（例えば、Lucas & Newhouse, 1957; Shinozaki & Konishi, 1970; Olney, 1986; Choi, 1988; Meldrum, 2000）。この毒性を興奮毒性という。興奮毒性による神経細胞死は、脳虚血、てんかんや脳外傷に限らず、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症やハンチントン病などの細胞死にも関与していると考えられている（例えば、Olney, 1990; Meldrum, 2000; Lewerenz & Maher, 2015）。現在、興奮毒性による神経細胞死に、グルタミン酸レセプターの過剰な活性化や、シスチン/グルタミン酸トランスポーター（L-グルタミン酸と細胞外に排出し、シスチンを細胞内に取り込む交換輸送体である。細胞内でシスチンはシステインに変換され、グルタチオン合成やタンパク合成に利用される。）の抑制などの関与が報じられている（例えば、Murphy *et al.*, 1989; Olney, 1990; Wahlestedt *et al.*, 1993; Kritis *et al.*, 2015）。グルタミン酸レセプターによる興奮毒性の過程で注目されているのが、細胞内 Ca^{2+} である（例えば、Mark *et al.*, 2001; Kritis *et al.*, 2015）。イオンチャネル型グルタミン酸レセプターの一つである NMDA 型および Ca^{2+} 透過型 AMPA 型レセプターの活性化に伴う細胞内への Ca^{2+} 流入や代謝型グルタミン酸レセプターによる IP_3 合成を介する小胞体から細胞内への Ca^{2+} 放出が考えられている（例えば、Meldrum & Garthwaite, 1990; Rousseaux, 2008; Kritis *et al.*, 2015）。細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇から経細胞死に至る経路は単一ではなく、多くのメカニズムが絡んでいる（例えば、Meldrum & Garthwaite, 1990; Rousseaux, 2008）。例えば、細胞内 Ca^{2+} はカルパインなどのタンパク質分解酵素、ホスホリパーゼ C、ホスホリパーゼ A2 などの脂質分解酵素、あるいはエンドヌクレアーゼなどの核酸分解酵素を活性化し、細胞骨格や膜脂質、核酸を破壊し、細胞死に直接的に関与する可能性がある（例えば、Mark *et al.*, 2001）。また、一酸化窒素合成酵素の活性化やアラキドン酸の遊離により細胞毒性の高いフリーラジカルの生成増加が起これ、細胞死が導かれる可能性も考えられる（例えば、Mark *et al.*, 2001; Kawasaki *et al.*, 2002; Kritis *et al.*, 2015）。さらに、プロテインキナーゼ C などのタンパク質リン酸化酵素についても、その過剰な活性化が死につながることも示唆されている（例えば、Prentice *et al.*, 2015）。
- 真核生物の細胞内には小胞体、ゴルジ体やミトコンドリアなどの細胞小器官が存在する。小胞体（Endoplasmic reticulum）は粗面小胞体と滑面小胞体の2タイプに分類され、粗面小胞体はタンパク質合成、そして滑面小胞体はコレステロールの合成と分解、脂質代謝、薬物の解毒や Ca^{2+} 貯蔵の役割を果たしている。ミトコンドリアは小胞体やゴルジ体と異なり、二重膜構造を呈する。内膜はミトコンドリア内にヒダ

状に突出し、クリステを構成する。ミトコンドリアには外膜と内膜の間の膜間腔と内膜に囲まれた基質（マトリックスとも呼ばれている。）の2つの空間がある。ミトコンドリアの基質ではクエン酸回路そして内膜には電子伝達系が存在し、細胞活動に必要なエネルギーであるATPを産生している。ミトコンドリアの基質にはミトコンドリアDNAとリボソームが含まれ、これらを使って自立的に分裂して数を増やすことができる。近年、小胞体とミトコンドリアがCa²⁺貯蔵と放出に与っていることが明らかにされた（例えば、Berridge, 1993; Pozzan *et al.*, 1994; Clapham, 1995）。

- 4) 細胞内でシグナル伝達系を形成するセカンドメッセンジャーの中に、Ca²⁺の結合によって機能が調節されるタンパク質が存在する。Ca²⁺はこれらの分子のEFハンドモチーフやC2ドメインと呼ばれる構造に結合する。脊椎動物ではカルモジュリンやトロポニンC、カルバイン、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などのCa²⁺結合タンパク質が存在し、細胞の機能調節に関与している。例えば、カルモジュリンのEFハンドモチーフはEヘリックスとFヘリックスと呼ばれる2つのαヘリックス構造とそれらをつなぐループ部分によって構成され、Ca²⁺はこのループ部分に結合する。
- 5) 小胞体はCa²⁺を貯蔵する役割を有しており、小胞体膜上にはカルシウムチャネルとして機能するリアノジンレセプターが存在する。例えば、骨格筋を構成する筋線維（筋肉細胞）内にある筋小胞体にはリアノジンレセプターが細胞外でCa²⁺検出器として働くジヒドロピリジンレセプター（ジヒドロピリレセプターはL型カルシウムチャネルと同一タンパク質であり、レセプターが活性化すると細胞内にCa²⁺が流入する。）と共役し、このレセプターの活性化で細胞内のCa²⁺濃度が上昇する。このCa²⁺はリアノジンレセプターに結合すると、細胞内Ca²⁺濃度に依存的して小胞体内からCa²⁺を細胞内に放出する。このしくみは、Ca²⁺誘発性Ca²⁺放出と呼ばれている。小胞体にはリアノジンレセプター以外に、カルシウムチャネルとして機能するイノシトール三リン酸（IP₃）レセプターが存在する。IP₃はGタンパク質共役型レセプターなどを介して産生され、小胞体膜上に存在するIP₃レセプターに結合することによって小胞体から細胞内にCa²⁺放出が始まる。
- 6) Ca²⁺緩衝能とは、細胞内のCa²⁺がCa²⁺結合タンパク質によって緩衝される濃度と遊離の状態で存在するCa²⁺の濃度の比を指す。細胞内でタンパク質と結合するCa²⁺および遊離のCa²⁺を測定することは難しく、正確なCa²⁺緩衝能を求めることは容易でない。例えば、Ca²⁺緩衝能が50のとき、細胞内に70のCa²⁺が流入すれば、20が遊離Ca²⁺であることを意味している。従って、Ca²⁺緩衝能が高いほど、細胞内でCa²⁺は遊離で存在し難い。
- 7) 神経伝達物質やホルモンは細胞表面に発現するレセプターに結合し、細胞内セカンドメッセンジャー（Ca²⁺、Cyclic adenosine monophosphate [cAMP]、Cyclic guanosine monophosphate [cGMP]、イノシトール三リン酸 [IP₃]、ジアシルグリセロール、やー酸化窒素）の活性化を介して細胞に各種の反応を惹起する。中でも細胞内Ca²⁺濃度の上昇に伴うプロテインキナーゼ（タンパク質リン酸化酵素）の活性化は、脳内で重要な機能を果たしている。特に重要な経路として、Ca²⁺/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼII（CaMKII）の活性化がある。神経細胞にCaMKIIが豊富に存在し、神経伝達物質合成酵素やシナプス小胞結合タンパク質、イオンチャネル、シナプスレセプターなどをリン酸化することにより、これらの機能を調節することが知られている。そして、シナプス伝達の可塑性、学習・記憶などの高次脳機能に重要な役割を演ずると考えられている。
- 8) Hagins (1972) および Hagins & Yoshikami (1974) はラット (*Rattus norvegicus*) 網膜桿体を用いた実験に基づき、桿体外節膜に発現する陽イオンチャネル（当時、ナトリウムチャネルと考えられていた。）を外節内に存在するCa²⁺が閉塞するという仮説（Ca²⁺仮説）を提唱した。暗時、外節にある円盤内にCa²⁺は収納されているため、外節内（細胞内）のCa²⁺濃度は低く保たれ、結果として陽イオンチャネルが開口し視細胞は脱分極している。明時、円盤内に蓄えられていたCa²⁺は外節内（細胞内）に放出されるため、陽イオンチャネルが閉塞し過分極する。Brown *et al.* (1977) はオオヒキガエル (*Bufo marinus*) 網膜桿体内へのCa²⁺注入が桿体を過分極させることを見出し、Ca²⁺仮説の妥当性を強調した。一方、Miller & Nicol (1979) はBrown *et al.* (1977) と同じオオヒキガエル網膜を実験に用い、桿体へのcGMP注入が桿体を脱分極させることを見出した。これをきっかけに、Ca²⁺仮説とcGMP仮説を唱える研究グループはしのぎを削ることとなった。この論争に終止符を打ったのは、Fesenko *et al.* (1986) による研究であった。ヨーロッパアカガエル (*Rana temporaria*) 網膜桿体を単離し、この桿体外節膜の一部をパッチ電極により剥がし取り、外節膜内面を露出させた。この標本にcGMPを投与すると、外節膜片を通じて電流が流れるのを観察した。勿論、cGMPを除去すると、電流変化は生じなかった。その後、cGMPによって開口する陽イオンチャネルと光照射によって開口する陽イオンチャネルが同一であることが証明された

(Yau & Nakatani, 1985; Nakatani & Yau, 1988)。これらの実験は、視細胞外節内にある cGMP の増減が外節膜に発現する陽イオンチャネルの開閉を引き起こしていることを示していた。

【補 助 説 明】

第 1 図 B と第 3 図の実験

【実験材料と方法】

単離水平細胞の作製

数時間以上暗順応した体長約 40~50 cm のアメリカナマズ (*Ictalurus punctatus*) を低温麻酔し、断頭そして脳と脊髄の両側穿刺終了後、両眼球を摘出した。雑菌の混入を防ぐため、操作はクリーンベンチ (滅菌箱) 内で行った。70% エタノールに 20 秒間浸した摘出眼球を、pH 7.6 に調整した単離操作液 (125.0 mM 塩化ナトリウム [NaCl], 1.0 mM リン酸ナトリウム [Na_2HPO_4], 2.6 mM 塩化カリウム [KCl], 2.5 mM 塩化カルシウム [CaCl_2], 0.5 mM 塩化マグネシウム [MgCl_2], 0.5 mM 硫酸マグネシウム [MgSO_4], 10.0 mM ブドウ糖 [Glucose], 10.0 mM *N*-2-Hydroxyethylpiperazine-*N'*-2-ethanesulfonic acid [HEPES], 0.01 mg/ml ウシ血清アルブミン [BSA]) で数回洗浄し、前眼部、水晶体および硝子体を除去後、剥離網膜を作製した。剥離網膜を 2 mm 幅に切断し、これらを pH 7.0 に調整した Papain 溶液 (30 U/ml Papain [タンパク質分解酵素], 125.0 mM NaCl, 1.0 mM Na_2HPO_4 , 2.6 mM KCl, 10.0 mM Glucose, 1.0 mM ビルビン酸ナトリウム, 5.0 mM L-システイン, 5.0 mM Ethylene glycol-bis (β -aminomethyl ether) N, N, N', N'-tetraacetic acid [EGTA], 10.0 mM HEPES, 0.1 mg/ml BSA) に移し、28°C で 40 分間振盪した (網膜の酵素処理)。その後、1.5 ml の単離操作液を加えたプラスチック製遠心管 (容量 15 ml; Becton Dickinson) に網膜片を移し、先端口径を約 1.0 mm にファイアポリッシュしたパストゥールピペット (Becton Dickinson) を用いて網膜片を 7 回ピペッティングした (網膜の機械処理)。比較的大きな網膜片が沈殿するのを待ち、1 ml の細胞懸濁液を容量 6 ml のガラス製試験管 (Fisher Scientific Co.) に移し、4°C で保存した。さらに、網膜片が存在する遠心管に単離操作液を 1.0 ml 補充し、パストゥールピペットによるピペッティングを 7 回行い、細胞懸濁液を試験管に移し、4°C で保存した。この操作を、網膜片がなくなるまで繰り返した。結果として、16~20 本の細胞懸濁液を含む試験管を得ることができた。それぞれの試験管から 20 μl の細胞懸濁液を採取し、スライドガラスに置き顕微鏡観察した。15 以上の単離水平細胞を含む試験管を残し、実験に使用した。アメリカナマズ網膜の水平細胞には錐体由来と桿体由来の 2 タイプが認められ、両者はその大きさや形態学的特徴により容易に区別できる (Naka & Carraway, 1975; Sakai & Naka, 1988)。単離操作後、細胞懸濁液に存在する水平細胞は殆どが錐体由来であり、桿体由来は少なかった。

1 N-塩酸 (HCl) ならびに 100% エタノールで洗浄した直径 15 mm の円形カバーガラス (Matsunami Glass Ind., Ltd) を直径 60 mm の滅菌プラスチックシャーレ (Becton Dickinson) の中に 6 枚並べ、それぞれに pH 7.6 に調整した培養液 (浸透圧調整のため 70% に希釈した L-15 に、29.17 mM NaCl, 1.62 mM CaCl_2 , 10.0 mM Glucose, 10.0 mM HEPES, 0.01 mg/ml BSA を加えて作製した。) を 100 μl 置き、この中に 50 μl の細胞懸濁液を加えた。カバーガラスに細胞が接着するまでに約 12 時間を要した。接着完了後、このプラスチックシャーレの中に 7 ml の培養液を加え、14°C の低温培養器に静置した。カバーガラスへの細胞接着を確実にするため、多くの培養では Concanavalin A (Con A) を塗布したカバーガラスを利用した (0.1 mg/ml の Con A をカバーガラスに薄く塗り、これを紫外線ランプ [滅菌用ランプ] の下で乾燥させて使用した)。単離水平細胞を長期間培養するとき、3 日毎にクリーンベンチ内で培養液の交換を行った。

単離後 12 時間以内に水平細胞を用いるとき、Con A を塗布したカバーガラスを使用した。単離水平細胞の形態は細胞懸濁液をスライドガラスに置き、顕微鏡 (Optiphot XF-NT, Nikon) 観察した。写真撮影は顕微鏡に装着した撮影装置 (H-III, Nikon) にテクニカルパンフィルム (Kodak) を装填して実施した。この顕微鏡写真のデジタル化には、フィルムスキャナー (FS-1300WINS, Epson) を用いた。

単離水平細胞の膜電流記録および膜電位記録

実験には、2 日以上培養した錐体水平細胞を用いた。錐体水平細胞が生存するカバーガラスを倒立顕微鏡 (model IM-35, Carl Zeiss, Inc.) に装着した記録槽内に置き、細胞から 200~400 μm 離れた位置に先端直径 150 μm の Y-tube を設置しリンガー液を灌流した。

アメリカナマズの正常リンガー液の組成は、125.0 mM NaCl, 2.6 mM KCl, 2.5 mM CaCl_2 , 1.0 mM MgCl_2 , 15.0 mM Glucose と 10.0 mM HEPES であった。L 型カルシウム電流観察を容易にするため、修飾

リンガー液 (105.0 mM NaCl, 2.6 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1.0 mM MgCl₂, 20 mM Tetraammonium-Cl [TEA-Cl], 15.0 mM Glucose と 10.0 mM HEPES) を灌流し, 遅延整流性カリウム電流を阻害した。両リンガー液には 0.1 mg/ml BSA を加え, 1 N-NaOH を用いて pH 7.8 に調整し灌流した。パッチ電極内液の組成は 140.0 mM グルコン酸カリウム (K-gluconate), 4.0 mM NaCl, 2.0 mM MgCl₂, 10.0 mM EGTA, 1.0 mM Adenosine 5'-Triphosphate (ATP), 0.1 mM Guanosine 5'-Triphosphate (GTP) と 10 mM HEPES であった。パッチ電極内液の pH は 7.4 であった。

Whole-cell voltage-clamp 法を適用し, 水平細胞を膜電位固定し膜電流記録を行った (Hamil *et al.*, 1981)。パッチ電極は Brown-Flaming 型微小電極製作器 (P87, Sutter Instrument Co.) を使って, 直径 1.5 mm のホウケイ酸ガラス管 (SF2714 R, Garner Glass) から作製した。電極抵抗は 5~10 M Ω であった。単離水平細胞にパッチ電極を近づけ (第 3 図左上④), ギガ Ω シール達成後, パッチ電極内圧を下げて電極内の細胞膜を破碎し, 膜電流を導出した。その後, 灌流液を正常リンガー液から修飾リンガー液に変更し, 単離水平細胞にパッチ電極を通じて鋸波状の膜電位変化 (-124~+46 mV, 1秒) を与え, 惹起される膜電流変化 (電流-電圧関係) を観察した。水平細胞に発生する膜電流変化は, Whole-cell voltage-clamp 用増幅器 (Axopatch-1D, Axon Instrument) を使い, 2 KHz (4 次パッシェルフィルター) のフィルターを介してオシロスコープ (465, Textronix) で観察した。同時に, この変化は 10 KHz でデジタル化 (Labmaster DMA, Scientific Solution) し, コンピューターに取り込んだ。必要に応じて, 膜電流記録を再生し, 解析した。

アメリカナマズ網膜から単離した水平細胞の膜電位変化 (カルシウム依存性活動電位 [第 3 図右下⑥]) を細胞内誘導導出するため, ガラス管微小電極法を用いた。ガラス管微小電極は Brown-Flaming 型電極製作機 (P88, Sutter Instruments Co.) を使って, 約 1 mm のホウケイ酸ガラス管 (芯入りガラス管) (1B120F-4, World Precision Instruments) から作製した。電極内には 4 M 酢酸カリウム (CH₃COOK) を充填して用いた。電極抵抗は 200~300 M Ω であった。水平細胞に発生する膜電位変化は前置増幅器 (model 1090, Winston Electronics) を経て, オシロスコープ (465, Textronix) で観察し, FM テープレコーダー (4 DS, Racal Recorders, Inc.) に保存した。必要に応じて, ペンレコーダー (Brush 220, Gould) に記録した。

水平細胞の単離ならびにこれを利用した生理実験で使用した薬品は, Nacalai Tesque Inc., Kanto Chemical Co., Katayama Chemical Co., および Sigma Chemical Co. から購入した。Papain は Worthington Biochemical Co. および L-15 と Medium 199 は Gibco から購入した。