

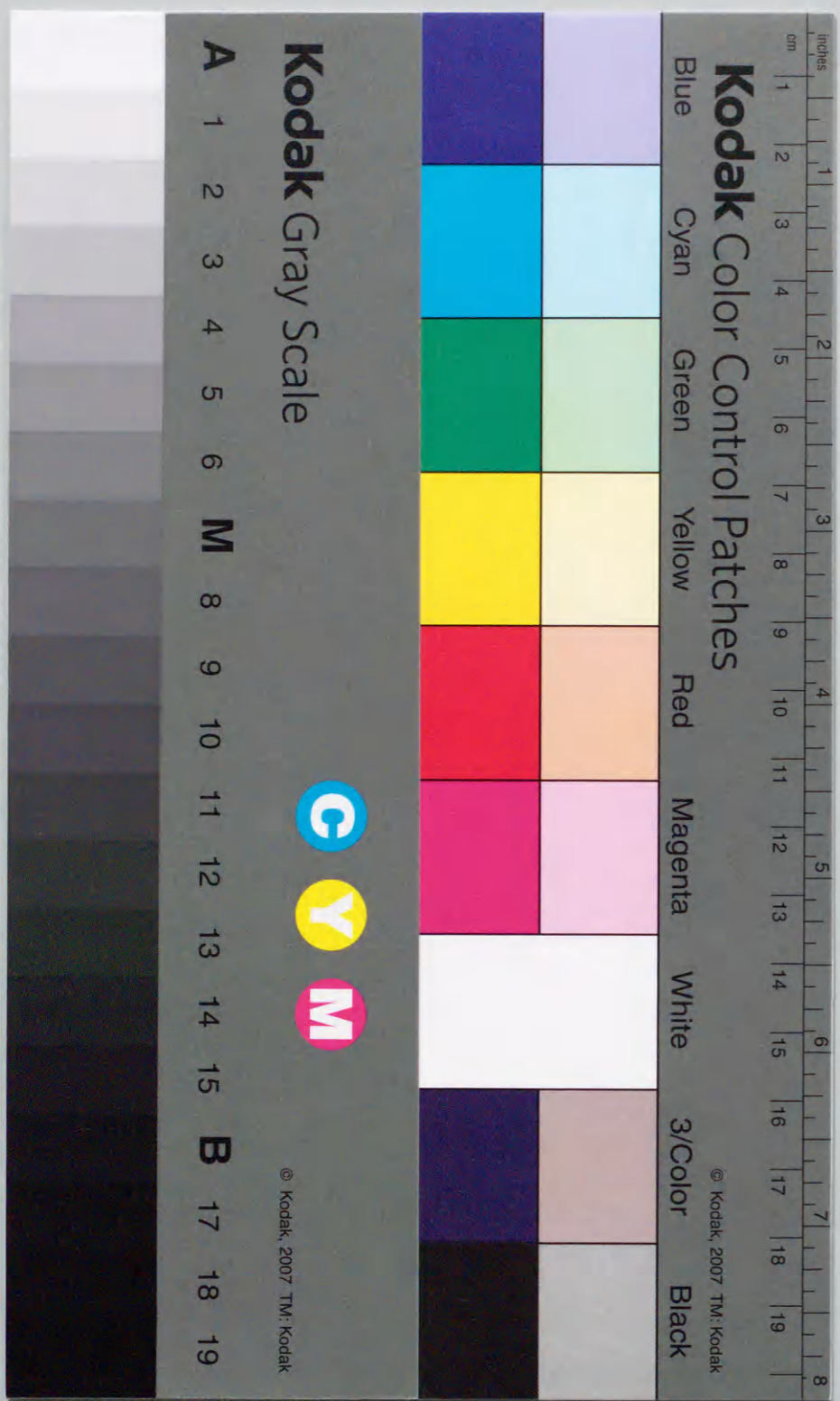
網膜双極細胞の情報伝達特性
に関する生理工学的研究

2000年1月

博士(工学)

石原 彰人

豊橋技術科学大学



①

網膜双極細胞の情報伝達特性に関する
生理工学的研究

2000年1月

博士(工学)

石原 彰人

豊橋技術科学大学

Physiological Engineering Study on Property of
Signal Transmission in the Retinal Bipolar Cells

JANUARY, 2000

DOCTOR OF ENGINEERING

Akito Ishihara

TOYOHASHI UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

網膜双極細胞の情報伝達特性に関する生理工学的研究

論文要旨

網膜は単に光を受容して視覚中枢へと伝達するのみでなく光情報に対して様々な処理を行う神経回路網である。特に視細胞、水平細胞、双極細胞で構成される網膜外網状層では空間のエッジ・コントラスト検出や、反対色信号の生成など空間や色に対する基本的な処理が行われていると考えられている。外網状層で処理された信号は双極細胞より高次ニューロンへと伝達していくことから、双極細胞は外網状層の出力を司る重要な細胞であると位置付けられる。網膜外網状層に関する知見の多くは、生理実験に代表される分析的手法により得られているものである。こうした分析的手法によって、細胞の持つ個々のイオン機構の詳細な特性は明らかにされているが、一方で、これら要素レベルの特性がその細胞あるいは神経回路として組み込まれた状態での機能については、従来の分析的手法のみで解明することは困難である。近年、網膜に限らず神経細胞あるいは神経回路網の振舞いを理解するために、細胞個々の持つ電気的特性について、生理実験データを基に数理モデルを構築し、計算機シミュレーションによりそれらの機能的意義を明らかにする手法が注目されつつある。網膜外網状層を構成する細胞に関しても視細胞、水平細胞について、その細胞の持つイオン電流機構に基づいた数理モデルが構築されている。これらの細胞モデルを用いて外網状層あるいは双極細胞での光情報処理機構をシミュレーション解析するためには、電気生理的な知見を基に双極細胞の数理モデルを構築することが不可欠と考える。

双極細胞は、形態的、機能的に樹状突起、細胞体、シナプス終末の部位に分割できる。特に、大きなシナプス終末を有する ON 型杆体双極細胞はこの違いが明確になっており、シナプス終末にのみ細胞内 Ca^{2+} 濃度に依存したイオン電流が存在することが報告されている。このような細胞内で不均一なチャンネルの分布特性から、細胞自身が決して一様な電気的膜特性を有していないことが予想され、通常、細胞体から記録される光応答特性にも影響を及ぼすことが考えられる。こうした影響を明確にすることは、今後、光応答波形の解析などによって網膜の情報処理機能を理解していく上で重要である。

本論文では、視細胞から伝達されてきた光情報に対する双極細胞自身の膜特性の修飾作用をイオン電流レベルで明確にするため、イオン電流レベルでの網膜双極細胞の数理モデルを構築した。最も基本である双極細胞の細胞体、さらに細胞内 Ca^{2+} 濃度に依存した機構が集中しているシナプス終末の両者について順に数理モデルを構築した。これらのモデルは、パラレルコンダクタンスモデルであり、膜電位や時間に依存した各イオン電流を Hodgkin-Huxley 型方程式などにより記述したものである。またイオン電流の中には細胞内 Ca^{2+} 濃度に依存する電流があるため、細胞内濃度分布を考慮したモデルを導入し細胞内カルシウム機構をモデル化した。モデルの各パラメータは膜電位固定実験結果より推定した。各モデルは、膜電流固定シミュレーションや、自発性スパイク現象によりその妥当性を検証し、これらのモデルが細胞体、シナプス終末の持つ電気的膜特性を再現できることを示した。最後に、これら細胞体、シナプス終末部位の数理モデルを統合し、ON 型杆体双極細胞での細胞体-シナプス終末間の伝達特性について解析した。その結果、双極細胞は双方向に情報が伝達し易い電気的膜特性を有していることを示した。さらに、各イオン電流成分が光応答波形に及ぼす影響について、計算機シミュレーションにより解析し、光応答が、シナプス終末のカルシウム依存性イオン電流によって強く修飾されることを示唆した。

本研究で提案した双極細胞の数理モデルは、双極細胞の細胞内での各イオン電流による視覚情報に対す

る修飾作用を明確するだけでなく、外網状層ネットワークモデルに基づくアプローチを可能とするものである。このことは、細胞の特性であるイオン電流、細胞内情報伝達機構といった非線形な特性を考慮し、時間特性まで含めた動的な解析が可能になったことを意味するものである。

Physiological engineering study on property of signal transmission in the retinal bipolar cells

Abstract

The retina is a neural circuit which is responsible for not only receiving light signal and transmitting it to the visual system in brain, but also pre-processing visual information within the system. Especially, the outer plexiform layer (OPL) consisting of photoreceptors, horizontal cells and bipolar cells, is considered as a fundamental neural circuit for spatial and color information processings. Since the signal processed by the OPL is transmitted from bipolar cells to higher order neurons, bipolar cells are important neurons for integrating the visual signals in the OPL. OPL has been studied using experimental methods such as physiological experiments. Properties of ionic mechanisms were elucidated from the studies. However, it is difficult to understand how these ionic currents participate in the visual information processing by traditional methods. Recently, functional roles of neurons and neural circuits which are not restricted to retina have been analyzed by means of computer simulation using quantitative model based on physiological evidence. In the retinal neurons, the mathematical models of photoreceptors, horizontal cells based on their ionic current mechanisms have been developed. To analyze light responses of bipolar cell or OPL using those models, a mathematical model of bipolar cell have to be constructed.

The bipolar cell is divided structurally and functionally into three compartments; dendrite, soma and synaptic terminal. Calcium channels to rod-dominant ON-center bipolar cell are restricted in their synaptic terminal. As spatial distribution of ionic channels is not uniform in bipolar cell, it is assumed that the bipolar cell is not electrically uniform. This distribution effects the light response usually recorded from soma of the bipolar cell.

This thesis attempt to clarify how ionic currents of bipolar cell affect on light signal which is transmitted from photoreceptor. A mathematical model of bipolar cells based on ionic current mechanisms is proposed. Models of soma and synaptic terminals restricted to calcium dependent mechanisms are constructed. The parallel conductance model which include ionic currents described by Hodgkin-Huxley type equations is proposed. Intracellular calcium mechanism is also modeled, because there are calcium dependent currents in both of soma and synaptic terminal. Parameters of the models are estimated from experimental results under voltage clamp condition. The models are evaluated by simulations under current clamp condition and simulations generating the spontaneous calcium action potentials in the synaptic terminal. It is shown that the models well reproduce complex membrane property of soma and synaptic terminal of bipolar cell. Finally, a model of rod-dominant ON-center bipolar cell is constructed by integrating the models of soma and synaptic terminal. Using this model, transmission between soma and synaptic terminal is analyzed. As a results, if a voltage was changed in synaptic terminal, the potential that appears in soma nearly equals to that of in the synaptic terminal. We analyzed light responses of the bipolar cell using a network model which consisted of rod photoreceptor and the bipolar cell models. The results suggest that dynamics of the light responses are strongly affected by calcium

dependent current of synaptic terminal.

In conclusion, the present model not only provides a better understanding of functional role of ionic currents in bipolar cells, but also enables us to analyze visual information processing of the OPL using a network model of the OPL.

目次

1 序論	1
1.1 研究の背景と目的	1
1.2 本論文の構成	2
2 網膜双極細胞の構造と機能	4
2.1 網膜の構造と光応答	4
2.2 網膜外網状層	7
2.3 双極細胞の電気的特性	10
2.3.1 双極細胞の分類	10
2.3.2 双極細胞のイオン機構	10
2.3.3 樹状突起	13
2.3.4 細胞体	15
2.3.5 シナプス終末	18
3 神経細胞のモデル化	22
3.1 神経細胞の等価回路表現	22
3.2 各イオン電流のモデル化	24
3.2.1 Hodgkin-Huxley 型モデル	24
3.2.2 細胞内 Ca^{2+} 濃度	28
3.3 膜電流固定実験とモデルの評価	29
3.3.1 膜容量の推定	29
3.3.2 膜電流固定実験	29
4 双極細胞細胞体のイオン電流モデル	30
4.1 双極細胞細胞体のイオン電流	30
4.2 各イオン電流のモデル化	31
4.2.1 遅延整流性カリウム電流、 I_{Kv}	31
4.2.2 一過性外向きカリウム電流、 I_A	32
4.2.3 過分極活性化型内向き電流、 I_h	33
4.2.4 カルシウム電流、 I_{Ca}	34
4.2.5 カルシウム依存性カリウム電流、 $I_{K(Ca)}$	36
4.2.6 細胞内 Ca^{2+} 濃度	37
4.2.7 漏れ電流、 I_l	38
4.2.8 容量性電流、 I_C	39
4.3 双極細胞モデルのシミュレーション	39
4.3.1 膜電位固定シミュレーション	39
4.3.2 膜電流固定シミュレーション	41

4.3.3	双極細胞のサブタイプにおける応答	42
4.4	まとめ	44
5	オン型双極細胞のシナプス終末モデル	45
5.1	双極細胞シナプス終末のイオン機構	45
5.2	オン型双極細胞シナプス終末のイオン電流モデル	46
5.2.1	カルシウム電流、 I_{Ca}	47
5.2.2	カルシウム依存性カリウム電流、 $I_{K(Ca)}$	48
5.2.3	カルシウム依存性塩素電流、 $I_{Cl(Ca)}$	49
5.2.4	Na^+ - Ca^{2+} 交換系、 I_{NC}	49
5.2.5	Ca^{2+} ポンプ、 I_{ATP}	50
5.2.6	漏れ電流、 I_l	50
5.2.7	容量性電流、 I_C	51
5.2.8	細胞内 Ca^{2+} 濃度	51
5.3	双極細胞シナプス終末モデルのシミュレーション	52
5.3.1	膜電位固定シミュレーション	52
5.3.2	双極細胞シナプス終末の自発的カルシウムスパイク	53
5.4	まとめ	56
6	オン型双極細胞内伝達特性と光応答モデル	57
6.1	オン型杆体双極細胞のコンパートメントモデル	57
6.1.1	グルタミン酸作動性電流モデル、 I_{mGlu}	58
6.1.2	軸索コンダクタンスの推定	59
6.2	細胞体-シナプス終末間の情報伝達特性	60
6.2.1	結合特性	60
6.2.2	周波数特性	62
6.3	オン型杆体双極細胞の光応答の再構成	62
6.3.1	細胞体応答に対するシナプス終末の影響	64
6.3.2	各イオン電流成分の影響	64
6.4	まとめ	65
7	結論	67
7.1	本研究の成果	67
	謝辞	70
A	双極細胞細胞体のイオン電流モデル記述	71
A.1	イオン電流モデル記述	71
A.1.1	membrane potential	71
A.1.2	Delayed rectifier potassium current	71
A.1.3	Transient outward current	72
A.1.4	Hyperpolarization activated current	72
A.1.5	Calcium current	73
A.1.6	Calcium dependent potassium current	73
A.1.7	Leakage current	74
A.1.8	Capacitance	74
A.2	カルシウム機構モデル記述	74

B	双極細胞シナプス終末のイオン電流モデル記述	76
B.1	イオン電流モデル記述	76
B.1.1	membrane potential	76
B.1.2	Calcium current	76
B.1.3	Ca-dependent potassium current	77
B.1.4	Ca-dependent chloride current	77
B.1.5	Hyperpolarization activated current	77
B.1.6	Delayed rectifier potassium current	78
B.1.7	Leakage current	79
B.1.8	Capacitance	79
B.2	細胞内カルシウム機構のモデル記述	79
B.2.1	Calcium concentration	79
B.2.2	Calcium buffer concentration	79
B.2.3	Calcium pump and exchanger	80
C	視細胞-双極細胞間の情報伝達機構のモデル化	81
C.1	視細胞-双極細胞間の情報伝達機構	81
C.1.1	視細胞シナプス終末モデル	82
C.2	双極細胞のグルタミン酸作動性電流	83
C.2.1	イオンチャネル直結型グルタミン酸作動性電流 (I_{Glu})	83
C.2.2	代謝型グルタミン酸作動性電流 (I_{mGlu})	84
D	細胞間の結合係数と膜コンダクタンス	92
D.1	膜コンダクタンスと細胞間の結合係数	92
	参考文献	95

目次

1.1 本論文の構成	3
2.1 網膜神経回路の断面模式図	5
2.2 網膜神経回路網	6
2.3 網膜外網状層の色情報処理	8
2.4 網膜外網状層の空間情報処理	9
2.5 錐体, 水平細胞, 双極細胞の色受容野構成	9
2.6 オン型双極細胞のグルタミン酸応答	14
2.7 オフ型双極細胞のグルタミン酸応答	14
2.8 キンギヨ網膜双極細胞の I_{Kv}	15
2.9 ホワイトバス双極細胞のイオン電流	16
2.10 アホートル双極細胞のイオン電流	16
2.11 トラフサンショウオ網膜双極細胞の I_{Ca}	16
2.12 キンギヨ網膜双極細胞の I_{Ca}	19
2.13 キンギヨ網膜双極細胞の $I_{K(Ca)}$	19
2.14 キンギヨ網膜双極細胞の $I_{Cl(Ca)}$	19
3.1 細胞膜の等価回路表現	23
3.2 神経細胞の等価回路モデル	24
3.3 Hodgkin-Huxley 型モデルのパラメータ推定手順	27
4.1 I_{Kv} モデルのパラメータ特性	31
4.2 I_A モデルのパラメータ特性	32
4.3 I_h モデルのパラメータ特性	33
4.4 I_{Ca} モデルのパラメータ特性	35
4.5 $I_{K(Ca)}$ モデルのパラメータ特性	36
4.6 細胞内カルシウム機構	37
4.7 単離双極細胞の等価回路モデル	39
4.8 膜電位固定実験結果	40
4.9 膜電位固定シミュレーション結果	40
4.10 イオン電流をブロックしたときの膜電位固定応答	41
4.11 単離双極細胞の膜電流固定実験結果	42
4.12 膜電流固定シミュレーション結果	43
4.13 $I_{K(Ca)}$ なしでの膜電流固定応答	43
4.14 双極細胞サブタイプの電流特性	44
5.1 双極細胞シナプス終末の等価回路	46
5.2 I_{Ca} モデルのパラメータ特性	47

5.3 $I_{K(Ca)}$ モデルのパラメータ特性	48
5.4 $I_{Cl(Ca)}$ モデルのパラメータ特性	49
5.5 細胞内カルシウム機構	50
5.6 双極細胞シナプス終末の膜電位固定シミュレーション結果	52
5.7 双極細胞シナプス終末の電流と細胞内 Ca^{2+} 濃度	53
5.8 双極細胞の自発的 Ca^{2+} 濃度上昇 [139]	54
5.9 双極細胞シナプス終末モデルの応答	54
5.10 自発的スパイク発生時の電流-電圧特性	55
6.1 オン中心型杆体双極細胞のネットワークモデル	58
6.2 細胞体で記録したときの I-V 特性	60
6.3 静止膜電位に対する細胞体とシナプス終末の結合係数の変化	61
6.4 単一周波数刺激による膜電位応答と終末の I_{Ca} 変化	63
6.5 オン型杆体双極細胞の周波数特性	63
6.6 光応答シミュレーション結果	64
6.7 双極細胞細胞体の光応答	65
C.1 視細胞-双極細胞間のシナプス伝達の概略図	82
C.2 I_{Glu} モデルのシミュレーション結果	83
C.3 代謝型レセプタの細胞内情報伝達機構	84
C.4 細胞内情報伝達機構のカスケード構造	84
C.5 I_{mGlu} モデルのシミュレーション結果	91
D.1 軸索コンダクタンス g_{AX} で接続した神経細胞の等価回路	92

表目次

2.1 双極細胞の電気的特性に関する最近の研究	11
2.2 双極細胞の形態による分類	12
2.3 双極細胞細胞体のイオン電流	18
2.4 双極細胞シナプス終末のイオン機構	21
3.1 細胞内カルシウム機構モデル	28
6.1 双極細胞の結合係数を求めるために用いたパラメータ	61
C.1 I_{mGlu} モデルのパラメーター	89

第1章

序論

1.1 研究の背景と目的

網膜は、単に受容した光情報を神経スパイク列へと符号化し視覚中枢へと伝達するのみでなく、それ自体が「脳の出先器官」と呼ばれているように、光情報に対して様々な処理を行っている。双極細胞は、その網膜を構成する細胞の中でも、光情報を受容する視細胞から情報を受けとり、網膜の出力細胞である神経節細胞へと情報を出力する細胞であり、網膜内の情報伝達経路で主経路に位置している。双極細胞やその他の網膜各細胞の光応答特性を調べた研究は、網膜が、空間のエッジ、コントラストの検出や、反対色信号の生成など、空間や色に対して基本的な処理を行っていることを示している。また構成する細胞の結合特性を調べた研究は、それらの特性が外網状層あるいは内網状層と呼ばれる部位でのシナプス結合、すなわち構成する細胞同士の結合特性によって得られていることを示唆している。一方で、細胞の単離、培養技術の発達やパッチクランプ法の確立によって、神経細胞の膜特性を詳細に調べることが可能となり、網膜の各細胞の情報処理機構に関する特性、受容体やイオンチャネル、細胞内情報伝達機構などイオン機構の特性が明らかにされつつある。細胞の情報処理活動は、これらイオン機構によって形づくられることから、こうした機構を解明することは、細胞活動を理解する上で重要なことである。しかし例えば膜電位固定法によってある細胞の個々のイオン電流の特性は明らかにされているが、それらが細胞という単位で果たす機能的意義、さらには、神経回路に組み込まれた状態で視覚情報処理機構に果たす役割を、こうした従来の分析的手法のみで解明することは困難である。近年、網膜に限らず神経細胞あるいは神経回路網の振舞いを理解するために、細胞個々の特性、イオンチャネルや受容体、細胞内情報伝達物質の特性について、生理実験データを基に数理モデルを構築し、計算機シミュレーションによりそれらの機能的意義を明らかにする手法が注目されつつある。網膜の細胞に関しても、網膜外網状層を構成する細胞のうち視細胞、水平細胞について、その細胞のイオン電流機構に基づいた数理モデルが構築されている。これらの細胞モデルを用いて外網状層あるいは双極細胞での光情報処理機構をシミュレーション解析するためには、電気生理的な知見を基に双極細胞の数理モデルを構築することが不可欠と考える。

さて、双極細胞のイオン機構にはその細胞形態の各部位で違いが見られることから、決して均一な電氣的膜特性を有していないことが予想される。特に細胞体部分のイオン機構と、内網状層に位置するシナプス終末部分のそれとは大きな違いが見られる。通常双極細胞の光応答特性は、その細胞体部分にガラス微

小電極を刺入あるいはパッチ電極を当て計測されており、実験で得られる双極細胞の光応答特性はその細胞体部における光応答特性といっても過言ではない。細胞体応答に対して双極細胞細胞膜が持つイオン機構の不均一性の影響を明確にすることは、今後、光応答波形の解析などによって網膜の情報処理機能を理解していく上で重要であると考えられる。そこで本研究では、視細胞より伝達されてきた光情報に対する、こうした双極細胞自身の持つ膜特性による修飾作用をイオン電流レベルで明確にすること、双極細胞に存在するイオン電流の影響を解明することを目的とした。

1.2 本論文の構成

図 1.1 に本論文の構成を示す。第 2 章では網膜の構造とその情報処理について述べ、視細胞、水平細胞、双極細胞から成る網膜外網状層における視覚情報処理機能に関するこれまでの知見について述べ、双極細胞が外網状層において重要な位置を占める細胞であることを述べる。また、双極細胞に関して、形態学、電気生理学によって得られているこれまでの知見についてまとめ、双極細胞が形態的、機能的に樹状突起、細胞体、シナプス終末の 3 つの部位に分割でき、各部位に存在するイオン機構に相違があることを示す。第 3 章では、膜電位固定法など生理実験データを基に、イオン機構に基づいた神経細胞モデルを構築する手法について述べる。第 4 章では、第 3 章の手法を用い、第 2 章で述べた知見を基に、構築した双極細胞細胞体のイオン電流モデルについて述べる。このモデルは細胞体での膜電位固定実験、膜電流固定実験における細胞応答を忠実に再現するものである。第 5 章では、第 4 章と同様の手法で、第 2 章で述べた知見を基に構築した、双極細胞シナプス終末のイオン電流モデルについて述べる。さらに、この部位で観測された自発性スパイク現象についてこのモデルを用いてシミュレーション解析し、過分極状態では内向き電流である I_{Ca} が優性、脱分極状態では外向き電流であるカルシウム依存性電流 $I_{K(Ca)}$ 、 $I_{Cl(Ca)}$ が優性な膜特性により発生することを示す。第 6 章では、先の第 4 章、第 5 章で構築したモデルを用いてオン型杆体双極細胞のコンパートメントモデルを構築し、これを用いたシミュレーション解析により、双極細胞が細胞体からシナプス終末方向に信号が伝達しやすい電気的特性を有しているのみならず、逆方向、すなわちシナプス終末から細胞体方向にも信号が伝達しやすい特性を持っていることを示す。さらに、既存の杆体イオン電流モデルと提案モデルでオン型杆体双極細胞の光応答を再現するネットワークモデルを構成し、双極細胞の各部位のイオン電流の光応答に対する修飾作用について計算機シミュレーションを用いて解析した結果を示す。第 7 章では、以上を総括し、結語とする。

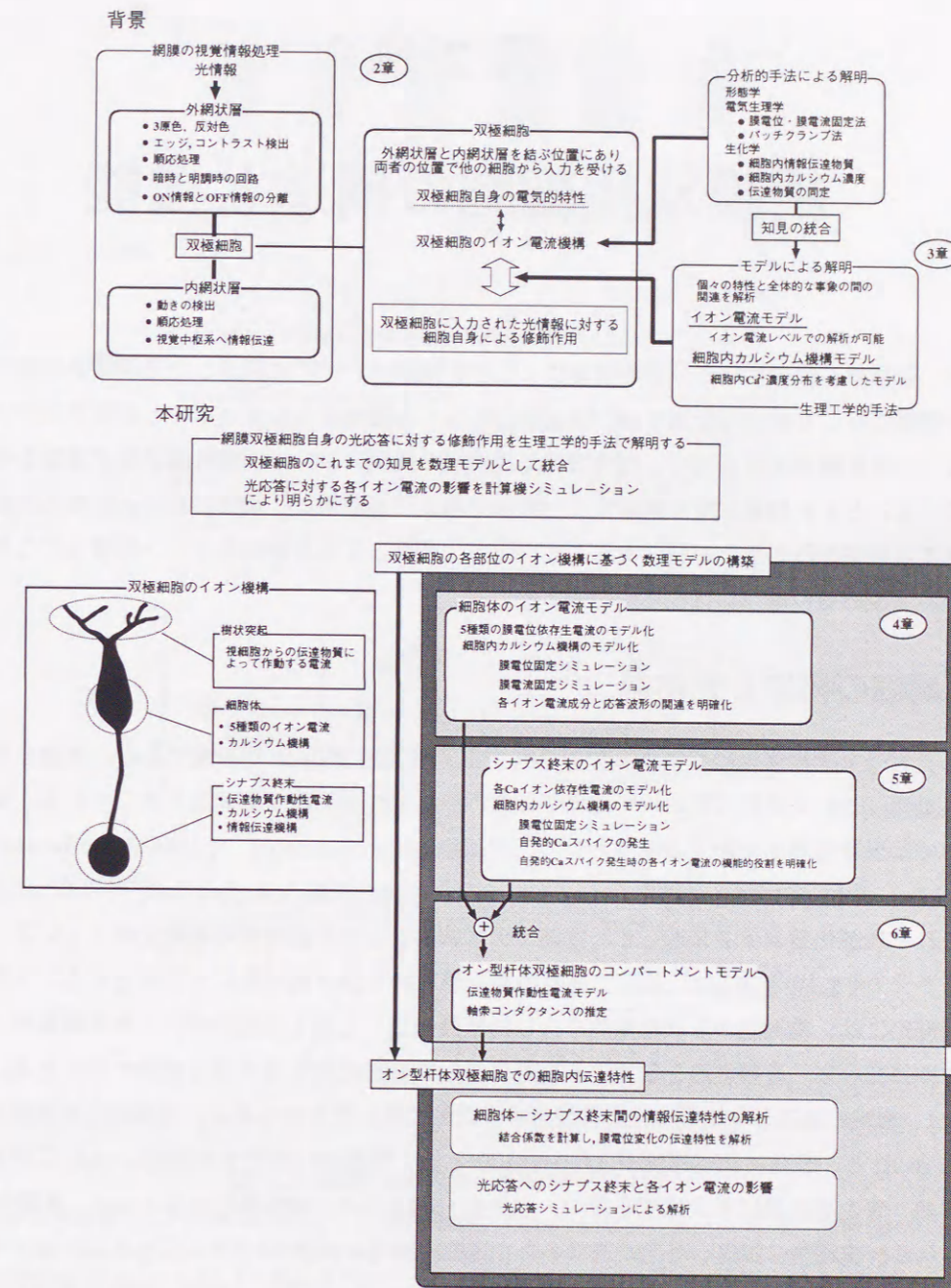


図 1.1 本論文の構成

第 2 章

網膜双極細胞の構造と機能

生理学、形態学、生化学等の分析的研究によって、網膜は、そこに到達した光情報を受容するのみならず、その情報に対して前処理を施す脳の出先器官としての機能を有していることが示されている。本章ではそうした知見を概説すると共に、視覚情報処理機能の発現において網膜外網状層が重要な位置を占めることを述べる。とくに外網状層を構成する一細胞である双極細胞は、網膜における情報処理機構の解明に対して重要な手がかりとなる細胞であることを示す。また、光応答特性やイオン機構などこれまでに報告されている双極細胞の電気的特性についてまとめる。

2.1 網膜の構造と光応答

網膜は光信号を神経情報に変換する機能を有する、厚さ約 200 μm の組織である。網膜を構成する細胞は、脊椎動物においては種に関わらず同様であり、それぞれが明瞭な層構造を成している。脊椎動物の網膜においては信号伝達を支配する細胞として、視細胞 (photoreceptor)、水平細胞 (horizontal cell)、双極細胞 (bipolar cell)、アマクリン細胞 (amacrine cell)、神経節細胞 (ganglion cell) が存在し、図 2.1 に示すようにそれぞれが化学シナプスもしくは電気シナプスによって密接な信号連絡を保っている。眼球の硝子体を通った光 (図 2.1 中下方) は、透明である各細胞層を突き抜け視細胞にて受容される。受容された光情報の伝達経路には、視細胞から双極細胞を介し神経節細胞へと至る直接経路と、水平細胞やアマクリン細胞が横方向に結合し、直接経路を伝達する信号に対して修飾作用を施す側方経路が存在する。

図 2.2 は、網膜の構造と各細胞の光応答波形を模式的に描いたものである。視細胞は高感度で暗時に機能する桿体 (rod) と、桿体に比べ感度が 1/50-1/100 と低く明調時に機能する錐体 (cone) に分類できる。錐体は赤、緑、青の単色光に最大感度を持つ、赤錐体 (red cone)、緑錐体 (green cone)、青錐体 (blue cone) に分類される。視細胞に到達した光情報はそこで細胞内情報に変換され、cGMP、 Ca^{2+} などの細胞内情報伝達物質を介して、図 2.2 に示した細胞電位の変化として観測される。この後、情報は化学シナプスにおける神経情報伝達物質 (neurotransmitter) の放出量変化により、2 次ニューロンである水平細胞、双極細胞へと伝達される。水平細胞も視細胞と同様に、ステップ光に対して緩電位応答を示す。水平細胞は波長感度特性によりいくつかのサブタイプに分類される。さらに水平細胞は同じタイプの細胞が同一層に位置し、細胞どうしはギャップジャンクション (gap junction) と呼ばれる構造によって電気的に結合している。そのため 1 つの細胞の光受容野はその樹状突起の広がりよりはるかに広く、照射範囲外の細胞においても

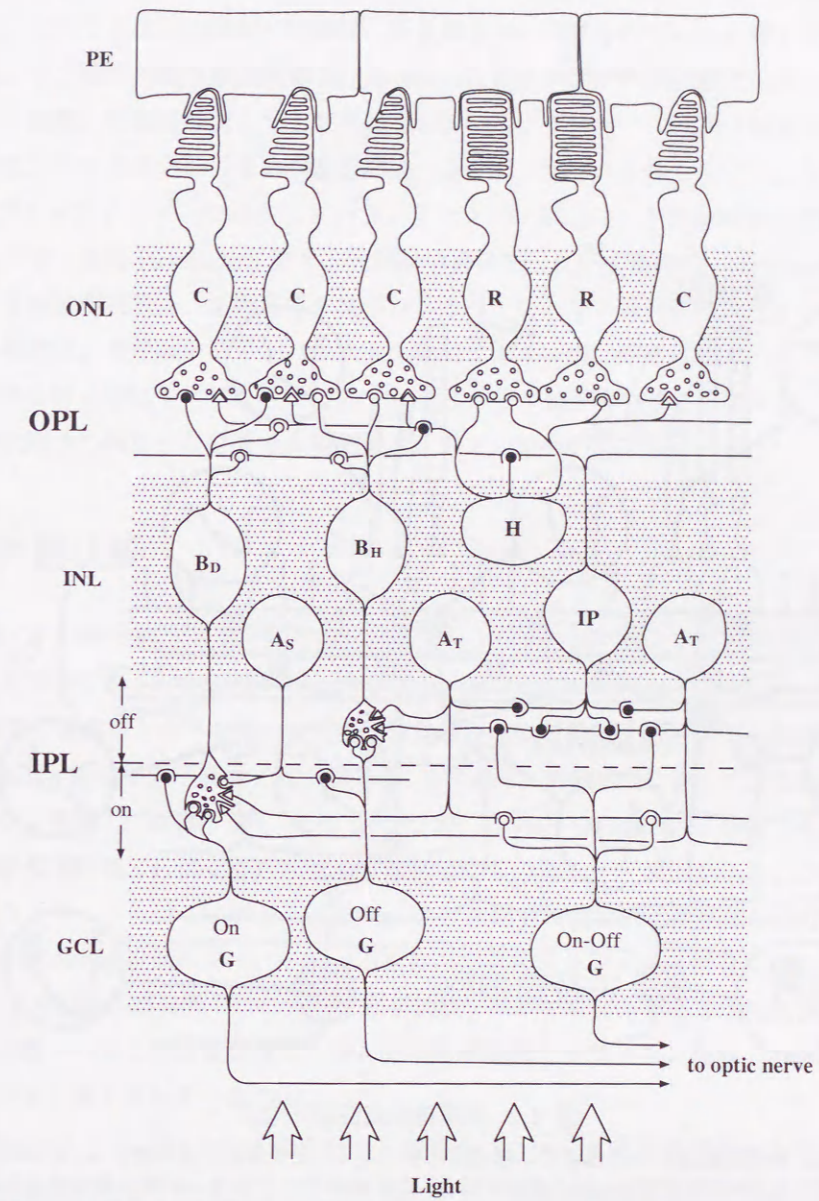


図 2.1 網膜神経回路の断面模式図 [19]

R: 桿体視細胞 (Rod photoreceptor), C: 錐体視細胞 (Cone photoreceptor), H: 水平細胞 (Horizontal cell), B_D : オン型双極細胞 (Depolarizing Bipolar cell), B_H : オフ型双極細胞 (Hyperpolarizing Bipolar cell), IP: 網状層間細胞 (Interplexiform cell), A_S : Sustained 型アマクリン細胞 (Sustained Amacrine cell), A_T : Transient 型アマクリン細胞 (Transient Amacrine cell), G: 神経節細胞 (Ganglion cell). ○は興奮性シナプス, ●は抑制性シナプス, △は双方向性シナプス.

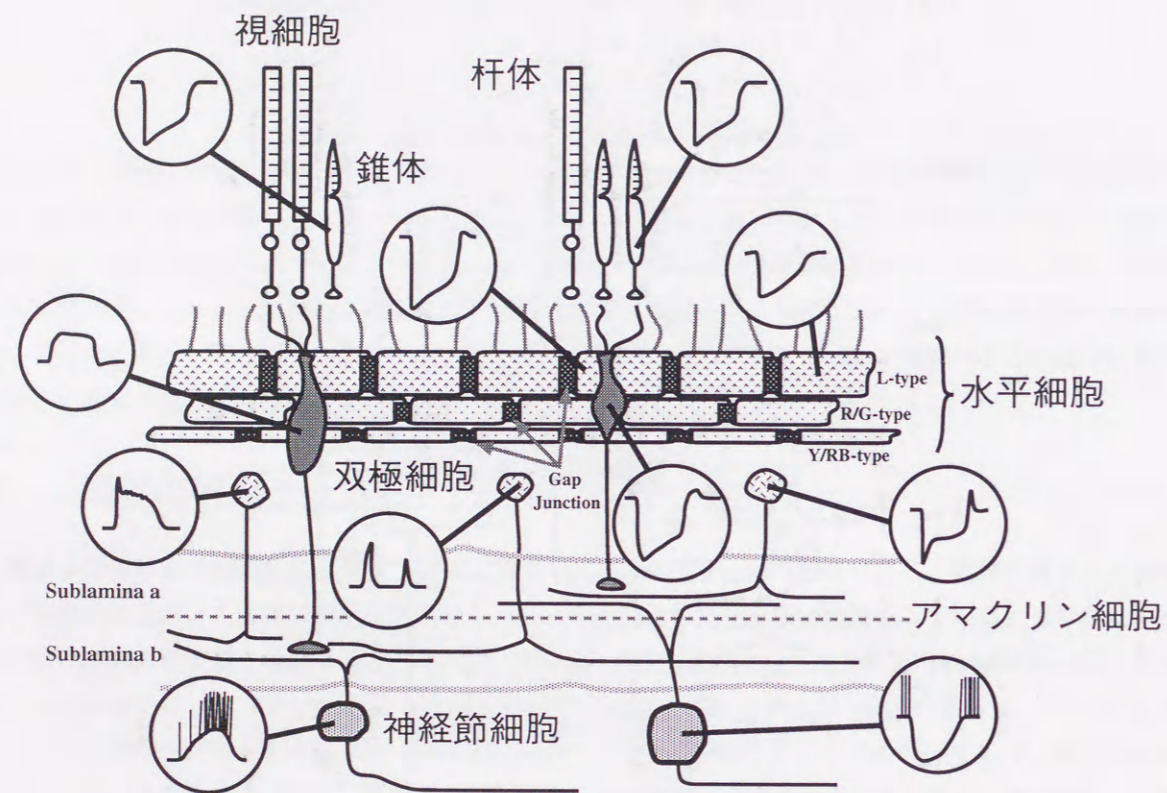


図 2.2 網膜神経回路網 [153]

光応答は、神経節細胞以外の細胞では緩電位応答である。光情報の伝達経路には、視細胞から双極細胞を介し神経節細胞へと至る直接経路と、水平細胞やamacrine細胞が横方向に結合した側方経路が存在し、光照射時に応答するオン型の経路、光照射外で応答するオフ型の経路がある。

電位変化が生じる。双極細胞も緩電位応答を示し、同心円形受容野を形成する。しかも受容野中心部へのスポット光により脱分極応答し受容野周辺部への光に対して過分極応答を示すオン型 (ON-center type)、中心部刺激では過分極側へ応答し周辺部への光に対して脱分極応答を示すオフ型 (OFF-center type) の2種類が存在する。このことは双極細胞で情報は、正負両方向に分離されていると考えられる。双極細胞のシナプス終末は、オフ型が内網状層遠位部 (sublamina a) にオン型が内網状層近位部 (sublamina b) に位置し、amacrine細胞、神経節細胞とシナプス結合している。amacrine細胞は軸索を持たず、樹状突起で双極細胞と相互シナプス結合を、また神経節細胞へは化学シナプスを作っている。さらにamacrine細胞同士はギャップジャンクションで結合している。amacrine細胞は、光照射時および照射終了時にスパイク状の応答を示す一過性 (transient) 型と、光照射中持続的に反応する持続 (sustained) 型がある。網膜の出力細胞である神経節細胞は、活動電位を発生し、そのインパルス系列が視神経を介して中枢へと伝達される。神経節細胞は、光照射中にインパルス列を発生するオン型、暗時にインパルス列を発生するオフ型および光照射時と終了時にインパルス列を発生するオン-オフ型が存在する。オン型、オフ型はそれぞれ先に述べた内網状層中の異なった位置で双極細胞とシナプス結合を形成している。

2.2 網膜外網状層

網膜外網状層 (OPL) は視細胞、水平細胞、双極細胞の3種類の細胞によって構成されており、この回路構成によって視覚情報の基本的な処理が行われていると考えられている。

図 2.3は、3種類の各錐体と水平細胞の波長感受度特性の記録 [43] より、ピーク値を模式的にプロットしたものである。下等脊椎動物の水平細胞では、図 2.3に示すように刺激波長によって応答振幅が変化し、その応答特性によって3種類、L型 (H1型)、R/G型 (H2型)、Y/RB型 (H3型) に分類できる。このことは水平細胞のレベルで色覚発現に必要な反対色信号に変換されていることを示している。こうした水平細胞の反対色信号の発生メカニズムは、これらの細胞のシナプス結合特性を調べた形態学的な研究から、図 2.3に示すように錐体と水平細胞間のフィードバックを含んだ選択的なシナプス結合に由来するものと考えられている [43, 51, 113, 117]。霊長類ではこうした水平細胞レベルでの反対色応答は観測されていないことから [12]、神経節細胞レベルの色対立応答は、IPLでの双極細胞、amacrine細胞、神経節細胞の結合強度によって生じていると考えられている [11]。

図 2.4は、網膜に対してスリット光、すなわち、空間的にステップ状の光刺激を入力した時の、外網状層の各細胞層の空間応答特性を模式的に示したものである。双極細胞層では、光が照射されている位置の細胞と、光刺激位置から離れた周辺の細胞では極性が反転する応答を示す [42, 133]。こうした応答特性は、空間バンドパスフィルタの特性であり、画像のエッジ検出や空間コントラストの向上に関与するものと考えられる。この双極細胞層応答は、視細胞から双極細胞の伝達経路に対して、視細胞層に比べ広い範囲で応答する水平細胞応答が抑制的に作用することで形成されていると考えられている [14, 42]。先に述べたように、水平細胞の応答は反対色であることから、双極細胞では図 2.5に示したように色情報と空間情報が重なり合い、空間色対比をはじめとする複雑な色受容野が存在する。

以上のように、空間、色に対する基本的な情報は、視細胞、水平細胞、双極細胞が相互に結合している外網状層において処理されており、外網状層で処理された信号は、双極細胞を介して神経節細胞など高次ニューロンへと伝達されている。したがって、双極細胞は外網状層で処理された信号を統合し出力する役

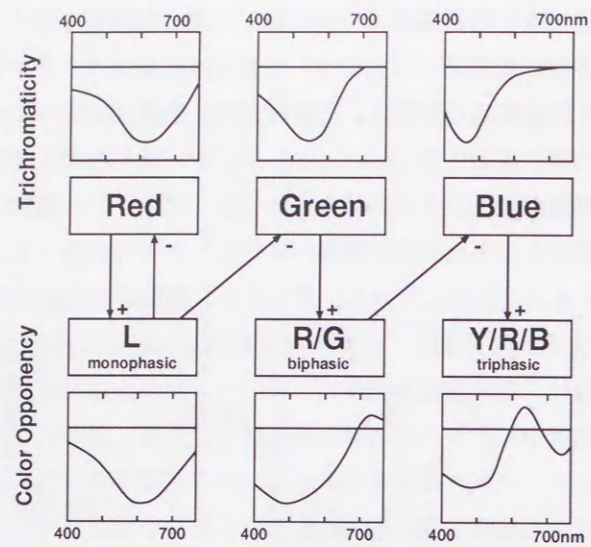


図 2.3 網膜外網状層の色情報処理 [43,113]

視細胞にはスペクトル感度の異なる3種の錐体、赤錐体 (Red), 緑錐体 (Green), 青錐体 (Blue) が存在する。水平細胞には、全波長にわたって過分極応答を示すL型、短波長で過分極し長波長で脱分極するR/G型、短・長波長で過分極し中波長領域で脱分極するY/R/B型が存在する。錐体-水平細胞間にはフィードバック結合を含む選択的なシナプス結合が形成されており、これにより錐体レベルの3原色信号は水平細胞において反対色信号に変換される。+印は興奮性シナプス、-印は抑制性シナプスを表す。

割を担う重要な細胞であると位置付けられる。また、網膜の出力細胞である神経節細胞は双極細胞から主入力を受けることから双極細胞レベルでの光応答特性を理解し、情報処理機構を解明することは、網膜全体での視覚情報処理機能を解明する上で重要なステップになるものと考えられる。

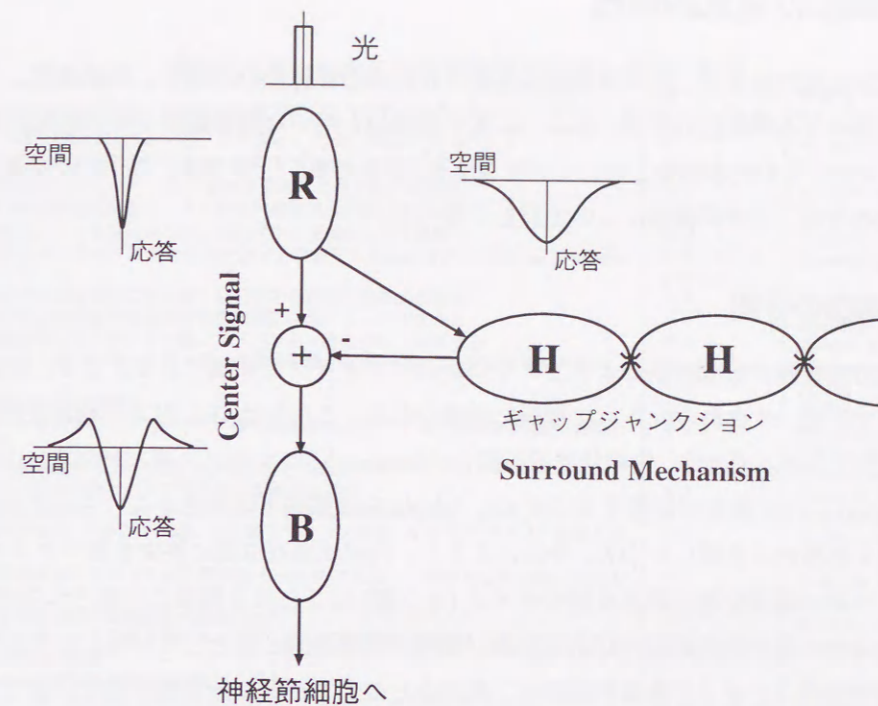


図 2.4 網膜外網状層の空間情報処理 [149]

R:視細胞, H:水平細胞, B:双極細胞。各々の細胞の受容野を模式的に描いてある。水平細胞(H)同士はギャップジャンクションにより電氣的に結合し、広い光受容野を形成する。視細胞-双極細胞間の信号伝達の主経路に水平細胞が抑制的に結合することにより、双極細胞ではバンドパス型の空間フィルタ特性が形成される。

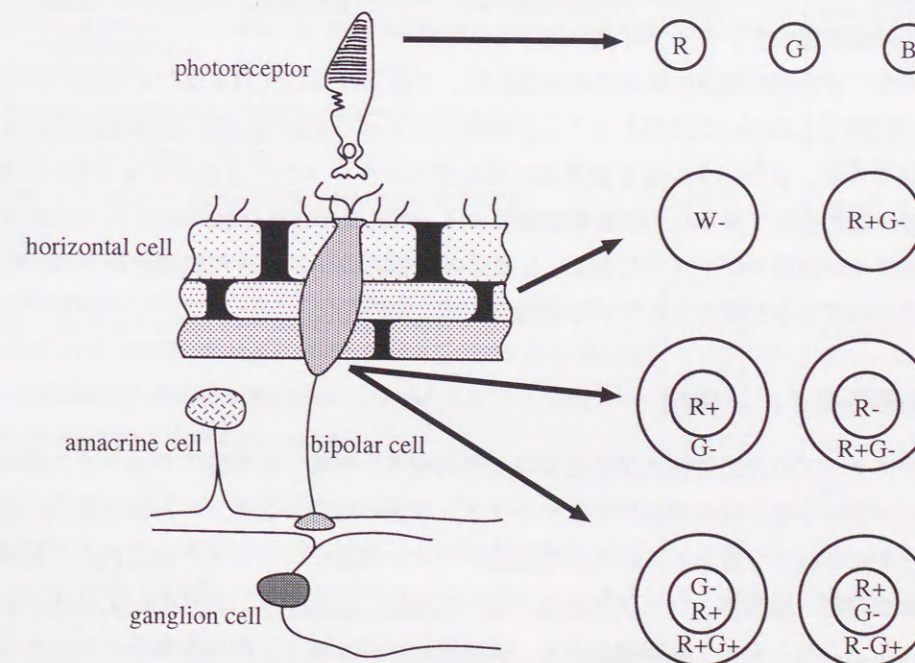


図 2.5 錐体、水平細胞、双極細胞の色受容野構成 [149]

3種類の錐体、水平細胞から入力を受ける双極細胞では、色信号と空間信号が重なり合い、複雑な色受容野が形成される。

2.3 双極細胞の電気的特性

双極細胞の電気生理的特性は、ガラス微小電極を用いた光応答特性の計測や、単離細胞、スライス標本のホールセル記録による膜特性の計測、あるいは電子顕微鏡を用いた形態観察より神経回路網の同定など多く研究されてきた。その代表的なものについて表 2.1 にまとめる。以下では、こうした双極細胞に関する生理学的な知見のうち、イオン機構について詳しく述べる。

2.3.1 双極細胞の分類

双極細胞は光応答特性や形態所見によっていくつかのサブタイプに分類できる。まず、双極細胞は空間応答特性から、オン型、オフ型の大きく 2 種類に分類できる。これらは IPL 内での軸索終端の位置によって形態的にも区別できる。前者は、内網状層近位部 (sublamina b) にシナプス終末が位置し、後者は内網状層遠位部 (sublamina a) に終末が位置する [39, 42]。Ishida らは電顕下の所見から、さらに詳しくキンギョ網膜の双極細胞を形態的に分類した [37]。それによると、内網状層近位部に終末を持つタイプ (オン型) はさらに 3 種類、内網状層遠位部に終末を持つタイプ (オフ型) はさらに 2 種類に分類された (表 2.2)。このように双極細胞はその樹状突起範囲内にある桿体、錐体の両視細胞と結合している。しかしながら、光応答特性から桿体からの入力为主である桿体型と、錐体からの入力为主である錐体型を区別できる。細胞の大きさや結合している錐体の種類から、表 (2.2) の a1、b1 型は桿体型、a2、b2、b3 型は錐体型と考えられる。したがって双極細胞は、オン型錐体双極細胞、オン型桿体双極細胞、オフ型錐体双極細胞、オフ型桿体双極細胞の最大 4 種類のサブタイプが存在すると考えられる。ただし、ツノザメ (dogfish) ではオン経路しか存在しない [103] ことや、ネコ (cat) について anti-protein kinase C (PKC-IR) を用いた研究ではオン型錐体双極細胞、オン型桿体双極細胞、オフ型錐体双極細胞の 3 種類のみが発見されている [15] など、動物種によって双極細胞のサブタイプに違いがみられる。

最近の研究では、哺乳類の網膜の錐体型双極細胞は、青錐体のみの入力を受ける細胞と赤錐体、緑錐体の両者から入力を受ける細胞の 2 種類あることが報告されており [11, 58, 70]、錐体型はさらにいくつかのタイプへと分類できる。また、サルなど霊長類に限らずコイやカメなど色覚を有する種の双極細胞では、複雑な色受容野が観測されており、この色受容野による分類もある [49, 144, 145]。こうした複雑な受容野は、オン型およびオフ型のサブタイプに加え、3 種類の錐体および、反対色表現を持つ水平細胞からの入力によって生成されていると考えられている (2.2 節、図 2.3 参照)。

2.3.2 双極細胞のイオン機構

双極細胞各サブタイプの光応答特性が研究されると同時に、単離・培養標本やスライス標本を用いた生理実験によって、様々な種の双極細胞に存在するイオン機構の特性が研究され、双極細胞の持つイオン機構の特性が明らかにされつつある。これら双極細胞のイオン機構についてまとめると、双極細胞は、形態的、機能的に樹状突起、細胞体、シナプス終末の 3 つの部位に大別でき、それぞれに存在するイオン機構に違いがみられる。これらのイオン機構のうち、樹状突起のグルタミン酸受容体などサブタイプによって特異的にみられるものや、マウス (mouse) 双極細胞にみられる T 型のカルシウムチャンネルなど同じイオン電流でも種によって特性が違うものなどが観測されている。以下では、双極細胞の各部位において存在すると考えられているイオン機構について述べる。

表 2.1 双極細胞の電気的特性に関する最近の研究

年代	内容	種	研究者
1974	オン型、オフ型双極細胞の IRC ¹ の背景光依存性	マッドバビ	Werblin [134]
1975	アスパラギン酸によってオン型、オフ型とも光応答は抑制される	コイ	Murakami <i>et al.</i> [77]
1976	オフ型桿体双極細胞の応答は桿体と錐体の両者から入力で形成されている	ネコ	Nelson <i>et al.</i> [83]
	オン型双極細胞の Co ²⁺ 、Na ⁺ 濃度を変えたときの光応答変化	コイ	Kankeo & Shimazaki [47]
1977	オフ型は内網状層近位部に、オン型は内網状層遠位部に終末をもつ	キンギョ	Famiglietti <i>et al.</i> [39, 42]
1978	オン型とオン型錐体の IRC、SRC ² から視細胞入力を考察	コイ	Saito <i>et al.</i> [91, 92]
	双極細胞はそのタイプに関わらず桿体および錐体と basal または ribbon junction で結合している	トラフサンシ ヨウウオ	Lasansky [61]
	順応状態での双極細胞の中心野、周辺野応答波形と波長感度特性	コイ	Kankeo & Tachibana [48]
1979	オン型桿体双極細胞の波長感度特性は順応状態によって変化する	コイ	Kankeo <i>et al.</i> [44]
1980	オン型双極細胞はグルタミン酸、アスパラギン酸に対して応答する	コイ	Kondo & Toyoda [56]
	オフ型とオン型では後シナプス部での機構が違い、オン型のほうが応答潜伏時間が長い	スッポン	Ashmore & Copenhagen [1, 10]
	双極細胞の色受容野特性	コイ	御手洗ら [144, 145]
	グルタミン酸あるいはアスパラギン酸 (aspartate) のアナログ灌流時の網膜各細胞の応答変化	マッドバビ	Slaughter & Miller [106-110]
1982	オン型双極細胞はカイニン酸、APB に対して応答する	ツノザメ	Shiells <i>et al.</i> [103]
	オン型桿体双極細胞と、オフ型桿体双極細胞の IRC	コイ	Saito & Kujiraoka [93]
1983	水平細胞に電流注入したときのオン型、オフ型双極細胞応答	コイ	Toyoda <i>et al.</i> [126]
	桿体双極細胞は、桿体、IP 細胞、AII 型アマクリン細胞、A17 型アマクリン細胞と結合している	ネコ	Kolb & Nelson [55]
	オフ型双極細胞のスポット光応答は約 +50mV で反転し、環状光応答は約 +23mV で反転する	コイ	Saito & Kaneko [90]
1984	二重対立型受容野が双極細胞で観測された	コイ	Kankeo & Tachibana [49]
	双極細胞はグルタミン酸とそのアナログに対して約 3 割、GABA に対してはほとんど全ての細胞が応答	エイ	Lasater <i>et al.</i> [64]
1986	同じタイプの双極細胞同士は電気的に結合している	コイ	Kujiraoka & Saito [59]
1987	グルタミン酸、GABA、glycine 応答のノイズ解析より受容体の構造推定	アホロートル	Attwell <i>et al.</i> [2, 135]
	オン型双極細胞は、APB 感受性受容体と APB に感受性がないレセプタを持つ	コイ科の魚類	Nawy & Copenhagen [79, 80]
	双極細胞の受容野は樹状突起の広がりより大きい	トラフサンシ ヨウウオ	Borges & Wilson [5]
1988	免疫染色でグルタミン酸を染めると双極細胞が最もよく染まる	カメ	Ehinger <i>et al.</i> [20]
	双極細胞は GABA _A 受容体を持っており、それはシナプス終末に局在している	キンギョ	Tachibana & Kaneko [118]
	双極細胞から神経節細胞への伝達物質はグルタミン酸である	ウサギ	Massey & Miller [71]
1989	双極細胞には T 型と L 型の Ca チャンネルがあり、L 型はシナプス終末に局在し GABA _B 受容体と G タンパクを介して結合している	トラフサンシ ヨウウオ	Maguire <i>et al.</i> [67]
	暗い光刺激による双極細胞の受容野は視細胞と水平細胞、両者の応答によって構成されている	トラフサンシ ヨウウオ	Owen & Hare [86]
	マウス双極細胞には T 型カルシウム電流が存在し、それはシナプス終末に局在する	マウス	Kankeo <i>et al.</i> [45]
	霊長類の桿体双極細胞はすべての細胞が光に対して脱分極応答し、アマクリン細胞でオン、オフ成分が形成される	マカクザル	Dolan & Schiller [18]
1990	オン型の APB 感受性グルタミン酸受容体に関する研究	トラフサンシ ヨウウオ	Nawy & Jahr [81, 82]
	オン型の APB 感受性グルタミン酸受容体の細胞内経路に関する研究	ツノザメ	Shiells & Falk [98-101]
	オン型桿体双極細胞は PKC 免疫反応を示す	キンギョ	Suzuki & Kaneko [114]
	順応状態による OPL 各細胞の光応答	トラフサンシ ヨウウオ	Frumkes & Wu [25]
	双極細胞シナプス終末には glycine 受容体と GABA _A レセプタがある	マウス	Suzuki <i>et al.</i> [115]
	ネズミ双極細胞には glycine 受容体と GABA _A レセプタ、APB 感受性グルタミン酸受容体がある	ネズミ	Karschin & Wässle [52]
1991	オフ型双極細胞のグルタミン酸受容体は非 NMDA 型である	サンショウウオ	Gilbertson <i>et al.</i> [26]
	双極細胞の膜電位依存性カルシウム電流によって終末からグルタミン酸放出が起こる	キンギョ	Tachibana & Okada [119]
	視神経でのオン応答は APB によって完全には抑制されない	キンギョ	DeMarco, Jr., <i>et al.</i> [87]
	双極細胞の APB に感受性を持つグルタミン酸作動性電流は、K ⁺ によって運ばれる	トラフサンシ ヨウウオ	Hirano & MacLeish [34]
	ネズミ双極細胞には、APB 感受性電流がありこれは Na ⁺ と K ⁺ により運ばれている	ネズミ	Yamashita <i>et al.</i> [137]
1992	P 物質は双極細胞のカルシウム電流を抑制する	キンギョ	Ayoub & Matthews [3]
	双極細胞のカルシウム濃度変化特性、Ca チャンネルは終末に多く存在している	キンギョ	Heidelberger & Matthews [31]
1993	双極細胞のカルシウム電流はシナプス終末に局在しており、その活性化は伝達物質の放出を促す	キンギョ	Tachibana <i>et al.</i> [120]
	光応答波形や IRC より、双極細胞のオン型、オフ型とも桿体が主入力の細胞と錐体が主入力の細胞の両者がある	トラフサンシ ヨウウオ	Hensley <i>et al.</i> [32]
	桿体-オフ型双極細胞の受容体は、桿体-水平細胞間のレセプタの特性と同一、錐体-オフ型双極細胞の受容体は、桿体-オフ型双極細胞の受容体とは違い、錐体-LHC の受容体に良く似ている	マッドバビ	Kim & Miller [53]
	オン型双極細胞のグルタミン酸受容体は、APB 感受性受容体のみであり、この受容体の活性化によって、非選択性の陽イオンチャンネルが閉じる。オン型双極細胞は、GABA _A あるいは glycine レセプタ (あるいは APMA 型受容体) を持ちこれは Ca ²⁺ 依存性がある	マッドバビ	Thoreson & Miller [122]
	網膜は mGluR6 受容体を持ち、免疫染色すると INL の OPL 側が強く染まる	ネズミ	Nakajima <i>et al.</i> [78]
	ネズミ双極細胞には GABA _A 受容体、GABA _C 受容体がある	ネズミ	Feigenspan <i>et al.</i> [23]

年代	内容	種	研究者
1994	双極細胞のシナプス終末には GABA _A と GABA _C の 2 種類どちらかの GABA 受容体がある。 双極細胞から神経節細胞への伝達経路で、抑制効果を及ぼすのは双極細胞での GABA _C によるものが主である。 グルタミン酸受容体のグルタミン酸応答と I-V 特性 GABA _C 受容体が存在する。GABA による I _{Ca} の抑制 1S,3R-ACPD ³ は、オン型双極細胞に対して APB と同等の効力を持つ オフ型双極細胞は KA/AMPA 型受容体を持つ GABA _A 受容体を免疫染色。IPL, OPL, INL, GCL が良く染まった 双極細胞同士は、樹状突起とシナプス終末で電気的に結合している シナプス終末の膜容量変化の計測と伝達物質放出機構 グルタミン酸を免疫染色すると双極細胞や視細胞は強く染まる。glycine で染色するとオン型錐体双極細胞の終末が良く染まった 有尾目の両生類オン型双極細胞は、1 種類のグルタミン酸受容体のみ持つ 順応状態に関わらず APB は ERG の d 波を増強する 双極細胞のカルシウム依存性塩素電流の特性 双極細胞のカルシウム電流と細胞内カルシウム濃度、カルシウム排出系の特性 錐体双極細胞のグルタミン酸電流は、Cl ⁻ によって運ばれる。	トリアサンシ ヨウウオ トリアサンシ ヨウウオ ツノザメ キンギョ マッドバビ サンシヨウウ オ マカクザル, ヒト ブラックバス など キンギョ マッドバビ カエル キンギョ キンギョ ホホワイトバー チ ネコ トリアサンシ ヨウウオ ホホワイトバスの 錐体 ネズミ ネコ キンギョ キンギョ キンギョ キンギョ ジンズ ネコ ラット	Lukasiewicz <i>et al.</i> [65] Lukasiewicz & Werblin [66] Shiells & Falk [102] Matthews <i>et al.</i> [73] Tian & Slaughter [124] Maple <i>et al.</i> [68] Vardi & Sterling [130] Umino <i>et al.</i> [127] Gersdorff & Matthews [75,76,131] Davanger <i>et al.</i> [13] Thoreson & Miller [123] Popova <i>et al.</i> [88] Okada <i>et al.</i> [85] Kobayashi & Tachibana [54] Grant & Dowling [27] de la Villa <i>et al.</i> [15] Maple & Wu [69] Grant & Dowling [28] Euler <i>et al.</i> [21] Sakai & Kaneko [96] Burrone & Lagnado [8] Sakaba <i>et al.</i> [94] Zenisek & Matthews [139] Fan & Yazulla [22] DeVries & Schwartz [16] Qin & Pourcho [89] Pan [36]
1995	オン型、オフ型双極細胞のグルタミン酸作動性電流の特性 オン型、オフ型ともグルタミン酸受容体が樹状突起、GABA レセプタがシナプス終末に存在する 双極細胞の多くが APB に感受性をもつグルタミン酸作動性電流と、Cl ⁻ によって運ばれるグルタミン酸作動性電流の両者を持つ。 オン型には L-AP4 型の、オフ型には KA/AMPA 型のグルタミン酸受容体がある ネコオフ型双極細胞樹状突起には AMPA 型のグルタミン酸受容体がある	マッドバビ カエル キンギョ キンギョ ホホワイトバー チ ネコ トリアサンシ ヨウウオ ホホワイトバスの 錐体 ネズミ ネコ キンギョ キンギョ キンギョ キンギョ ジンズ ネコ ラット	Thoreson & Miller [123] Popova <i>et al.</i> [88] Okada <i>et al.</i> [85] Kobayashi & Tachibana [54] Grant & Dowling [27] de la Villa <i>et al.</i> [15] Maple & Wu [69] Grant & Dowling [28] Euler <i>et al.</i> [21] Sakai & Kaneko [96] Burrone & Lagnado [8] Sakaba <i>et al.</i> [94] Zenisek & Matthews [139] Fan & Yazulla [22] DeVries & Schwartz [16] Qin & Pourcho [89] Pan [36]
1996	双極細胞で電流注入時、スパイク応答が観測 双極細胞のカルシウム依存性カリウム電流の特性 オン型双極細胞シナプス終末での Ca スパイク現象 双極細胞の遅延整流性電流はアスコルビン酸塩依存性を持つ オフ型双極細胞には KA/AMPA 型グルタミン酸受容体がある グルタミン酸受容体 GluR1、GluR2/3 を免疫染色 Ca チャネルは杆体型と錐体型で特性が異なっている	マッドバビ カエル キンギョ キンギョ ホホワイトバー チ ネコ トリアサンシ ヨウウオ ホホワイトバスの 錐体 ネズミ ネコ キンギョ キンギョ キンギョ キンギョ ジンズ ネコ ラット	Thoreson & Miller [123] Popova <i>et al.</i> [88] Okada <i>et al.</i> [85] Kobayashi & Tachibana [54] Grant & Dowling [27] de la Villa <i>et al.</i> [15] Maple & Wu [69] Grant & Dowling [28] Euler <i>et al.</i> [21] Sakai & Kaneko [96] Burrone & Lagnado [8] Sakaba <i>et al.</i> [94] Zenisek & Matthews [139] Fan & Yazulla [22] DeVries & Schwartz [16] Qin & Pourcho [89] Pan [36]
1997	双極細胞の形態による分類 (文献 [37] より改変)		

¹光刺激強度特性 (Intensity Response Characteristics) ²光刺激波長特性 (Spectral Response Characteristics)
³1-amino-1,3-cyclopentanedicarboxylic acid

表 2.2 双極細胞の形態による分類 (文献 [37] より改変)

タイプ	細胞体の直径 [μm]	軸索の直径 [μm]	シナプス終末の直径 [μm]	樹状突起の広がり [μm]	杆体との結合 ⁴	錐体との結合 ⁴	結合している錐体の種類
b1	≤9	≤2	≤9	楕円形, 42×32	ほぼ全て		LSR ⁵
b2	≤8	≤1	≤5	楕円形, 56×48	66%	86%	SSC ⁶ , MSSC ⁷ 除く全て
b3	≤7	≤1	≤3	楕円形, 104×71	66%	86%	DC ⁸ , LSC ⁹ MLC ¹⁰ のいくつか
a1	≤6	≤1		楕円形, 65×23	12%		DC の長錐体と LSC のいくつか
a2	≤6	≤1		楕円形, 44×37	17%		DC の長錐体と SC のいくつか

⁴樹状突起範囲内で結合している割合 ⁵long single cone red ⁶short single cone
⁷miniature short single cone ⁸double cone ⁹long single cone
¹⁰miniature long cone

2.3.3 樹状突起

双極細胞の樹状突起には視細胞からの伝達物質を受容する受容体が存在し、眼杯標本 [56, 77, 107, 109, 110, 124] や単離培養細胞 [64]、スライス標本 [122] を用いた薬理学的実験や電気生理実験、あるいは免疫組織化学的 [6, 13, 89] な手法により、この受容体はグルタミン酸受容体であることが示されている。また受容野中心部への光照射によって、オン型、オフ型の 2 種類の応答を示す機構について、光応答の解析 [46, 90, 92, 93] や薬物灌流実験 [103, 106, 108]、ノイズ解析 [1, 10, 135]、単離細胞 [2, 15, 64] またはスライス標本 [34, 69, 102] のグルタミン酸応答解析によって調べられ、オン型には代謝調節型のグルタミン酸受容体、オフ型にはイオンチャネル直結型のグルタミン酸受容体と、両者の持つグルタミン酸受容体に相違があることが示されている。これら 2 種類のグルタミン酸受容体の特性について述べる。

代謝調節型グルタミン酸受容体

オン型にみられるグルタミン酸受容体は、グルタミン酸により膜コンダクタンスの減少 [2] がみられること、さらに膜電位固定下で cGMP を注入した時、内向き電流が生じグルタミン酸および 2-amino-4-phosphonobutyrate (APB) によってこの内向き電流が抑制されること [81, 82, 99] などから、cGMP を介した細胞内情報処理機構によりイオンチャネルの開閉を制御する代謝調節型 (metabotropic) の受容体 mGluR6 であるとみられている [21, 78]。双極細胞の mGluR6 の細胞内情報処理機構の詳細については今尚、研究が進められている分野であるが、G タンパク (G-protein) を介し cGMP 依存性チャネルを制御するなど、視細胞外節の光感受性電流の細胞内機構 [142, 146] と類似した特徴を持つ [81]。代謝調節型グルタミン酸受容体にグルタミン酸が受容されると、細胞内において G タンパクを介した phosphodiesterase (PDE) の活性化が生じ、その結果、cGMP が加水分解され細胞内 cGMP 濃度が減少する [81, 99]。ツノザメを用いた実験では、この細胞内経路には、グアニレートシクラーゼ (GC) の活性化による cGMP 濃度の増加を促す経路もあることが報告されている [101]。細胞膜には細胞内 cGMP 濃度によって開閉状態が調節される非選択性の陽イオンチャネルがあり [34, 100, 122, 137]、細胞内 cGMP 濃度の減少によって電流が抑制され電流として観測される。

図 2.6 は、ツノザメのオン型双極細胞においてグルタミン酸により生じる電流応答を、保持電位を変えて記録した結果である。グルタミン酸に対して電流は約 0mV で反転する特性を示し、負電位では内向き、正電位では外向きに流れる。図 2.6B は、-30mV に膜電位を固定し、様々な濃度のグルタミン酸に対する電流応答を記録した結果より、グルタミン酸濃度に対してその電流応答のピーク値を描いたものである。このように電流は、グルタミン酸濃度が高くなると飽和する特性を持っている。

イオンチャネル直結型グルタミン酸受容体

オフ型のグルタミン酸受容体は、イオンチャネル直結型 (ionotropic) で、グルタミン酸により非選択性の陽イオンチャネルを開く [2, 34]、KA/AMPA 型の受容体である [16, 21, 26, 68, 96]。グルタミン酸に対して細胞の膜コンダクタンスの増加を伴う応答を示す [2]。

図 2.7 は、ツノザメのオフ型双極細胞のグルタミン酸に対する電流応答であり、保持電位を変えた時の応答記録が重ね書きされている。代謝調節型同様、イオンチャネル直結型もグルタミン酸に対して電流は約 0mV で反転する特性を持つ。また、イオンチャネル直結型の電流は、負電位で内向き、正電位で外向きに

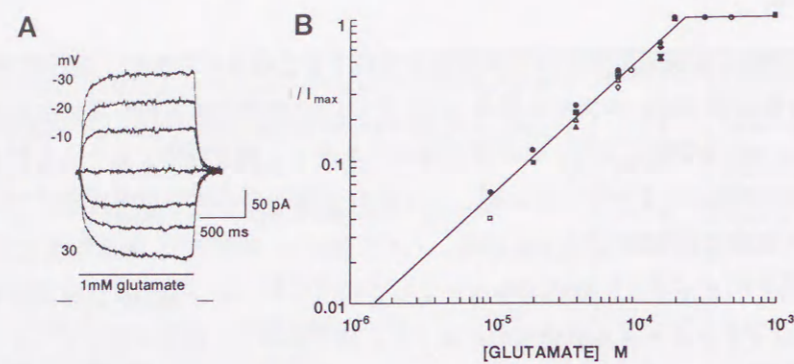


図 2.6 オン型双極細胞のグルタミン酸応答 (文献 [102] より改変)

A: 保持電位を変えたときの 1mM グルタミン酸に対する電流応答. B: グルタミン酸作動性電流のグルタミン酸濃度特性.

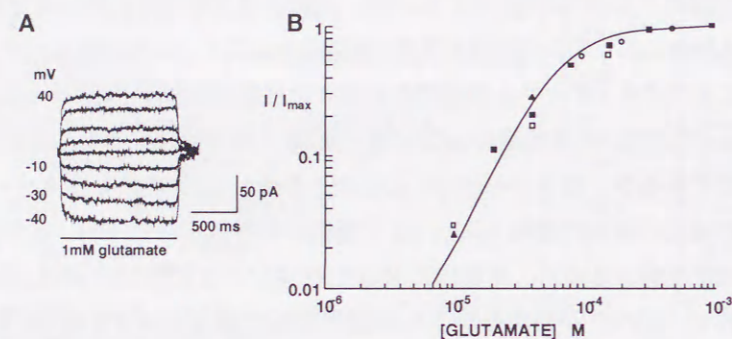


図 2.7 オフ型双極細胞のグルタミン酸応答 (文献 [102] より改変)

A: 保持電位を変えたときの 1mM グルタミン酸に対する電流応答. B: グルタミン酸作動性電流のグルタミン酸濃度特性.

流れる。図 2.7B は、 -30mV に細胞を固定し様々な濃度のグルタミン酸による電流応答を記録し、グルタミン酸濃度に対してその電流応答のピーク値を描いたものである。このように電流応答は、高グルタミン酸濃度で飽和する特性を示す。

マッドバビを用いた実験で、杆体とオフ型双極細胞を結ぶシナプスのグルタミン酸受容体は、杆体と水平細胞間のグルタミン酸受容体と特性がほぼ同一であるのに対して、錐体とオフ型双極細胞間の受容体とは特性が違っているといった報告もあり [53]、同じイオンチャンネル直結型受容体であっても、双極細胞のサブタイプで違いが見られるものもある。

双極細胞のサブタイプとグルタミン酸受容体

さて、有尾目両生類のオン型双極細胞には、1種類のグルタミン酸受容体しかないことが報告されているが [123]、その他の種では、オン型杆体双極細胞へ杆体入力以外にも錐体入力成分があることが、形態 [37,61] や波長感度特性 [44,48,91,92] あるいはダブルフラッシュ実験による光応答 [40] などから示されている。こ

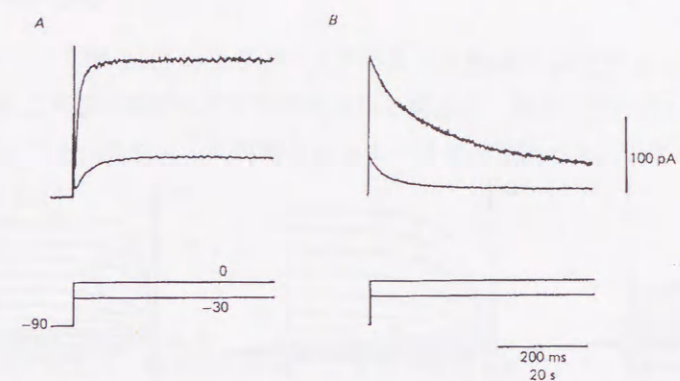


図 2.8 キンギョ網膜双極細胞の I_{Kv} [50]

8日間培養した単離双極細胞からの記録. 保持電位は -90mV . -30mV と 0mV に膜電位を固定したときの結果. A: 初期に見られるスパイクのようなものは、容量成分の影響. B: Aと同じ記録を 100 倍の時間スケールでみたもの. 定常状態の電流レベルは -30mV で 0pA .

これらの2種類(あるいはそれ以上)の視細胞からの入力、上記代謝調節型の他にも別の経路で入力があることが報告されている [79,80,91-93]。これによれば、オン型杆体双極細胞の主入力である杆体入力は、代謝調節型レセプタを介して入力し、錐体入力は細胞内 Cs^+ で抑制される経路 [80] を介して入力される。さらに近年、ホワイトパーチやホワイトバスで、 Cl^- によって運ばれるグルタミン酸依存性電流も報告されている [27,28]。こうした経路は、GABA や glycine といった伝達物質には影響されず、一方で、グルタミン酸輸送体 (glutamate transporter) のアゴニストに対して影響を受けることから、グルタミン酸輸送体によるものと見られている [27,28]。これら、代謝調節型やイオンチャンネル直結型グルタミン酸受容体によるもの以外の電流成分が、実際の機構を介しているのか、あるいは視細胞との結合特性などは未だ明らかになっていない。

2.3.4 細胞体

キンギョ [50]、ホワイトバス [62]、アホロートル (axolotl) [121]、トラフサンショウウオ (tiger salamander) [67]、マウス [45] の双極細胞を用いた膜電位固定実験結果より、双極細胞に存在するイオン電流は、 Na^+ による電流ではなく、主に K^+ または Ca^{2+} によって運ばれる電流であることが示されている。これら細胞体で観測されたイオン電流の特性について述べる。

遅延整流性カリウム電流 (I_{Kv})

キンギョ網膜 [50] で観測される I_{Kv} は、約 -60mV より脱分極側で活性化し、その後緩やかに不活性化する特性を示す。キンギョでの実験結果と、アホロートル [121] およびホワイトバス [62] から記録した結果を比較すると、後者は活性化、不活性化の時定数は遅く、不活性化の時定数は、 -30mV 固定時で約 10s、 0mV 固定時で約 40s である (図 2.8)。この電流は、tetraethylammonium (TEA) によって抑制されるが、4-aminopyridine (4-AP) にはほとんど影響を受けない。また近年、 I_{Kv} は、アスコルビン酸塩 (ascorbate) によって抑制されることが報告されている [22]。

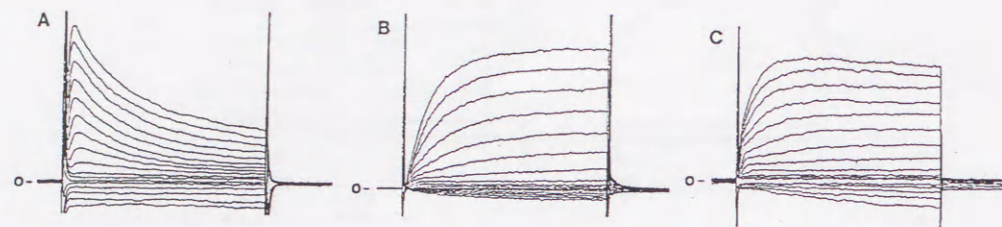


図 2.9 ホワイトバス双極細胞のイオン電流 [62]

ホワイトバス網膜より単離した双極細胞の膜電位固定実験結果。-70mVに保持後、10mV毎に固定電位を変化した。A: 大型双極細胞からの記録。B, C: 小型双極細胞からの記録。

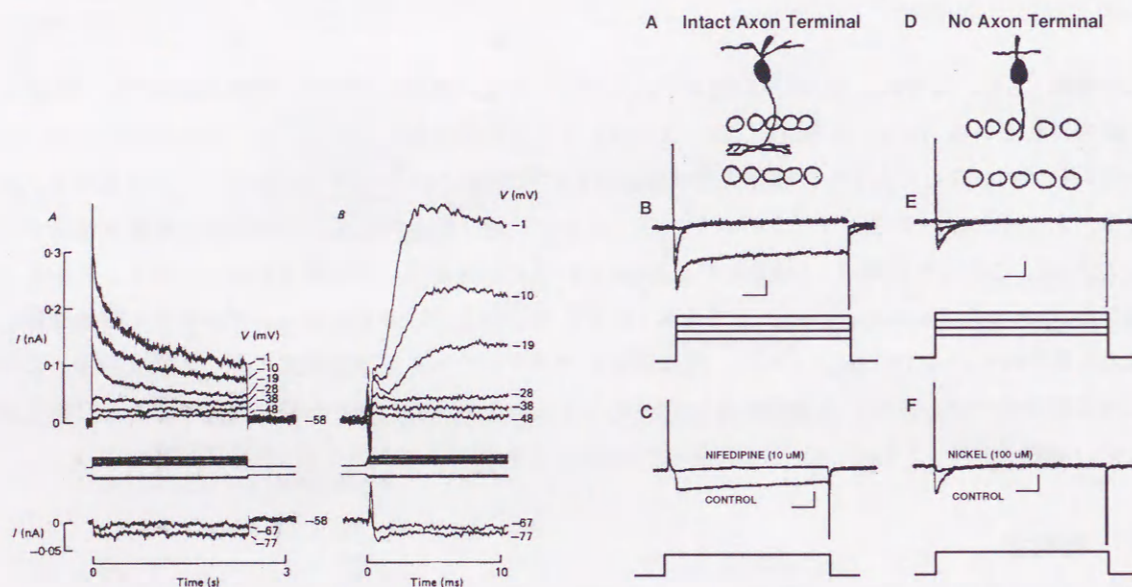


図 2.10 アホロートル双極細胞のイオン電流 [2] 図 2.11 トラフサンショウウオ網膜双極細胞の I_{Ca} [67]

-58mVで細胞を保持した後、図の左側に書かれている電位へ固定した時の膜電位固定応答。A: 長い時間スケールでの表示。B: 短い時間スケールでの表示。応答の初期にみられる成分は細胞およびガラス微小電極の容量性成分によるもの。

A: スライス標本でシヤフィーエロによって染色した双極細胞の模式図。B: Aの細胞の電流応答。-90mVに保持し、-60mVに固定した時一過性の内向き電流が流れる。-30mVに固定した時には、一過性電流と共に持続性の電流が流れる。C: 一過性成分は、細胞を-60mVで保持すると消失する。また持続性電流は10 μ M nifedipineによって抑制される。D: スライス作成過程で軸索終末を取り去った双極細胞の模式図。E: Dの細胞の電流応答。持続性電流が消失している。F: 一過性成分は、100 μ M Ni⁺でブロックされる。図でスケールは、10pA および 100ms。

一過性外向きカリウム電流 (I_A)

I_A は、アホロートル [121](図 2.10) およびホワイトバスの大型細胞 [62](図 2.9) で観測されている。その特性は、膜を -30mV より脱分極させたとき観測される電流で、急速に活性化しその後、膜電位に依存して時定数 20~数百 ms で不活性化する時間特性を示す一過性の電流である。この電流は、TEA および 4-AP によって抑制される。

内向き整流性電流 (I_h)

双極細胞の内向き整流性電流は、時間特性が違う 2 種類が観測されている。一方は、キンギョ [50]、ホワイトバスの小型 (おそらく錐体型) [62]、ラット (rat) [52] およびマウス [45] で観測されたもので、図 2.9B に示すようにゆっくり活性化する時間特性を持つ。この電流は、約 -50mV より過分極側で活性化し、細胞外 K^+ 濃度のほかに細胞外 Na^+ 濃度にも依存することから、 K^+ と Na^+ によって運ばれていると考えられている。またこの電流は、細胞内外 Cs^+ によって抑制される。もう一方は、ホワイトバスの大型 (おそらく杆体型) [62] およびアホロートル [121] においてみられるもので (図 2.9A)、膜の過分極とほぼ同時に活性化する特性を持つ。この電流は、細胞内 Cs^+ によって抑制されるが細胞外 Cs^+ には影響されない。またその振幅は、細胞外 K^+ 濃度に依存するが細胞外 Na^+ 濃度には影響を受けない。

カルシウム依存性カリウム電流 ($I_{K(Ca)}$)

-10~-30mV より活性化し、+30~+40mV で最大値をとる電流であり、ほとんどの双極細胞で観測されている [45, 50, 52, 62]。この電流は、TEA などカリウム電流を抑制する薬物によってもブロックされるが、カルシウム電流を抑制する薬物によっても消失することから、細胞内 Ca^{2+} に依存した電流である。

カルシウム電流 (I_{Ca})

双極細胞には、2 種類のカルシウム電流が観測されている。一方は、キンギョ [50, 119]、ホワイトバス [62] およびトラフサンショウウオ [67] で観測されている電流で、時間的にほとんど不活性化しない特性をもつ。この電流は、約 -30mV より膜を脱分極したとき活性化し、+10~+30mV で最大振幅をとるベル型の電流-電圧特性を持っている。キンギョのカルシウム電流は、 Cd^{2+} および dihydropyridine(nifedipine) によって抑制され、Bay K 8644 によって増強するなど、L 型カルシウム電流の特徴を有している。

もう一方は、トラフサンショウウオ [67]、マウス [45] で観測されている一過性電流である。約 -65mV より膜を脱分極したとき活性化し、-40~-20mV で最大振幅をとる電流-電圧特性を持っている。活性化の時定数が、-40mV に固定したとき約 20ms、20mV に固定したとき約 5ms、また不活性化の時定数が、-40mV に固定したとき約 260ms、20mV に固定したとき約 150ms など、活性化、不活性化の時間特性は膜電位に依存している。さらにこの電流は、 Cd^{2+} 、nifedipine および Bay K 8644 には影響を受けないことなど、T 型カルシウム電流の特徴を持っている。トラフサンショウウオ双極細胞においては L 型および T 型カルシウム電流の両者が観測されている [67](図 2.11)。ここでシナプス終末を取り除いた双極細胞では L 型カルシウム電流は観測されず、T 型カルシウム電流のみ観測されることから、トラフサンショウウオにおいて L 型カルシウム電流はシナプス終末に局在し、T 型カルシウム電流は細胞全体に分布している

表 2.3 双極細胞細胞体のイオン電流

イオン機構	抑制剤	文献
一過性外向きカリウム電流	TEA, 4-AP	[62] [121]
遅延整流性カリウム電流	TEA, 細胞内 Cs	[50] [62]
カルシウム依存性カリウム電流	TEA, quinine, 細胞内 Cs ⁺	[50] [62]
内向き整流性電流*	細胞内外 Cs ⁺	[50] [62] [22]
カルシウム電流		
L 型	Co ²⁺ , nifedipine, nifedipine	[67] [50] [119]
T 型	Ni ⁺	[67] [45]

* ホワイトバス双極細胞の大型に見られる内向き整流性電流は、小型のものに比べると、時間依存性がなく、細胞外 Cs⁺ によって抑制されないなど若干違いがみられる。

ものと考えられている。また、マウスでは双極細胞に T 型カルシウム電流のみ細胞全体に渡って存在することが報告されている [45]。

2.3.5 シナプス終末

双極細胞の中でもオン型杆体双極細胞は、他のものに比較して形態が大きく、特にキンギョなどのコイ科の魚では、そのシナプス終末が単一で大きく膨らんだ形状である [37, 93, 97]。このため、前シナプス終末からの伝達物質放出機構を研究する標本として多く用いられている [31, 72, 75, 120, 131]。キンギョ網膜の双極細胞の中でオン型双極細胞では、L 型カルシウムチャンネルがシナプス終末に高密度に分布することが報告されており [120]、トラフサンショウウオ双極細胞もまた同様の報告がある [67]。こうしたカルシウムチャンネルの不均一性は細胞内 Ca²⁺ 濃度変化に顕著に現われ、細胞体に比較してシナプス終末の側の濃度変化が急峻であるといった特性をもつ [31, 85]。また、細胞内外の Ca²⁺ によって調節されるイオン機構もシナプス終末に局在することが報告されている [54, 85, 94]。以上の細胞内カルシウム濃度を調節あるいはそれに依存したイオン機構の他に、シナプス終末には、アマクリン細胞、神経節細胞といった 3 次ニューロンからの伝達物質である GABA または glycine を受容し作動する電流機構も報告されている [2, 65, 67, 69, 118]。これらシナプス終末に局在していると考えられるイオン機構について以下に述べる。

カルシウム電流 (I_{Ca})

キンギョで観測されたこのカルシウム電流は、Cd²⁺ および dihydropyridine(nifedipine) によって抑制され、Bay K 8644 によって増強するなど、L 型カルシウム電流の特徴を有している [31, 119, 120] (図 2.12)。先に述べたようにトラフサンショウウオ [67] では L 型ではなく T 型がシナプス終末に局在することが報告されている (図 2.11) こうした終末のカルシウム電流は、アマクリン細胞からの伝達物質である GABA [67, 73] や、P 物質 [3] によって抑制されるといった報告があるなど、膜電位や細胞内外の Ca²⁺ 濃度の他に 3 次ニューロンからの伝達物質によって間接的に制御されている可能性もある。

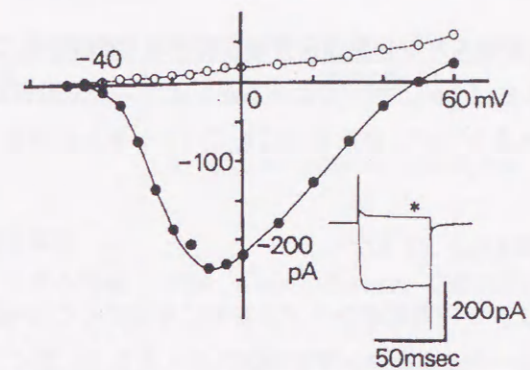


図 2.12 キンギョ網膜双極細胞の I_{Ca} [119]

inset: whole-cell 記録による電流。Co²⁺ 存在下 (*) と存在しないときで、-70mV で保持し -10mV に 50ms 脱分極したときの電流応答。ピペットは EGTA(5 mM) を含んだ Cs⁺ 溶液で満たされている。電流は 2.5Hz のローパスフィルタを通したもの。I-V relationship: ピーク電流を膜電位に対してプロット。●は標準溶液、○は Co²⁺ 存在下。I_{Ca} は●のデータから○のデータを差し引くことにより得られる。

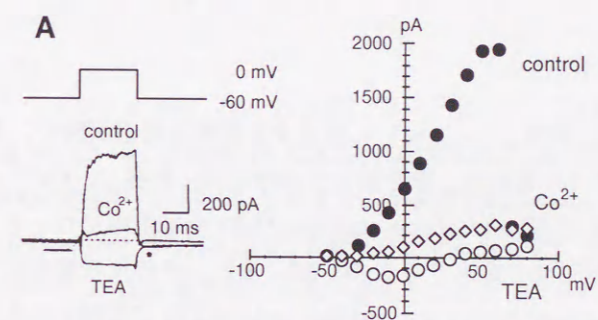


図 2.13 キンギョ網膜双極細胞の I_{K(Ca)} [94]

A: 標準状態 (control) と TEA, Co²⁺ 灌流下での記録。膜電位を 0mV に保持し、20ms 幅のバースで -60mV に固定したときの電流応答。B: control(●) と TEA(○), Co²⁺(◇) 灌流下での I-V 特性。保持電位は -60mV。電流は、電位パルスの終了直前の値をプロットした。

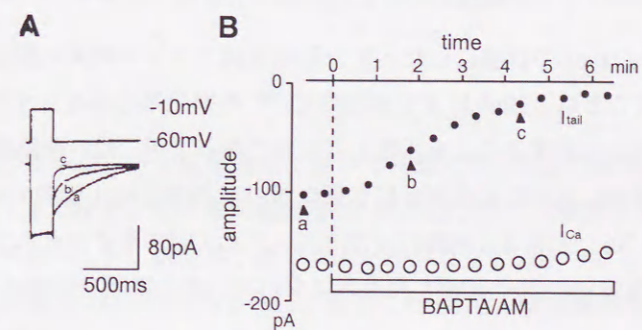


図 2.14 キンギョ網膜双極細胞の I_{Ca(Ca)} (文献 [85] より改変)

A: 膜電位を -60mV から -10mV へ 200ms 脱分極したときの電流応答。BAPTA/AM を細胞外に加える前 (a) と加えている間 (b,c) の応答を重ね書きされている。B: テイル電流振幅とカルシウム電流振幅の変化。

遅延整流性カリウム電流 (I_{Kv})

I_{Kv} を流すチャネルは、そのほとんどが細胞体に分布していると報告されている [94]。しかし、シナプス終末の膜電位固定実験結果によれば [94]、微小ではあるがシナプス終末部位にも I_{Kv} が存在する (図 2.13) ことから、細胞体に比較すると少ないが、終末部位にもこのチャネルが存在すると考えられる。

カルシウム依存性カリウム電流 ($I_{K(Ca)}$)

キンギョ網膜の双極細胞では、この電流がシナプス終末に局在することが確認されている [94]。カルシウム依存性カリウム電流は、単一チャネルコンダクタンスが大きな BK 型と、小さい SK 型がある [33]、双極細胞のこの電流は、SK 型チャネルのブロックである apmin に影響されないが BK 型チャネルのブロックである charybdotoxin によって抑制されること、また、単一チャネルコンダクタンスが 50pS (SK 型は約 10pS) と大きいことから BK 型チャネルであると考えられる [94]。その I-V 特性は、脱分極ほど電流は増加する特性を持つが、細胞内 Ca^{2+} にも依存するため、カルシウム電流が減少する膜電位では、カルシウム依存性カリウム電流もまた減少する (図 2.13)。

カルシウム依存性塩素電流 ($I_{Cl(Ca)}$)

Cl^- の平衡電位を 0mV に調整し、-70mV に固定する膜電位固定実験で、長く伸びるテイル電流が観測される (図 2.14)。このテイル電流は、膜を固定する時間幅に依存し、 Ca^{2+} バッファである 1,2-bis-(2-aminophenoxy)ethane-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid (BAPTA) を細胞内にロードすることで抑制される (図 2.14) ことからカルシウム依存性の電流である [54, 85]。また、その反転電位は Cl^- の平衡電位に依存し、4-acetamido-4'-isothiocyanatostilbene-2,2'-disulfonic acid (SITS) で抑制されることから、このテイル電流は、主にカルシウム依存性塩素電流によるものである [85]。SITS を細胞体へ部分的に作用させてもこの電流は抑制されないことから、この電流のチャネルはシナプス終末に局在していると考えられる [85]。

Na^+ - Ca^{2+} 交換系 (I_{NC})

細胞外 Na^+ 濃度を 0 (Na free) の状態にしたとき、双極細胞シナプス終末の細胞内 Ca^{2+} 濃度の減少がゆっくりになる [54]。このことは、 Na^+ による細胞内 Ca^{2+} の排出系の存在、すなわち、 Na^+ - Ca^{2+} 交換系が双極細胞シナプス終末に存在することを示唆するものである [54]。他の網膜細胞の Na^+ - Ca^{2+} 交換系には、他の神経細胞で一般的に見られる内向きに 3 個の Na^+ 、外向きに 1 個の Ca^{2+} を同時輸送する機構や [138]、内向きに 4 個の Na^+ を運ぶと同時に外向きに K^+ と Ca^{2+} をそれぞれ 1 個、輸送する機構が報告されている [60] が、双極細胞の Na^+ - Ca^{2+} 交換系について、その詳細な特性は分かっていない。

カルシウムポンプ (I_{ATP})

カルシウムポンプは Na^+ - Ca^{2+} 交換系同様、細胞外へカルシウムイオンを排出する機構であり、ATP が ADP へと分解されるときにエネルギーを使用し細胞外へカルシウムイオンを排出するものである [54]。このポンプは細胞外の pH に活動が依存する [54]。

表 2.4 双極細胞シナプス終末のイオン機構

イオン機構	抑制剤	文献
カルシウム電流		
L 型	Co, nifedipine, nifedipine	[31, 67, 119, 120]
T 型	Ni	[120]
カルシウム依存性塩素電流	SITS	[85]
カルシウム依存性カリウム電流	TEA, Charybdotoxin, 細胞内外 Cs	[94]
$Na^{2+} - Ca^{2+}$ 交換系		[54]
Ca^{2+} ポンプ	高細胞外 pH, vanadate	[54]
GABA 作動性電流		
GABA _A 受容体	picrotoxin, bicuculline	[52, 115, 118]
GABA _B 受容体	baclofen	[67]
GABA _C 受容体	picrotoxin, CACA, TACA	[23, 65, 66, 73]
glycine 作動性電流	strychnine	[2, 52, 115]

GABA 作動性電流

キンギョ [118]、トラフサンショウウオ [65]、マウス [115]、ラット [52] で、GABA 作動性電流はシナプス終末に局在していることが確認されている。双極細胞の GABA 作動性電流は、GABA_A 受容体 [52, 65, 115, 118]、GABA_B 受容体 [67]、GABA_C 受容体 [23, 65, 73] を介するものが報告されている。双極細胞によってはこれら受容体のうち 1 種類しかもたないもの [67, 115, 118]、2 種類存在するものなど [65] 違いが見られるが、これは双極細胞のサブタイプによって GABA 受容体にも違いがあるためと考えられている [65]。GABA_A および GABA_C 受容体は、塩素チャネルを制御し、GABA によって Cl^- で運ばれる電流が流れる。この電流に膜電位依存性はほとんど見られないが、脱感作と呼ばれる時間的に強く不活性化する特性を持つ [2, 65, 118]。脱感作の時定数は、GABA_A に比較して GABA_C 受容体による電流のほうが遅い [52, 65]。GABA 受容体はこのような直接塩素電流のコンダクタンスを制御するものの他に [2, 65, 115, 118]、トラフサンショウウオの GABA_B 受容体のようにカルシウム電流を細胞内情報伝達経路を介して間接的に制御する機構があると報告されている [67, 73]。

glycine 作動性電流

glycine 作動性電流は、アホロートル双極細胞において実験に用いられた細胞のうち約 80% で観測されている [2]。また、キンギョではオン型杆体双極細胞や、小さなシナプス終末を有する双極細胞のうち半数は、GABA に対して応答があるが、細胞体、終末両者が小さな双極細胞では GABA に対する感受性が低く glycine に対して応答がある [118]。このように、前述した GABA 受容体同様、glycine 受容体についても双極細胞サブタイプによって存在の有無が考えられる。glycine 受容体は、ラット [52] やマウス [115] でも電気生理学的に観測され、ヒトでも glycine を免疫組織化学的に染色すると終末が良く染まる [13] ことなどから哺乳類の網膜にも存在するものと考えられる。双極細胞のこの電流は、塩素イオンに運ばれ膜電位依存性はほとんど見られないが [2]、時間特性などその詳細な特性は分かっていない。

最後に双極細胞軸索終末に存在するイオン機構についてまとめたものを、表 2.4 に示す。

第 3 章

神経細胞のモデル化

網膜に限らず神経細胞の多くは細胞内外の電位差-膜電位で情報を表現し、その情報の処理・伝達を行っている。このため各神経細胞の活動をj知る指標として膜電位が計測・解析されてきた。細胞膜電位は、細胞内外の各種イオン濃度によって決定され、イオン濃度は細胞膜上に存在するイオン機構-イオンチャネルや輸送体などによって制御されている。すなわち、イオンチャネルを通過するイオンの流れであるイオン電流や輸送体による電流など、対象とする神経細胞のイオン機構が、その細胞の情報処理の基本であるといえる。Hodgkin と Huxley の神経スパイク生成機構の解析 [35] に代表されるように、こうした細胞のイオン機構特性と細胞全体での膜特性や処理機能の関係を解析するには、イオン機構を忠実に記述し細胞全体のモデルを構築する手法が有効である。以下、本章では双極細胞のイオン電流モデルを構築するにあたり、生理実験より得られたイオン電流特性や細胞内カルシウム機構特性を数式へ記述する手法を述べる。

3.1 神経細胞の等価回路表現

細胞膜の電気的特性を表現するモデルとして等価回路モデルが使用される。最も簡単なモデルは、膜電流 (membrane current) が時間に依存せず、膜電位に対して線形な特性を示すと仮定し、膜抵抗を純抵抗とし細胞膜を図 3.1 に示す等価回路で記述したものである。これは、膜抵抗 (membrane resistance) と膜容量 (膜容量: membrane capacitance) で細胞特性を表現する等価回路である。ここで、膜容量は膜全体での誘電率特性を、膜抵抗 (あるいは膜コンダクタンス) は、チャネルなどタンパク質分子を通過するイオンの透過率を表わしている。この等価回路で、膜のある領域を流れる全電流 I_m の微分方程式は Kirchhoff の法則 (Kirchhoff's laws) から記述される。全電流 I_m は、容量性電流 I_C と膜抵抗を流れる電流 I_i の総和であるため、

$$\begin{aligned} I_m &= I_C + I_i \\ &= C_m \frac{dV_m}{dt} + \frac{V_m}{R_i} \end{aligned} \quad (3.1)$$

ここで、 V_m は膜電位、 I_m は全膜電流 [A/cm²]、 C_m は単位膜容量 [F/cm²]、 R_i は単位膜抵抗 [Ωcm²] である。

先に述べたように、膜抵抗の物理的な意味はイオンの透過率である。神経細胞を考えた場合、多くの神経細胞は各種イオンチャネルをもち、そこを通過するイオン電流は、そのイオン電流を運ぶイオンの細胞

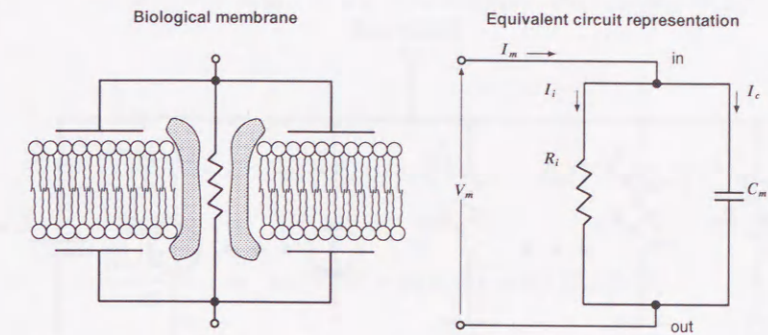


図 3.1 細胞膜の等価回路表現 [38]

内外濃度、膜電位、時間に対して依存する。神経細胞の電気的特性は、これらのイオン電流によって制御されることから、膜電位や時間依存性を示すイオン電流がある細胞の場合、膜抵抗を流れる電流をイオン電流成分で分離する必要がある。すなわち、

$$I_i = \sum_j I_j \quad (3.2)$$

である。イオン電流 I_j の記述方法には大きく 2 種類、電流源として記述する方法と、膜コンダクタンスと駆動力 (ドライビングフォース: driving force) の積として記述する方法がある。前者は、例えば Na⁺-Ca²⁺ 交換系など能動輸送系をモデル化する際に使用される。後者は、膜電位や時間依存性を持つ膜コンダクタンス g_j と、膜電位とそのイオン電流の反転電位 (reversal potential) E_j の差である駆動力によって記述する方法である。すなわち、

$$I_j = g_j(V - E_j) \quad (3.3)$$

が単一のイオン電流の式である。ここで、そのイオン電流が単一のイオンによって運ばれているとき、反転電位 E_j は、そのイオンの平衡電位と等しい。したがって、 E_j は細胞内外イオン濃度から次式の Nernst の式を用いて決定される。

$$E_j = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[C_j]_{out}}{[C_j]_{in}} \quad (3.4)$$

ここで、 R は気体定数 (gas constant)、8.31 [J/(K·mol)]、 z はそのイオンの価数、 F はファラデー定数 (Faraday's constant)、96485 [C/mol]、 T は絶対温度 [K]、 $[C_j]_{out}$ はそのイオンの細胞外濃度、 $[C_j]_{in}$ は細胞内濃度である。したがって全イオン電流 I_i は、次式によって記述する。

$$\begin{aligned} I_i &= \sum_{j=1}^{N1} I_j + \sum_{j=N1+1}^N I_j \\ &= \sum_{j=1}^{N1} g_j(V - E_j) + \sum_{j=N1+1}^N I_j \end{aligned} \quad (3.5)$$

以上の式から複数のイオン電流によって構成される神経細胞は、図 3.2 に示す電気等価回路により表現され、全膜電流 I_m は、容量性電流 I_C と全イオン電流の総和 I_i の和として求められ、次式によって記述される。

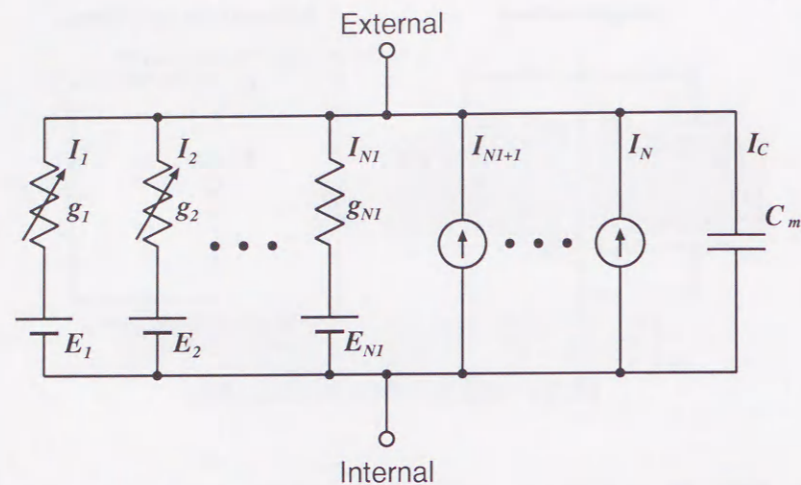


図 3.2 神経細胞の等価回路モデル

$$\begin{aligned}
 I_m &= I_C + I_i \\
 &= C_m \frac{dV_m}{dt} + \sum_{j=1}^{N1} g_j (V - E_j) + \sum_{j=N1+1}^N I_j
 \end{aligned} \quad (3.6)$$

こうした細胞膜あるいは神経細胞を、各イオン電流と容量性電流の並列接続で表現したモデルをイオン電流モデルと呼ぶ。またこのモデルは、コンダクタンスを並列接続した等価回路として記述されるため、パラレルコンダクタンスモデル (parallel conductance model) とも呼ばれる。

3.2 各イオン電流のモデル化

神経細胞あるいは細胞膜のイオン電流モデルを構築するにあたり、等価回路で電流源として表現されるイオン電流や、コンダクタンスとして表現されるイオンコンダクタンスも数式で記述する必要がある。ここでは、これらを記述する際に使用されるモデルの代表的なものについて述べる。これらのモデルを用いて、各イオンコンダクタンス (電流) についてモデル化し、それらを前述のイオン電流モデルに組み込むことで、細胞膜や単一神経細胞の膜特性を表現するモデルを構成することが可能となる。イオンコンダクタンス記述には、Goldman-Hodgkin-Katz モデル、エネルギーバリアモデル、ゲートモデルなどが提案されているが、ここでは、イオンコンダクタンスの一般的な特性である膜電位依存性及び時間依存性を良く再現できるモデルである Hodgkin-Huxley 型モデルについて説明し、そのパラメータ推定法について述べる。

3.2.1 Hodgkin-Huxley 型モデル

Hodgkin-Huxley 型モデルは、イオンコンダクタンスを膜電位 V と時間 t に依存する次式によって記述したものである。

$$g_j(V, t) = \bar{g}_j M(V, t) H(V, t). \quad (3.7)$$

ここで、 \bar{g}_j は最大イオンコンダクタンス値である。また $M(V, t)$ 、 $H(V, t)$ は、次式に示す微分方程式で記述する。

$$M(V, t) = m(V, t)^p \quad (3.8)$$

$$\frac{dm(V, t)}{dt} = \alpha_m(V)(1 - m(V, t)) - \beta_m(V)m(V, t). \quad (3.9)$$

$$H(V, t) = h(V, t)^q \quad (3.10)$$

$$\frac{dh(V, t)}{dt} = \alpha_h(V)(1 - h(V, t)) - \beta_h(V)h(V, t). \quad (3.11)$$

$m(V, t)$ 、 $h(V, t)$ はどちらも 0~1 の値をとるが、 $m(V, t)$ は V が大きいほど 1 に近づく特性をもつものに対し、 $h(V, t)$ は逆に 0 に近づく特性をもつ。このため、 $m(V, t)$ 、 $h(V, t)$ はそれぞれ活性化変数と不活性化変数と呼ばれる。

このモデルは、イオンチャネルが膜電位によってその状態が遷移する“ゲート因子”をもつとしたゲートモデルについて、次のような仮定をおいたモデルであるとも言える。

1. イオンチャネルは、膜電位に対して構造が変化する。この構造変化によって、チャネルの開口状態と閉口状態が遷移する。

$$\text{open} \xrightleftharpoons[\alpha(V)]{\beta(V)} \text{closed} \quad (3.12)$$

ここで $\alpha(V)$ 、 $\beta(V)$ は速度定数であり、一般的に非線形な特性をもつ。イオンは開口状態でゲートを通過し、閉口状態ではゲートを通過できない。

2. 開口状態、閉口状態の間の反応は 1 次である。

Hodgkin-Huxley 型モデルは、イオンコンダクタンスの特性を記述するため、イオンチャネルを複数のゲートで構成されると仮定し、ゲートの状態を、独立な活性化変数 $m(V, t)$ と不活性化変数 $h(V, t)$ の積としてモデル化したものである。すなわち、イオンチャネルが、膜電位が脱分極したとき、開口状態へと遷移する p 個の独立なゲート因子と、閉口状態へと遷移する q 個の独立なゲート因子によって構成されると考えたモデルである。

膜電位依存性

式 (3.9) より、ある一定の膜電位 V の $m(V, \infty)$ を求める。

$$\begin{aligned}
 \frac{dm(V, \infty)}{dt} &= 0 \\
 &= \alpha_m(V)(1 - m(V, \infty)) - \beta_m(V)m(V, \infty).
 \end{aligned} \quad (3.13)$$

したがって、

$$m(V, \infty) = \frac{\alpha_m(V)}{\alpha_m(V) + \beta_m(V)}. \quad (3.14)$$

$h(V, \infty)$ についても同様に求められ、

$$h(V, \infty) = \frac{\alpha_h(V)}{\alpha_h(V) + \beta_h(V)}. \quad (3.15)$$

したがって、定常時のイオンコンダクタンス値は、次式によって記述される。

$$g_j(V, \infty) = \bar{g}_j M(V, \infty) H(V, \infty). \quad (3.16)$$

$$M(V, \infty) = m(V, \infty)^p \quad (3.17)$$

$$H(V, \infty) = h(V, \infty)^q \quad (3.18)$$

時間依存性

式 (3.14) を使用して式 (3.9) を書き換えると、

$$\begin{aligned} \frac{dm(V, t)}{dt} &= \alpha_m(V)(1 - m(V, t)) - \beta_m(V)m(V, t) \\ &= \alpha_m(V) - (\alpha_m(V) + \beta_m(V))m(V, t) \\ &= (\alpha_m(V) + \beta_m(V))(m(V, \infty) - m(V, t)). \end{aligned} \quad (3.19)$$

$m(V, t)$ は、この変数分離形の微分方程式を解くことによって求まる。すなわち、

$$\begin{aligned} \int \frac{dm(-1)}{m(V, \infty) - m(V, t)} &= (-1) \int (\alpha_m(V) + \beta_m(V)) dt \\ \ln(m(V, \infty) - m(V, t)) &= -(\alpha_m(V) + \beta_m(V))t + C \\ m(V, t) &= m(V, \infty) - Ae^{-\frac{t}{\tau_m(V)}}. \end{aligned} \quad (3.20)$$

ここで、 C 、 $A = e^C$ は積分定数である。また $\tau_m(V)$ は時定数であり、

$$\tau_m(V) = \frac{1}{\alpha_m(V) + \beta_m(V)} \quad (3.21)$$

である。境界条件として、 $m(V_h, 0)$ を加えると、

$$\begin{aligned} m(V_h, 0) &= m(V, \infty) - A \cdot 1 \\ A &= m(V, \infty) - m(V_h, 0) \end{aligned}$$

よって、式 (3.20) は、

$$m(V, t) = m(V, \infty) - \{m(V, \infty) - m(V_h, 0)\}e^{-\frac{t}{\tau_m(V)}}. \quad (3.22)$$

である。活性化変数 $M(V, t)$ は、 p 個の独立なゲート因子をもつことから、 $M(V, \infty)$ と時間変化 $M(V, t)$ は、次のようになる。

$$\begin{aligned} M(V, \infty) &= m(V, \infty)^p \\ &= \left\{ \frac{\alpha_m(V)}{\alpha_m(V) + \beta_m(V)} \right\}^p \\ M(V, t) &= \left\{ m(V, \infty) - (m(V, \infty) - m(V_h, 0))e^{-\frac{t}{\tau_m(V)}} \right\}^p. \end{aligned} \quad (3.23)$$

$h(V, t)$ 、 $H(V, t)$ についても同様にして導出できる。

$$h(V, t) = h(V, \infty) - (h(V, \infty) - h(V_h, 0))e^{-\frac{t}{\tau_h(V)}}. \quad (3.24)$$

$$H(V, \infty) = h(V, \infty)^p$$

$$H(V, t) = h(V, t)^q \quad (3.25)$$

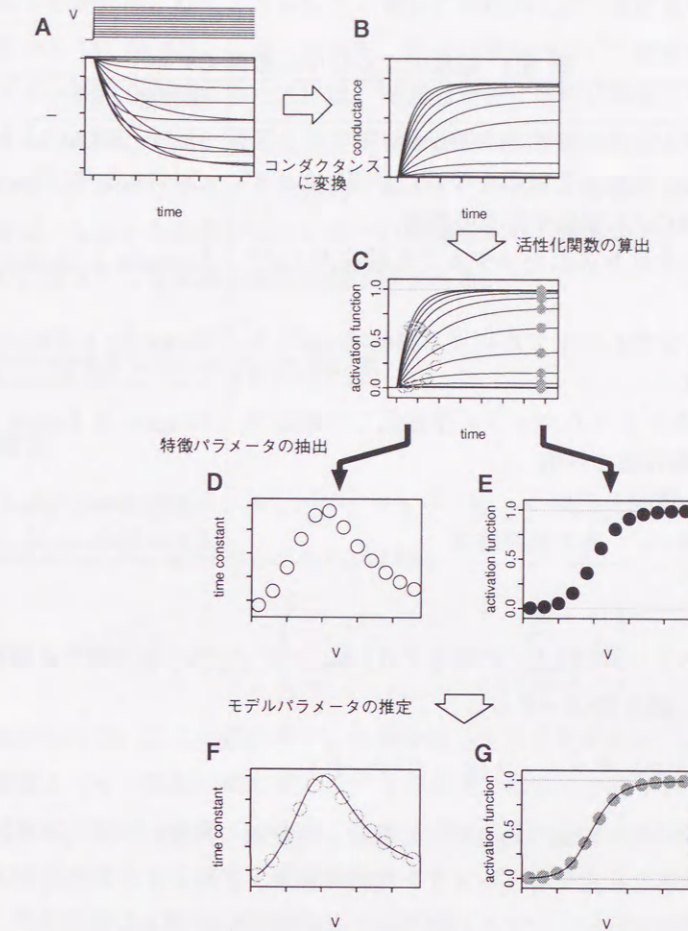


図 3.3 Hodgkin-Huxley 型モデルのパラメータ推定手順

A: 電流変化. B: コンダクタンス変化. C: 活性化関数 $m(V, t)$. D: 時定数 $\tau_m(V)$. E: 活性化関数の定常値 $m(V, \infty)$. F, G: モデルパラメータを推定. 実線はモデル出力.

膜電位固定実験とパラメータの推定

膜電位固定実験とは、細胞をある膜電位 (保持電位) V_h から、別の電位 V_c へとステップ状に変化させたとき、電位を V_c に保つために細胞に流れる電流を記録する、フィードバックの概念に基づく実験プロトコルである。細胞の各イオン電流は、適切な薬物を細胞外もしくはバッチ電極内に添加することや、保持電位を変えることによって単離し記録されている。こうして得られる各イオン電流の実験データより、Hodgkin-Huxley 型モデルのパラメータを推定する手法について述べる。簡単のため、不活性化成分がない図 3.3 に示す時間依存性、膜電位依存性を示すイオン電流のモデル化について考える。その手順を以下に示す。

- 1) イオン電流をドライビングフォースで割り、コンダクタンス変化を求める (図 3.3A→B)。
- 2) コンダクタンス変化を正規化し $m(V, t)$ を求める (図 3.3B→C)。
- 3) 特徴パラメータである時定数 $\tau_m(V)$ 、活性化関数の定常値 $m(V, \infty)$ を抽出する (図 3.3C→D,E)。

表 3.1 細胞内カルシウム機構モデル

内容	研究者
カルシウムチャネル近傍の濃度分布を予測	Simon & Llinás, 1985 [104]
球状の細胞を仮定し細胞内を何層もの殻に分割したモデルによる、細胞内 Ca ²⁺ 変化や分布の解析	Carnevale & Rosenthal, 1992 [9]
アクティブゾーンをとり入れたモデルでの細胞内 Ca ²⁺ と伝達物質放出	Yamada & Zucker, 1992 [136]
細胞内を何層にも分割したモデルによる細胞内 Ca ²⁺ とバッファ濃度変化	Nowycky & Pinter, 1993 [84]
吸着機能が高いカルシウムバッファ存在化での細胞内 Ca ²⁺ と Ca ²⁺ 振動現象の解析	Wagner & Keizer, 1994 [132]
杆体視細胞イオン電流モデル	Kamiyama et al., 1996 [41, 150]
水平細胞の細胞内 Ca ²⁺ 濃度調節機構	Hayashida et al., 1998 [29]

4) 図 3.3D,E のデータと、式 (3.14)、(3.21) より、 $\alpha_m(V)$ 、 $\beta_m(V)$ を記述する関数を決定し、そのパラメータを推定する (図 3.3D,E→F,G)。

5) I-V 特性から、最大コンダクタンス値 \bar{g}_j を推定する。

活性化、不活性化を示すイオン電流の場合は、定常値、時定数の特徴パラメータを抽出する方法が複雑になる。また、こうした複雑な特性を有するイオン電流の場合、正確にその特性を記述するためには、条件を変更した膜電位固定実験を行いデータを計測することが望ましい [140]。

3.2.2 細胞内 Ca²⁺ 濃度

細胞内の Ca²⁺ は筋収縮、伝達物質やホルモンの分泌、酵素活性、膜のイオン透過性などの重要な細胞機能に関係している [105, 141, 143, 152]。この Ca²⁺ は、カルシウムチャネルが不活性化している状態の細胞で、細胞外濃度が mM オーダであるのに対し、細胞内濃度は 0.1μM 以下であると考えられており、細胞内外で大きく濃度差がある。このように細胞内外の濃度差が大きいことから、カルシウムチャネル開口時、細胞内深部の細胞外濃度が最大 1μM 程度上昇するのに対し、チャネル近傍では 100μM 以上に達し、細胞内 Ca²⁺ 濃度分布が著しく異なっていると予想され (マイクロドメイン仮説)、イオン電流特性や伝達物質放出に深く関与していると考えられている [104, 111, 143]。イオン電流は、細胞内外の濃度にも依存するため、カルシウム電流や細胞内 Ca²⁺ によって流量が調整されるイオン電流を正確にモデル化するには、細胞膜近傍のイオン濃度変化まで考慮することが必須である。このため、細胞内 Ca²⁺ 濃度変化を実現する数理モデルがいくつか考えられ、神経細胞モデルに用いられている。表 3.1 に、その代表的なモデルを示す。これらのモデルの多くは、細胞内を複数の領域に分割し、領域間での Ca²⁺ の拡散を記述することによって細胞内 Ca²⁺ 濃度分布を表現したものである。また、細胞内のミトコンドリアやシナプス小胞体、カルシウム結合タンパク質など細胞内カルシウムストア機構を細胞内 Ca²⁺ 濃度を調整する機構として導入している。実際、生理実験では、カルシウム電流や Ca²⁺ 排出系など、電気発生的なイオン機構は、膜電位固定実験などによって計測される。また、近年、細胞内 Ca²⁺ 濃度変化も、Fura-2 などを用いて蛍

光色素により計測することが可能になり、カルシウム電流と細胞内 Ca²⁺ 濃度変化の同時計測結果も数多く報告されるようになった [31, 54, 85]。しかしながら、現在の細胞内 Ca²⁺ 濃度の蛍光測定技術では、例えば先のマイクロドメイン仮説を確認するためには、時間分解能、空間分解能とも十分なレベルに達していない。このためモデル化に際しては、膜電位固定実験や細胞内の平均的な Ca²⁺ 濃度変化など、得られている実験結果を用いてモデルのパラメータを推定することになる。この他、蛍光色素を細胞内に添加することから、測定対象は、*intact* な状態ではないなどの問題もあり、細胞内 Ca²⁺ に関する細胞特性を詳細に明らかにするためにはさらなる実験技術の発展が望まれる。

3.3 膜電流固定実験とモデルの評価

3.3.1 膜容量の推定

各イオン電流およびカルシウム機構をモデル化することで、図 3.2 の等価回路で表現される神経細胞のモデルが構築できる。膜電位 V_m は、全電流を求めた式 (3.6) より、

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = - \left(\sum_{j=1}^{N1} g_j (V - E_j) + \sum_{j=N1+1}^N I_j \right). \quad (3.26)$$

を解くことによって求められる。ここで膜容量 C_m の値を推定する必要がある。通常、ホールセルパッチクランプ実験時に、細胞とパッチ電極の間のギガシール形成後、細胞膜を破りホールセル状態を形成するが、この状態で容量性電流が観測されることから、これを用いて膜容量 C_m を求めることが可能である。また、他の手法として、次のような方法もあげられる。イオンコンダクタンスが膜電位や時間に関わらず一定である条件の時、等価回路は、簡単に膜抵抗 R_i と膜容量 C_m からなる RC 回路とみなすことができる (図 3.1)。このことから、各イオン電流が膜電位や時間依存性を示さない小さい範囲で膜電位変化を起こす膜電流固定実験を行い、そのときの電位変化の時定数から膜容量 C_m を推定できる。また、cm² あたりの容量 (単位膜容量) は、神経細胞に関わらずほぼ一定であることが知られており、その値は、およそ 1μF/cm² である [38]。細胞の形状が分かる場合、これを用いてその表面積から C_m のおよその値を算出することも可能である。

3.3.2 膜電流固定実験

膜電流固定実験とは、電流注入によって細胞に刺激を与えそのときの膜電位変化を計測する生理実験である。等価回路で考えると、図 3.2 の等価回路に並列に注入電流源を加えた回路になり、その時の膜電位変化は、式 (3.26) に注入電流 I_{ex} を加えた次式であたえられる。

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = I_{ex} - \left(\sum_{j=1}^{N1} g_j (V - E_j) + \sum_{j=N1+1}^N I_j \right). \quad (3.27)$$

3.2.1 節にて述べたように、各イオン電流のパラメータは膜電位固定実験結果から推定されるが、膜電流固定実験は、このように細胞がほぼ通常の状態に近いことから、実験結果とシミュレーション結果を比較することによって、細胞モデルのパラメータの妥当性を検証することができる。

第 4 章

双極細胞細胞体のイオン電流モデル

双極細胞は、外網状層において視細胞や水平細胞と、さらに内網状層においてアマクリン細胞や神経節細胞と結合している。双極細胞を含む網膜情報処理機構を解析する際に、双極細胞自身が持つイオン機構の特性を明らかにすることは重要である。第2章で述べたように、単離細胞やスライス標本を用いた生理実験により、双極細胞に存在するイオン機構の種類や特性が明らかにされつつある。そうした多くの研究者の弛まぬ努力の結果、双極細胞は、樹状突起、細胞体、シナプス終末の各部位でイオン機構が異なっていることが分かってきた。以下では第3章で述べた手法を用いて、双極細胞の各イオン電流の膜電位固定実験結果に基づき双極細胞細胞体のイオン電流モデルを構築する。

4.1 双極細胞細胞体のイオン電流

第2章 2.3.4節で述べたように、双極細胞細胞体のイオン電流の種類およびその特性は、適当な薬物投与下で単離、計測されており、双極細胞の細胞体には少なくとも以下の5種類のイオン電流が存在する。

- 1) 遅延整流性カリウム電流 (I_{Kv})
- 2) 一過性外向きカリウム電流 (I_A)
- 3) カルシウム電流 (I_{Ca})
- 4) カルシウム依存性カリウム電流 ($I_{K(Ca)}$)
- 5) 内向き整流性電流 (I_h)

以下では主に Kaneko らのキンギョ網膜の単離双極細胞膜電位固定実験結果 [50] を用いて各イオン電流のモデルを記述し、双極細胞細胞体のイオン電流モデルを構築する。

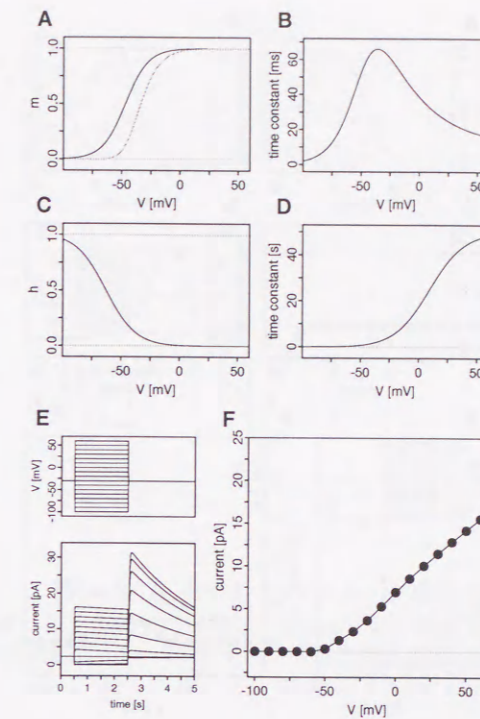


図 4.1 I_{Kv} モデルのパラメーター特性

A: $m_{Kv\infty}$ (実線), $m_{Kv\infty}^3$ (薄い線), B: $\tau_{m_{Kv}}$, C: $h_{Kv\infty}$, D: $\tau_{h_{Kv}}$, E: -30mV に保持し, -100mV から 60mV まで 10mV ステップ (上) で膜を固定したときの電流応答 (下). F: コマンドパルス終了直前 (2.49s) の電流値をプロットした I-V 特性.

4.2 各イオン電流のモデル化

4.2.1 遅延整流性カリウム電流、 I_{Kv}

I_{Kv} は、図 2.8 に示すように、活性化、不活性化する成分を持つことから、次式に示す Hodgkin-Huxley 型の微分方程式により記述し、Kaneko らの膜電位固定実験データ [50] をもとにそのパラメータを推定した。

$$\alpha_{m_{Kv}} = \frac{75}{\exp\left(-\frac{V-25}{17}\right) + 1} \quad (4.1)$$

$$\beta_{m_{Kv}} = 0.15 \exp\left(-\frac{V}{14}\right) \quad (4.2)$$

$$\frac{dm_{Kv}}{dt} = \alpha_{m_{Kv}} \cdot (1 - m_{Kv}) - \beta_{m_{Kv}} \cdot m_{Kv} \quad (4.3)$$

$$\alpha_{h_{Kv}} = \frac{1500}{\exp\left(\frac{V+92}{7}\right) + 1} \quad (4.4)$$

$$\beta_{h_{Kv}} = \frac{80}{\exp\left(\frac{V+100}{15}\right) + 1} + 0.02 \quad (4.5)$$

$$\frac{dh_{Kv}}{dt} = \alpha_{h_{Kv}} \cdot (1 - h_{Kv}) - \beta_{h_{Kv}} \cdot h_{Kv} \quad (4.6)$$

$$g_{Kv} = \bar{g}_{Kv} \cdot m_{Kv}^3 \cdot h_{Kv} \quad (4.7)$$

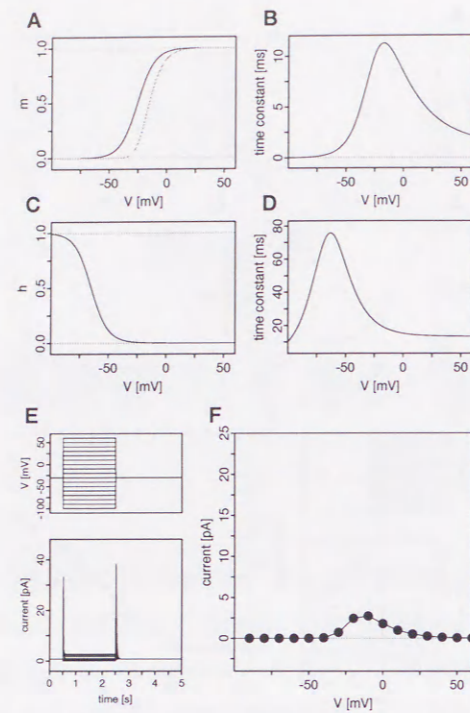


図 4.2 I_A モデルのパラメータ特性

A: $m_{A\infty}$ (実線), $m_{A\infty}^3$ (薄い線), B: τ_{m_A} , C: $h_{A\infty}$, D: τ_{h_A} , E: -30mV に保持し, -100mV から 60mV まで 10mV ステップ (上) で膜を固定したときの電流応答 (下), F: コマンドパルス終了直前 (2.49s) の電流値をプロットした I-V 特性.

$$I_{Kv} = g_{Kv} \cdot (V - E_K) \quad (4.8)$$

- $\alpha_{m_{Kv}}$: 速度定数 [s^{-1}]
- $\beta_{m_{Kv}}$: 速度定数 [s^{-1}]
- m_{Kv} : 活性化変数
- $\alpha_{h_{Kv}}$: 速度定数 [s^{-1}]
- $\beta_{h_{Kv}}$: 速度定数 [s^{-1}]
- h_{Kv} : 不活性化変数
- g_{Kv} : コンダクタンス [nS]
- \bar{g}_{Kv} : 最大コンダクタンス, 2.0 [nS]
- I_{Kv} : 遅延整流性カリウム電流, [pA]
- E_K : K^+ の平衡電位, -58 [mV]

I_{Kv} モデルの $\alpha_{m_{Kv}}$, $\beta_{m_{Kv}}$, $m_{Kv\infty}$, $\tau_{m_{Kv}}$, $\alpha_{h_{Kv}}$, $\beta_{h_{Kv}}$, $h_{Kv\infty}$ および $\tau_{h_{Kv}}$ の特性と、シミュレーション結果を図 4.1 に示す。

4.2.2 一過性外向きカリウム電流、 I_A

I_A は活性化と不活性化の 2 種類の成分からなる電流である (2.3.4 節参照)。 I_A モデルは次式に示す、Hodgkin-Huxley 型モデルによって記述した。パラメータは、Lasater の膜電位固定実験結果 [62] をもとに推定した。

$$\alpha_{m_A} = \frac{1200}{1 + \exp\left(-\frac{v-50}{28}\right)} \quad (4.9)$$

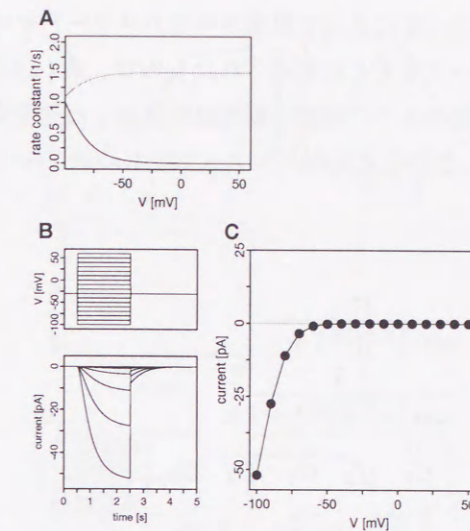


図 4.3 I_h モデルのパラメータ特性

A: α_h (実線), β_h (薄い線), B: -30mV に保持し, -100mV から 60mV まで 10mV ステップ (上) で膜を固定したときの電流応答 (下). C: コマンドパルス終了直前 (2.49s) の電流値をプロットした I-V 特性.

$$\beta_{m_A} = 6 \exp\left(-\frac{V}{10}\right) \quad (4.10)$$

$$\frac{dm_A}{dt} = \alpha_{m_A} \cdot (1 - m_A) - \beta_{m_A} \cdot m_A \quad (4.11)$$

$$\alpha_{h_A} = 0.045 \exp\left(-\frac{V}{13}\right) \quad (4.12)$$

$$\beta_{h_A} = \frac{75}{1 + \exp\left(-\frac{V-50}{15}\right)} \quad (4.13)$$

$$\frac{dh_A}{dt} = \alpha_{h_A} \cdot (1 - h_A) - \beta_{h_A} \cdot h_A \quad (4.14)$$

$$g_A = \bar{g}_A \cdot m_A^3 \cdot h_A \quad (4.15)$$

$$I_A = g_A \cdot (V - E_K) \quad (4.16)$$

- α_{m_A} : 速度定数 [s^{-1}]
- β_{m_A} : 速度定数 [s^{-1}]
- m_A : 活性化変数
- α_{h_A} : 速度定数 [s^{-1}]
- β_{h_A} : 速度定数 [s^{-1}]
- h_A : 不活性化変数
- g_A : コンダクタンス [nS]
- \bar{g}_A : チャンネルの最大コンダクタンス, 13 [nS]
- I_A : 一過性外向きカリウム電流 [pA]

I_A モデルの α_{m_A} , β_{m_A} , $m_{A\infty}$, τ_{m_A} , α_{h_A} , β_{h_A} , $h_{A\infty}$ および τ_{h_A} の特性を図 4.2 に示す。

4.2.3 過分極活性型内向き電流、 I_h

ここでは、キンギョなどで観測されているゆっくりと活性化する I_h (2.3.4 節参照) をモデル化した。この電流のクランプ終了時に見られるテイル成分の時間および膜電位依存性は、Hodgkin-Huxley 型方程式で

は表現できない。そこで、Barnesら [4] によって提案されたカスケードモデルにより記述した。このモデルは、杆体視細胞で計測されたデータをもとに記述されたもので、式 (4.17)~(4.24) に示すように2つのクローズ状態と3つのオープン状態の5つの状態を膜電位に依存した速度定数 (α_h, β_h) で変位することにより I_h が制御されるものである。このモデルのパラメータを Kaneko らの膜電位固定実験結果 [50] をもとに推定し使用した。

$$\alpha_h = \frac{18}{\exp\left(\frac{V+105}{10}\right) + 1} \quad (4.17)$$

$$\beta_h = \frac{1.5}{\exp\left(-\frac{V+115}{15}\right) + 1} \quad (4.18)$$

$$M = \begin{bmatrix} C_1 & C_2 & O_1 & O_2 & O_3 \end{bmatrix}^t \quad (4.19)$$

$$K = - \begin{bmatrix} 4\alpha_h & -\beta_h & 0 & 0 & 0 \\ 4\alpha_h & 3\alpha_h + \beta_h & -2\beta_h & 0 & 0 \\ 0 & -3\alpha_h & 2\alpha_h + 2\beta_h & -3\beta_h & 0 \\ 0 & 0 & -2\alpha_h & \alpha_h + 3\beta_h & -4\beta_h \\ 0 & 0 & 0 & -\alpha_h & 4\beta_h - h \end{bmatrix} \quad (4.20)$$

$$\frac{dM}{dt} = KM \quad (4.21)$$

$$m_h = O_1 + O_2 + O_3 \quad (4.22)$$

$$g_h = \bar{g}_h \cdot m_h \quad (4.23)$$

$$I_h = g_h \cdot (V - E_h) \quad (4.24)$$

- α_h : 速度定数 [s^{-1}]
- β_h : 速度定数 [s^{-1}]
- m_h : 膜電位依存性の活性化変数
- g_h : コンダクタンス [nS]
- I_h : 過分極活性型内向き電流 [pA]
- \bar{g}_h : 最大コンダクタンス, 0.98 [nS]
- E_h : I_h の反転電位, -17.7 [mV]

図 4.3に、 α_h, β_h の膜電位依存特性を示す。

4.2.4 カルシウム電流、 I_{Ca}

2.3.4節で述べたように細胞体のカルシウム電流にはL型カルシウムチャネルによるものとT型カルシウムチャネルによるものが報告されている。ここでは、キンギョなどで観測されているL型カルシウムチャネルを通る電流のみをモデル化した。Hogkin-Huxley 型の活性化変数で、電流の活性化フェーズを記述した。 Ca^{2+} の反転電位は、細胞膜直下の Ca^{2+} 濃度 ($[Ca]_s$) と細胞外 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca]_{ex}$) より Nernst の式によって決定される。他の細胞 [116, 147] で測定されたこの電流は、数 ms で活性化した後、ゆるやかに不活性化する時間特性を示す。こうした特性は双極細胞の実験結果 [50, 62, 120] では顕著に現れていないことから、双極細胞のカルシウム電流では大きく不活性化はしないと考え、時間的に不活性化する特性は省略した。第2章 2.3.4、2.3.5節で述べたように、カルシウムチャネルはシナプス終末に局在し、細胞体部分にはほとんど I_{Ca} は存在しないことが考えられるが、Kaneko らの膜電位固定実験結果 [50] では最大 10pA の電流が観測されているため、これをもとにモデルのパラメータを推定した。

$$\alpha_{mCa} = \frac{1200(82 - V)}{\exp\left(-\frac{V-82}{25}\right) - 1} \quad (4.25)$$

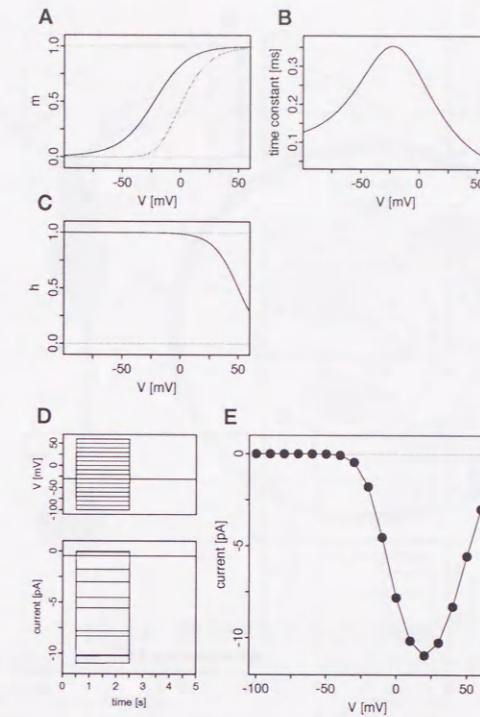


図 4.4 I_{Ca} モデルのパラメータ特性

A: $m_{Ca\infty}$ (実線), $m_{Ca\infty}^4$ (薄い線), B: τ_{mCa} , C: h_{Ca} , D: -30mV に保持し, -100mV から 60mV まで 10mV ステップ (上) で膜を固定したときの電流応答 (下). E: コマンドパルス終了直前 (2.49s) の電流値をプロットした I-V 特性.

$$\beta_{mCa} = \frac{4000}{\exp\left(\frac{V+55}{55}\right) + 1} \quad (4.26)$$

$$\frac{dm_{Ca}}{dt} = \alpha_{mCa} \cdot (1 - m_{Ca}) - \beta_{mCa} \cdot m_{Ca} \quad (4.27)$$

$$h_{Ca} = \frac{\exp\left(-\frac{V-30}{11}\right)}{\exp\left(-\frac{V-30}{11}\right) + 1} \quad (4.28)$$

$$g_{Ca} = \bar{g}_{Ca} \cdot m_{Ca}^4 \cdot h_{Ca} \quad (4.29)$$

$$E_{Ca} = 12.9 \log \left(\frac{[Ca]_{ex}}{[Ca]_s} \right) \quad (4.30)$$

$$I_{Ca} = g_{Ca} \cdot (V - E_{Ca}) \quad (4.31)$$

- α_{mCa} : 速度定数 [s^{-1}]
- β_{mCa} : 速度定数 [s^{-1}]
- m_{Ca} : 活性化変数
- h_{Ca} : 不活性化変数
- g_{Ca} : コンダクタンス [nS]
- \bar{g}_{Ca} : チャネルの最大コンダクタンス, 1.1 [nS]
- E_{Ca} : I_{Ca} の反転電位 [mV]
- $[Ca]_{ex}$: 細胞外 Ca^{2+} 濃度, 2.5×10^3 [μM]
- $[Ca]_s$: 細胞膜付近の細胞内カルシウム濃度, [μM]
- I_{Ca} : カルシウム電流 [pA]

図 4.4に、 $\alpha_{mCa}, \beta_{mCa}, m_{Ca\infty}, \tau_{mCa}$ および h_{Ca} の膜電位依存特性と、膜電位固定シミュレーション結果を図 4.4に示す。

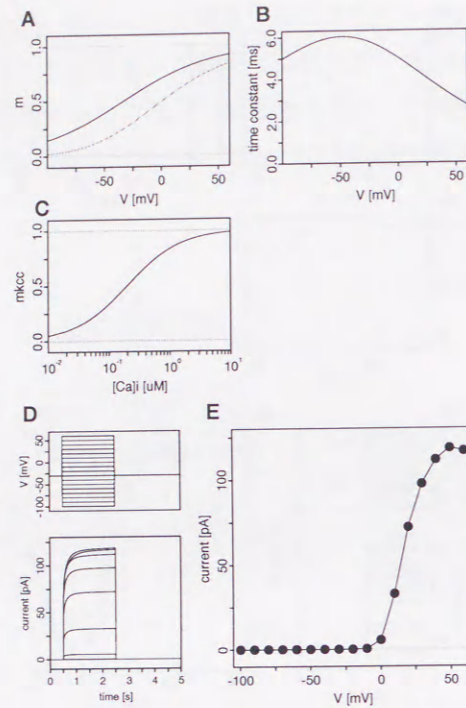


図 4.5 $I_{K(Ca)}$ モデルのパラメータ特性

A: $m_{Kc\infty}$ (実線), $m_{Kc\infty}^2$ (薄い線), B: $\tau_{m_{Kc}}$, C: m_{Kcc} , D: -30mV に保持し, -100mV から 60mV まで 10mV ステップ (上) で膜を固定したときの電流応答 (下). E: コマンドパルス終了直前 (2.49s) の電流値をプロットした I-V 特性.

4.2.5 カルシウム依存性カリウム電流, $I_{K(Ca)}$

$I_{K(Ca)}$ は、膜電位と細胞内 Ca^{2+} 濃度に依存していることから、次式に示すように活性化変数 m_{Kc} 、 m_{Kcc} の中に膜電位および Ca^{2+} 濃度に依存した項を含ませることでモデル化した。

$$\alpha_{m_{Kc}} = \frac{24 \cdot (230 - V)}{\exp\left(\frac{230 - V}{62}\right) - 1} \quad (4.32)$$

$$\beta_{m_{Kc}} = 24 \exp\left(-\frac{V}{75}\right) \quad (4.33)$$

$$\frac{dm_{Kc}}{dt} = \alpha_{m_{Kc}} \cdot (1 - m_{Kc}) - \beta_{m_{Kc}} \cdot m_{Kc} \quad (4.34)$$

$$m_{Kcc} = \frac{[\text{Ca}]_s^3}{[\text{Ca}]_s^3 + 0.4^3} \quad (4.35)$$

$$g_{Kc} = \bar{g}_{Kc} \cdot m_{Kc}^2 \cdot m_{Kcc} \quad (4.36)$$

$$I_{K(Ca)} = g_{Kc} \cdot (V - E_k) \quad (4.37)$$

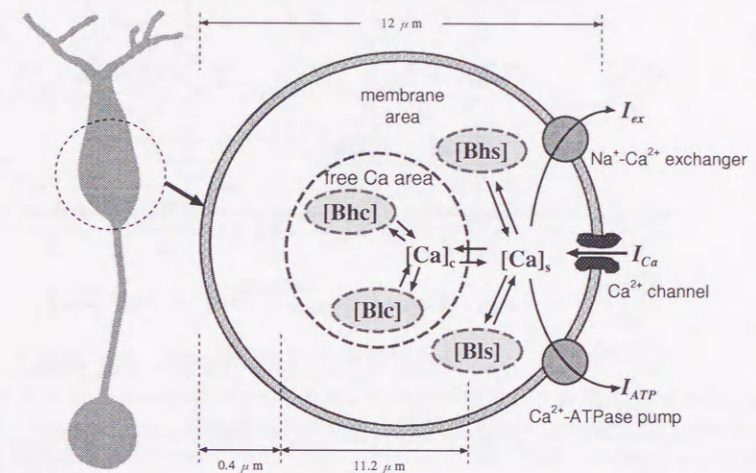


図 4.6 細胞内カルシウム機構

細胞内を細胞膜直下と細胞内部の 2 個のコンパートメント ($[\text{Ca}]_s$, $[\text{Ca}]_c$) に分割し、それぞれに対して流入 (I_{Ca}), 排出 (I_{ex} , I_{ATP}), カルシウムバッファ ([Bhs], [Bls], [Bhc], [Blc]) の吸着, 遊離および領域間の拡散による Ca^{2+} 濃度を調節する機構を導入。

$\alpha_{m_{Kc}}$: 速度定数 [s^{-1}]
$\beta_{m_{Kc}}$: 速度定数 [s^{-1}]
m_{Kc}	: 膜電位依存性の活性化変数
m_{Kcc}	: 細胞内 Ca^{2+} 依存性の活性化変数
g_{Kc}	: コンダクタンス [nS]
\bar{g}_{Kc}	: 最大コンダクタンス, 8.5 [nS]
$I_{K(Ca)}$: カルシウム依存性カリウム電流 [pA]

図 4.5 に、 $\alpha_{m_{Kc}}$ 、 $\beta_{m_{Kc}}$ 、 $m_{Kc\infty}$ 、 $\tau_{m_{Kc}}$ の膜電位依存特性と膜電位固定シミュレーション結果を示す。 I_{Ca} 同様、 $I_{K(Ca)}$ もまたシナプス終末に局在が報告されているが (第 2 章 2.3.5 節参照)、Kaneko らの膜電位固定実験結果 [50] によれば、終末部位に比較して振幅が約 1/10 ではあるが、 $I_{K(Ca)}$ が報告されていることから、このデータをもとにモデルパラメータを推定した。

4.2.6 細胞内 Ca^{2+} 濃度

第 3 章 3.2.2 節にて述べたように、 Ca^{2+} は細胞内外の濃度差が大きいことから、細胞内 Ca^{2+} 濃度分布には著しい不均一性があり、これがカルシウム依存性電流の特性に影響を及ぼすと考えられる。そこで、図 4.6 に示す双極細胞の膜特性を表現できるカルシウム機構モデルを構築した。このモデルは、細胞内を細胞膜直下と細胞内深部の 2 つの領域に分割し、それぞれに対して Ca^{2+} 濃度を調節する機構を導入したものであり、視細胞の内節モデル [150] におけるカルシウム機構モデルと同一構造のものである。以下に細胞内カルシウム機構のモデル記述を示す。双極細胞における細胞内 Ca^{2+} 濃度変化は、Fura-2 蛍光測定装置を用いた実験により調べられている [31, 120]。しかしながら、これら実験データは、パラメータ推定に用いるためにはデータが不足していることや、 Ca^{2+} 濃度を調節する各種機構に関しては、モデル化に必要な知見が未だ十分に得られていない。そこで、カルシウムバッファ ([Bhs], [Bls], [Bhc], [Blc]) のパラメータ値は、視細胞の内節モデルで用いられているものと同様の値を使用した。また、排出系 (I_{ex} , I_{ATP}) のパ

ラメータは、視細胞の実験結果から推定し、その最大電流値は、細胞内濃度 $[Ca]_c$ の最大値が $1\mu\text{M}$ を越えない値になるよう推定した。その他の各パラメータは、Kanekoらの膜電位固定実験結果を満足するものに推定した。

$$\frac{d[Ca]_s}{dt} = -\frac{I_{Ca} + I_{ex} + I_{ATP}}{2F \cdot V_s} \cdot 10^{-6} - \frac{D_{Ca} \cdot S_{sc}}{V_s \cdot d_{sc}} ([Ca]_s - [Ca]_c) - \frac{d[Bls]}{dt} - \frac{d[Bhs]}{dt} \quad (4.38)$$

$$\frac{d[Ca]_c}{dt} = \frac{D_{Ca} \cdot S_{sc}}{V_c \cdot d_{sc}} ([Ca]_s - [Ca]_c) - \frac{d[Blc]}{dt} - \frac{d[Bhc]}{dt} \quad (4.39)$$

$$\frac{d[Bls]}{dt} = \alpha_{Bl} \cdot [Ca]_s \cdot ([Bl]_{\max} - [Bls]) + \beta_{Bl} \cdot [Bls] \quad (4.40)$$

$$\frac{d[Bhs]}{dt} = \alpha_{Bh} \cdot [Ca]_s \cdot ([Bh]_{\max} - [Bhs]) + \beta_{Bh} \cdot [Bhs] \quad (4.41)$$

$$\frac{d[Blc]}{dt} = \alpha_{Bl} \cdot [Ca]_c \cdot ([Bl]_{\max} - [Blc]) + \beta_{Bl} \cdot [Blc] \quad (4.42)$$

$$\frac{d[Bhc]}{dt} = \alpha_{Bh} \cdot [Ca]_c \cdot ([Bh]_{\max} - [Bhc]) + \beta_{Bh} \cdot [Bhc] \quad (4.43)$$

$$I_{ex} = \frac{J_{ex} \cdot ([Ca]_s - [Ca]_{\min})}{[Ca]_s - [Ca]_{\min} + 2.3} \cdot \exp\left(-\frac{V + 14}{70}\right) \quad (4.44)$$

$$I_{ATP} = \frac{J_{ATP} \cdot ([Ca]_s - [Ca]_{\min})}{[Ca]_s - [Ca]_{\min} + 0.5} \quad (4.45)$$

- $[Ca]_s$: 細胞膜近傍の Ca^{2+} 濃度 [mM]
- $[Ca]_c$: 細胞内深部の Ca^{2+} 濃度 [mM]
- F : ファラデー定数, 9.65×10^5 [c/mol]
- D_{Ca} : Ca^{2+} の拡散定数, $\times 10^{-8}$ [l/s]
- V_s : 細胞膜近傍の容積, 1.69×10^{-13} [l]
- V_c : 細胞内深部の容積, 7.36×10^{-13} [l]
- S_{sc} : 細胞膜近傍部と細胞内深部の境界面積, 4.00×10^{-10} [m²]
- d_{sc} : 細胞膜近傍部と細胞内深部の距離, 5.90×10^{-6} [m]
- [Bls] : 細胞膜近傍の低親和性バッファ Ca^{2+} 吸収機質濃度 [μM]
- [Blc] : 細胞内深部の低親和性バッファ Ca^{2+} 吸収機質濃度 [μM]
- [Bl]_{max} : 低親和性バッファの最大 Ca^{2+} バッファ濃度, 400 [μM]
- α_{Bl} : 低親和性バッファの Ca^{2+} 吸着の速度定数, 0.4 [$s^{-1}\mu\text{M}^{-1}$]
- β_{Bl} : 低親和性バッファの Ca^{2+} 遊離の速度定数, 0.2 [$s^{-1}\mu\text{M}^{-1}$]
- [Bhs] : 細胞膜近傍の高親和性バッファ Ca^{2+} 吸収機質濃度 [μM]
- [Bhc] : 細胞内深部の高親和性バッファ Ca^{2+} 吸収機質濃度 [μM]
- [Bh]_{bhmax} : 高親和性バッファの最大 Ca^{2+} バッファ濃度, 300 [μM]
- α_{Bh} : 高親和性バッファの Ca^{2+} 吸着の速度定数, 100 [$s^{-1}\mu\text{M}^{-1}$]
- β_{Bh} : 高親和性バッファの Ca^{2+} 遊離の速度定数, 90 [$s^{-1}\mu\text{M}^{-1}$]
- I_{ex} : Na^+ - Ca^{2+} 交換系による電流 [pA]
- J_{ex} : Na^+ - Ca^{2+} 交換系による最大排出電流, 9.0 [pA]
- [Ca]_{min} : 排出電流の最小排出濃度, 0.05 [μM]
- I_{ATP} : カルシウムポンプによる電流 [pA]
- J_{ATP} : カルシウムポンプによる最大排出電流, 9.5 [pA]

4.2.7 漏れ電流、 I_l

I_l は、双極細胞にある各イオンチャネルを薬物で全てブロックした時に測定される電流である。漏れ電流は膜電位に対して比例する特性を有しているため、次式によって記述した。

$$I_l = \bar{g}_l \cdot (V - E_l) \quad (4.46)$$

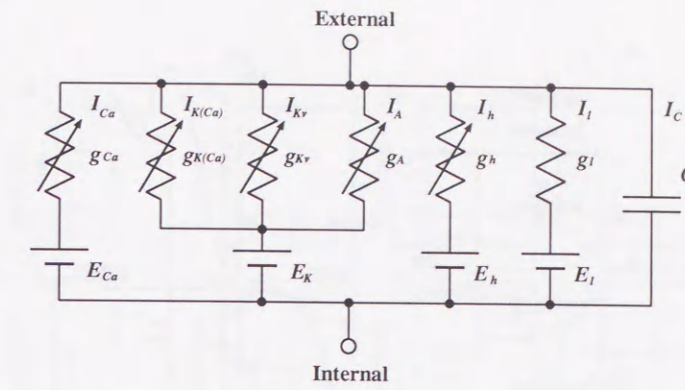


図 4.7 単離双極細胞の等価回路モデル

I_{Ca} : カルシウム電流 (Calcium current), $I_{K(Ca)}$: カルシウム依存性カリウム電流 (Calcium dependent potassium current), $I_{K(V)}$: 遅延整流性カリウム電流 (Delayed rectifying potassium current), I_h : 内向き整流性電流 (Inward rectifying current), I_l : 漏れ電流 (Leakage current), I_C : 容量性電流 (Capacitive current).

- I_l : 漏れ電流 [pA]
- \bar{g}_l : 最大コンダクタンス, 0.15 [nS]
- E_l : I_l の反転電位, -30 [mV]

4.2.8 容量性電流、 I_C

細胞膜容量 C は、膜電流固定実験結果の時間および振幅特性を最も良く近似する $C = 8$ [pF] と決定した。

4.3 双極細胞モデルのシミュレーション

前節で構築した双極細胞のイオン電流モデル記述を付録 A にまとめておく。

4.3.1 膜電位固定シミュレーション

各イオン電流を用いることで、単離双極細胞は図 4.7 で表現できる。この回路より、膜電位 V は次式で与えられる。

$$C \frac{dV}{dt} = I - (I_{Kv} + I_h + I_{Ca} + I_{K(Ca)} + I_A + I_l) \quad (4.47)$$

膜電位固定状態では $dV/dt = 0$ であるため、膜電位固定下における双極細胞の全電流 (I) は次式によって求められる。

$$I = I_{Ca} + I_{Kv} + I_A + I_h + I_{K(Ca)} + I_l \quad (4.48)$$

推定したパラメータが妥当な値であるか評価するために、構築したモデルを用いて Kanekoら [50] の生理実験と同様の条件で膜電位固定シミュレーションを行った。ここで、この実験で用いられているキンギョ網膜では、 I_A が観測されていないことから、モデルでは $I_A = 0$ としてシミュレーションを行った。

図 4.9A は、細胞を -30mV の保持電位から、 -10 、 $+10$ 、 $+30\text{mV}$ へ脱分極させたときの全電流である。脱分極により外向き電流が流れ、 $+50\text{mV}$ で最大値をとった後、さらに脱分極することで減少する (図

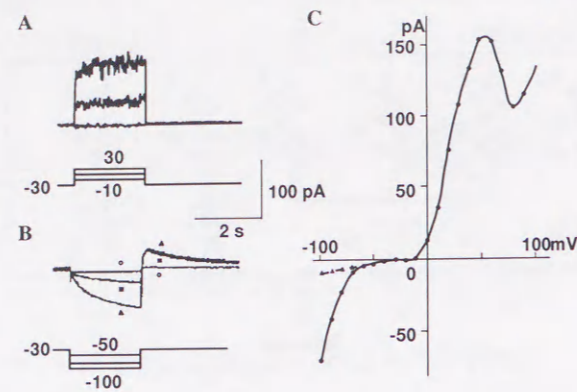


図 4.8 膜電位固定実験結果 [50]

A: $-10, +10, -30\text{mV}$ での記録電流. B: $-50, -80, -100\text{mV}$ での記録電流. 識別用のマークがつけられている. C: 電流-電圧曲線. 保持電位 (V_h) は -30mV . \blacktriangle は電位固定直後, \bullet は固定終了直前の電流値. 外向き電流は時間に対して独立しているため, 図では電位固定終了直前の電流値のみ示されている.

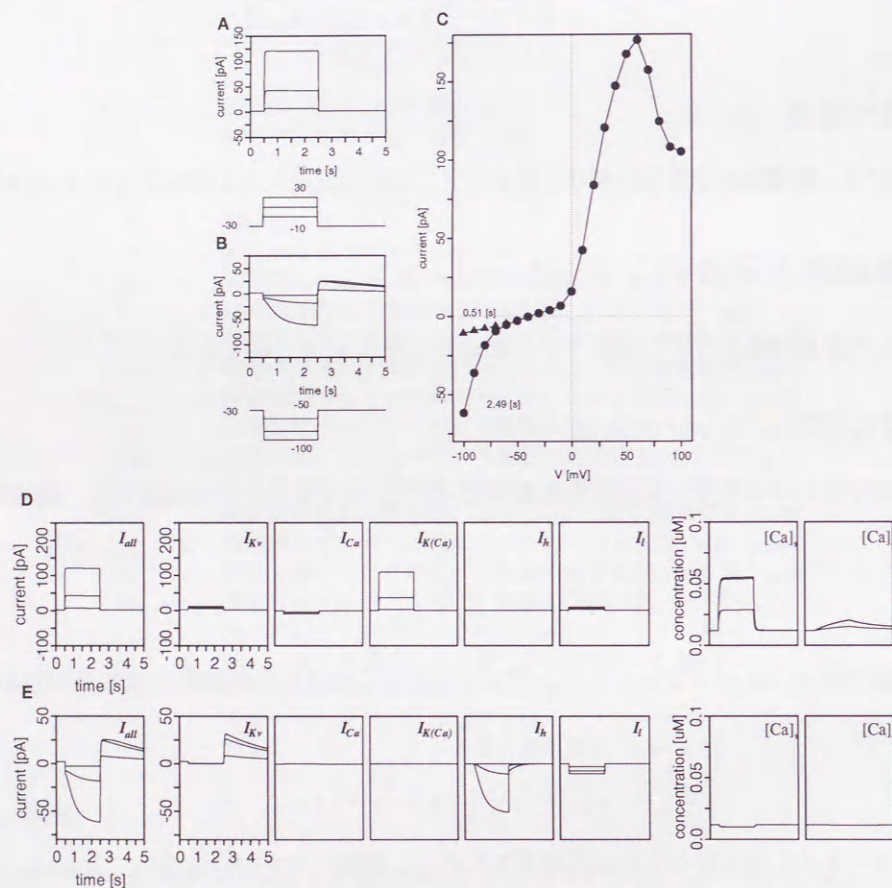


図 4.9 膜電位固定シミュレーション結果

A: $-10, +10, -30\text{mV}$ での電流. B: $-50, -80, -100\text{mV}$ での電流. C: 電流-電圧曲線. D: 脱分極側に膜を固定した時の各イオン電流応答. E: 過分極側に膜を固定した時の各イオン電流応答.

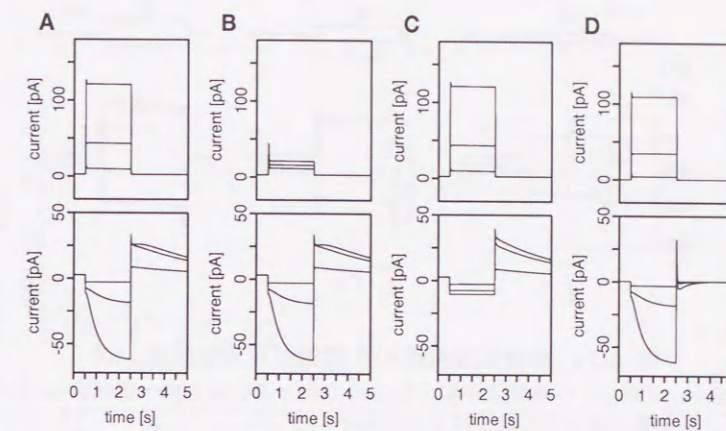


図 4.10 イオン電流をブロックしたときの膜電位固定応答

A: コントロール条件, B: I_{Ca} 、 $I_{K(Ca)}$ をブロックした場合, C: I_h をブロックした場合, D: I_{Kv} をブロックした場合. それぞれ、 $-10, +10, +30\text{mV}$ の脱分極パルスによる電流応答 (上) と、 $-50, -80, -100\text{mV}$ の過分極パルスによる電流応答.

4.9C)。図 4.9B は、 -30mV の保持電位から、 $-50, -80, -100\text{mV}$ へ過分極させたときの全電流である。脱分極時の電流応答に比べ、過分極時には強い時間依存性を持つ。また過分極時には膜電位固定終了後に、固定時とは逆に外向きに流れ、その振幅が固定電位に依存するテイル電流も観測される。提案モデルは Kaneko ら [50] の実験結果に見られる特徴を十分良く再現している。

図 4.9D、E はそれぞれ、膜電位固定シミュレーション時における脱分極側、過分極側の指令電位に対する各イオン電流応答を示したものである。式 (5.26) より、膜電位固定時の全電流 I は、各イオン電流の総和として求められるため、各イオン電流成分を比較することで膜電位応答に対する各イオン電流の寄与が推察される。図 4.10 は、イオン電流をブロックした時の膜電位固定シミュレーション結果である。 I_{Ca} と $I_{K(Ca)}$ をブロックした時 (図 4.10B)、脱分極側の指令電位による応答が消失しており、これはコントロール時 (図 4.9A) に見られる外向き電流応答が、 $I_{K(Ca)}$ と I_{Ca} の両者によって構成されていることを示している。図 4.10C は、 I_h をブロックした時の応答である。この時、コントロール時にみられた過分極応答のゆっくり活性化する成分が消失している。また図 4.10D に示すように、 I_{Kv} をブロックした時、過分極応答のテイル電流が抑制される。これらのことから、過分極応答にみられるゆっくり活性化する成分の主成分は I_h であることが、さらにテイル電流成分は主に I_{Kv} であると考えられる。

4.3.2 膜電流固定シミュレーション

前節では本モデルが、膜電位固定下で細胞の振舞いを忠実に再現できることを示した。本モデルは、膜電位固定下の実験結果を用いてパラメーターを推定したことから、他の実験条件においてその妥当性を検証する必要がある。そこで本モデルを用いて膜電流固定シミュレーションを行うことによりモデルの妥当性を評価した。

Kaneko ら [50] は双極細胞に電流を注入した時、図 4.11 に示すように、脱分極性の電流注入に対してはほぼ矩形に、過分極性の電流注入に対しては最初一過性の過分極をした後それより低いレベルでプラト

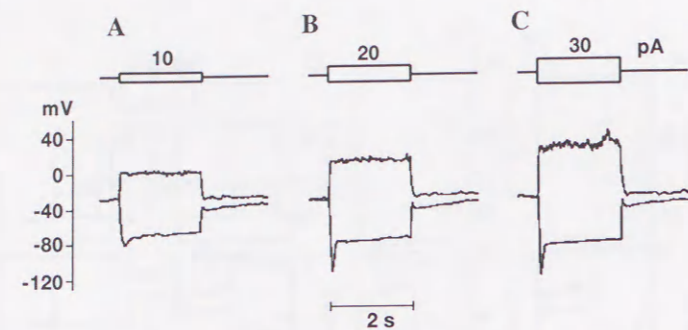


図 4.11 単離双極細胞の膜電流固定実験結果 [50]

A:10pA, B:20pA, C:30pA の膜電位が脱分極する方向と過分極方向へ電流を 2s 加えたときの結果. 脱分極方向と過分極方向の結果は重ね書きされている.

を形成する応答を示すことを報告している。こうした応答特性は図 4.12 に示すように、提案モデルにおいても再現できた。このことから本モデルは、膜電位固定実験のみならず、他の実験条件においても双極細胞の振舞いを忠実に再現でき、双極細胞細胞体モデルとして妥当なものであるといえる。

こうした膜電流固定応答は、双極細胞の光応答が伝達物質によって作動する電流によって引き起こされることから、矩形状に伝達物質作動性電流が変化した時の光応答と見なすことができ、このときのイオン電流成分を調べることで、イオン電流の光応答形成に対する影響を考察する上で参考になる。一方、膜電流固定時の各イオン電流は、膜電位応答が各イオン電流の相互作用によって決定されるため、生理実験によって直接確認することは困難である。本モデルを用いたシミュレーションによれば、電流注入応答と各イオン電流との関係を調べることが可能である。図 4.12D、E は、それぞれ膜電位が脱分極側、過分極側に变化するよう電流を注入した時の、膜電位と各イオン電流応答を示したものである。図 4.12E より過分極性の電流注入応答にみられる時間特性は、 $I_{K(Ca)}$ などと比較するとゆっくりと活性化する内向き電流である I_h によって、膜が元のレベルから過分極することによって生じていることがわかる。また応答終了時にみられるスパイク性のリバウンド成分は、図 4.12D より I_h と I_{Kv} によって形成されていることがわかる。

最後に、細胞体ではカルシウム依存性電流のチャネル分布を調べた実験によれば、 $I_{K(Ca)}$ が細胞体にほとんどない可能性があるため (第 2 章 2.3.5 節参照)、この点についてモデルより考察した。図 4.13 が、 $I_{K(Ca)} = 0$ の場合の膜電位応答である。実験結果 (図 4.11) や図 4.12 と比較すると、 $I_{K(Ca)} = 0$ の場合、脱分極性の電流注入応答に見られる約 0mV で飽和する特性が消失している。これらの結果より、生理実験に用いられた細胞では $I_{K(Ca)}$ が存在したか、 $I_{K(Ca)}$ 同様の特性の別の電流が存在するものと考えられる。膜電位固定実験結果 [50] で $I_{K(Ca)}$ が観測されていることから、この細胞の場合、前者の可能性がより高いと考える。

4.3.3 双極細胞のサブタイプにおける応答

ホワイトバス網膜から単離された双極細胞は、その大きさにより大型 (large type) と小型 (small type) の 2 種類に分類できる [62]。これまでの知見よりそれぞれ、大型は杆体型、小型は錐体型の双極細胞であると考えられる。

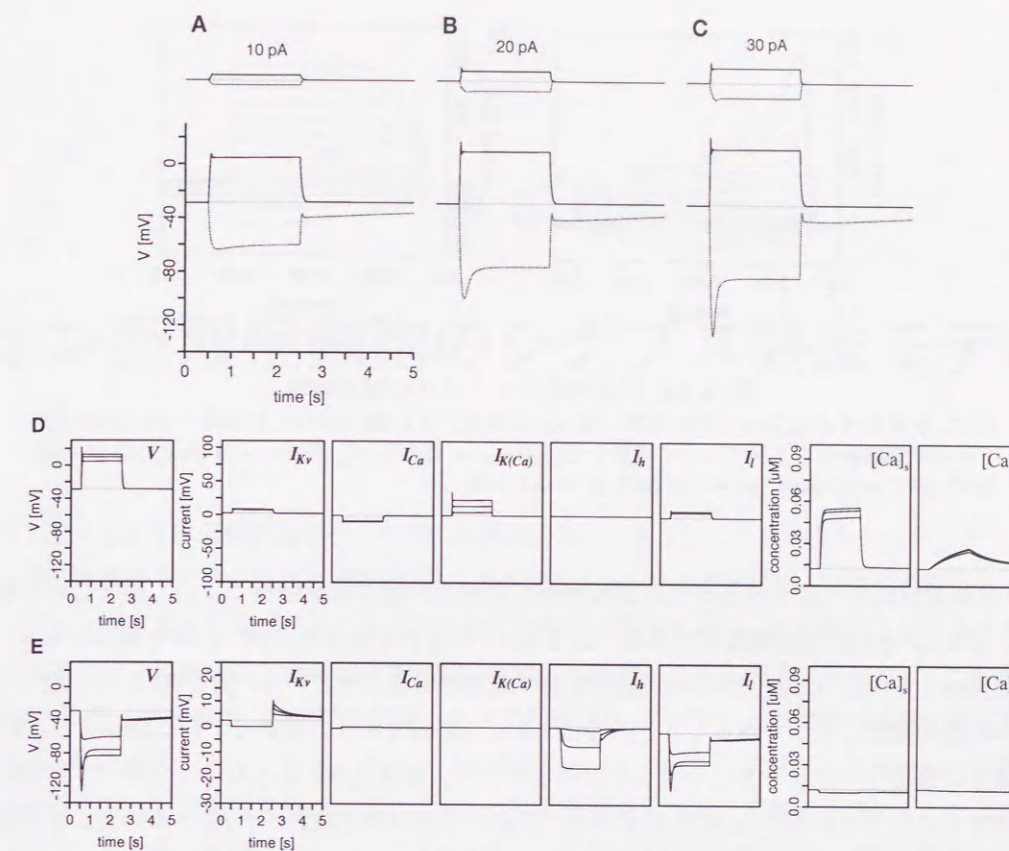


図 4.12 膜電流固定シミュレーション結果

A, B, C: 電流を膜電位が脱分極する方向と過分極方向へ 2s 加えた時の結果 (A:10pA, B:20pA, C:30pA). 脱分極方向と過分極方向の結果は重ね書きされている. D: 脱分極方向へ膜電位が変化するよう電流を注入した時の膜電位および各イオン電流応答. E: 過分極方向へ膜電位が変化するよう電流を注入した時の膜電位および各イオン電流応答.

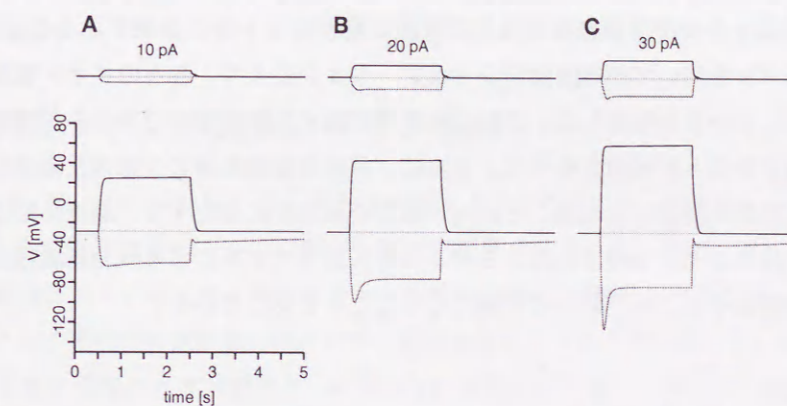


図 4.13 $I_{K(Ca)}$ なしでの膜電流固定応答

A, B, C: $I_{K(Ca)}$ がいない条件での応答電位. その他のシミュレーション条件は、図 4.12 と同じ.

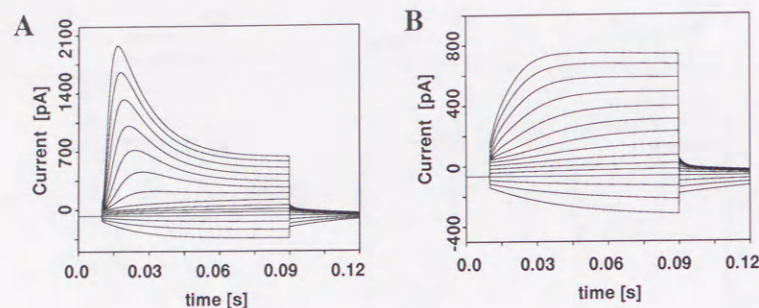


図 4.14 双極細胞サブタイプの電流特性

A: I_A が存在する場合のモデル応答. B: I_A が存在しない場合のモデル応答. モデルのパラメータは実験条件より次のように変更した。 $[Ca]_{ex} = 2100[\mu M]$, $E_K = -85 [mV]$, $E_l = -30 [mV]$, $\bar{g}_{Kv} = 5.0 [nS]$, $\bar{g}_h = 5.0 [nS]$, $g_l = 0.5 [nS]$.

Lasater は膜電位固定下における電流応答波形が、大型と小型の双極細胞では全く違うことを報告している [62]。図 2.9 がその生理実験結果であり、図 2.9A の大型では脱分極方向への指令電位により、急速に活性化した後ゆっくりと不活性化する時間特性を持つ電流応答を示す。一方、図 2.9B,C の小型では同じ脱分極方向への指令電位によってゆっくりと活性化する電流応答を示す。提案モデルにおいても、図 4.14A、B に示すように適切なパラメーターセットを用いることで、生理実験にみられるサブタイプの違いを再現することができた。すなわち、 I_A が存在する時、大型と同様の応答波形が、 I_A が無い時、小型と同様の応答波形が得られた。Lasater らの結果 [62] においても、4-AP 存在下で大型の一過性成分が消失していることから、サブタイプ間の電流応答の違いは I_A の有無によって決定されていると考えられる。

4.4 まとめ

本章では、双極細胞の細胞体に存在する各イオン電流とカルシウム機構をモデル化することにより、双極細胞細胞体のイオン電流モデルを構築した。また膜電位固定、膜電流固定シミュレーションによりその妥当性を検証し、提案モデルが双極細胞細胞体の複雑な膜特性を十分に表現できることを示した。次に、こうして構築したモデルを用いて膜電流固定シミュレーションにより、各々のイオン電流が電位応答の形成にどのように関与しているか解析した。これより生理実験では直接測定できない、電位応答時の各イオン電流の影響を解析することが可能となった。さらに、杆体双極細胞および錐体双極細胞における膜電位固定実験時の膜電流応答を解析した結果、それらは双方の細胞体に存在する一過性外向きカリウム電流の有無によって決定されることが示唆された。このことは、提案モデルにより双極細胞細胞体の各イオン電流の機能的役割を明確にすることが初めて可能になったことを示している。

第 5 章

オン型双極細胞のシナプス終末モデル

第 2 章で述べたように双極細胞の中でも特に形態的にみて大きなシナプス終末をもつサブタイプ (電気生理学的分類ではおそらくオン型双極細胞) では、カルシウムチャネルや細胞内 Ca^{2+} に制御されるイオン機構が、そのシナプス終末に局在することが明らかにされている [85, 120]。双極細胞におけるカルシウム機構のシナプス終末での集中は、双極細胞から放出される伝達物質の放出機構に細胞内 Ca^{2+} が関わっていることから [120]、双極細胞-神経節細胞間、および双極細胞-アマクリン細胞間の情報伝達にその一次的意義があるものと考えられる。一方、カルシウム電流や細胞内 Ca^{2+} に依存した電流がシナプス終末に局所的に流れることは、双極細胞全体の応答に対して修飾作用をもたらす可能性も考えられる。更に、このシナプス終末では自発的な神経スパイクが発生することも報告されている [139]。網膜の出力を担う神経節細胞においても、自発同期スパイク現象が報告されている [7]、神経節細胞ネットワークのみによって同期現象が生じているのではなく、こうした現象は双極細胞のシナプス終末に由来する可能性も考えられる。すなわち、神経節細胞レベルで報告されている現象には、そこに出力を送る双極細胞シナプス終末が関与している可能性が大きく、神経節細胞、さらには網膜の出力特性を理解する上で、双極細胞シナプス終末の特性を詳細に記述する必要があるといえる。以下では第 3 章で述べた手法を用いて、双極細胞シナプス終末の各イオン電流、細胞内 Ca^{2+} 濃度の膜電位固定実験結果に基づき双極細胞シナプス終末のイオン電流モデルを構築する。

5.1 双極細胞シナプス終末のイオン機構

第 2 章 2.3.5 節にてまとめたように、オン型双極細胞シナプス終末には、細胞内 Ca^{2+} に依存した電流と 3 次ニューロンからの伝達物質によって作動する電流が報告されている。また、それら以外に、2.3.4 節で述べた細胞体で観測されているイオン電流のチャネルで過分極活性化型内向き電流 (I_h) に関しては、シナプス終末でのチャネルの存在の有無は報告がないが、細胞全体にチャネルが分布していることが予想される。そこで、以下に示す 3 種類のイオン電流と、4 種類の細胞内 Ca^{2+} 濃度に依存した電流について、モデルを構築した。

1. 過分極活性化型内向き電流 (I_h)
2. 過分極活性化型内向き電流 (I_{Kv})

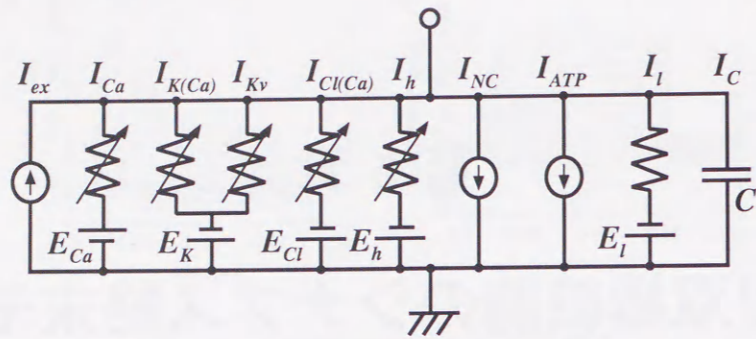


図 5.1 双極細胞シナプス終末の等価回路

I_{ex} :外部入力電流, I_{Ca} :カルシウム電流 (Calcium current), $I_{K(Ca)}$:カルシウム依存性カリウム電流 (Calcium dependent potassium current), I_{Kv} :遅延整流性カリウム電流 (Delayed rectifying potassium current), $I_{Cl(Ca)}$:カルシウム依存性塩素電流 (Calcium dependent chloride current), I_h :内向き整流性電流 (Inward rectifying current), I_{NC} :Na-Ca 交換系 (Na-Ca exchanger), I_{ATP} :カルシウムポンプ (Ca-ATPase pump), I_l :漏れ電流 (Leakage current), I_C :容量性電流 (Capacitive current).

3. カルシウム電流 (I_{Ca})
4. カルシウム依存性カリウム電流 ($I_{K(Ca)}$)
5. カルシウム依存性塩素電流 ($I_{Cl(Ca)}$)
6. Na^+-Ca^{2+} 交換系 (I_{NC})
7. カルシウムポンプ (I_{ATP})

以下では Tachibana らの研究グループによるキンギョ網膜の単離双極細胞を用いたシナプス終末の膜電位固定実験結果 [54,94] を用いて各イオン電流をモデル化し、シナプス終末部位のモデルを構築する。

5.2 オン型双極細胞シナプス終末のイオン電流モデル

オン型双極細胞シナプス終末に存在する各電流成分から、その膜モデルは図 5.1 に示す等価回路で表現され、膜電位 V は次式によって与えられる。

$$C \frac{dV}{dt} = I_{ex} - (I_h + I_{Kv} + I_{Ca} + I_{K(Ca)} + I_{Cl(Ca)} + I_{NC} + I_{ATP} + I_l). \quad (5.1)$$

ここで I_l は漏れ電流、 C は膜容量、 I_{ex} は外部からの入力電流である。 I_{Ca} 、 $I_{K(Ca)}$ 、 $I_{Cl(Ca)}$ 、 I_{NC} および I_{ATP} は細胞内 Ca^{2+} 濃度にも依存する。第 3 章 3.2.2 節にて述べたように細胞内 Ca^{2+} 濃度は、細胞膜近傍と細胞内深部で濃度変化が著しく異なることから、この特性を表現するモデルとして、双極細胞の細胞体モデルと同様の図 5.5 に示す細胞内領域を 2 つの部位に分割したモデルを用いた。各イオン電流成分、細胞内カルシウム機構のモデル記述をまとめたものを付録 B に示す。

膜電流のうち過分極活性化型内向き電流 I_h は、細胞全体に均一に分布しているものと仮定し、双極細胞の細胞体モデルと同じ形の式で記述した (式 (4.17)~(4.24))。また、遅延整流性カリウム電流 I_{Kv} は、終

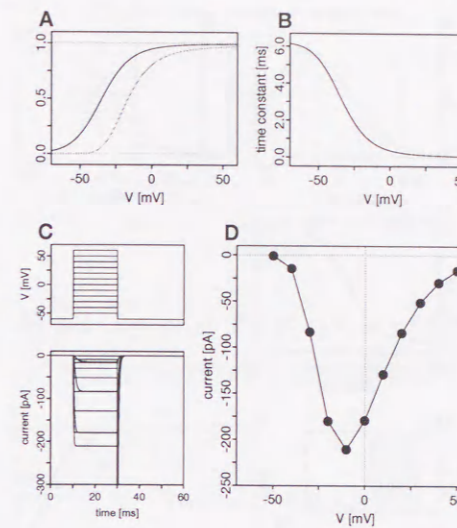


図 5.2 I_{Ca} モデルのパラメータ特性

A: $m_{Ca}(V, \infty)$ (実線), $m_{Ca}(V, \infty)'$ (薄い線). B: $\tau_{m_{Ca}}(V)$. C: $-60mV$ に保持し、 $-50mV$ から $60mV$ まで $10mV$ ステップで膜を固定したとき (上) の電流応答 (下). D: コマンドパルス終了直前 ($0.0299ms$) の電流値をプロットした I-V 特性.

末部位でのチャネル密度は細胞体のそれに比べ振幅小さいが存在する。そこで、最大コンダクタンス $\overline{g_{Kv}}$ を細胞体の $1/5$ の値である $\overline{g_{Kv}} = 0.4$ と仮定し、細胞体モデルと同一式で記述した (式 (4.1)~(4.8))。以下にはカルシウムに依存する各電流およびカルシウム機構について述べる。

5.2.1 カルシウム電流、 I_{Ca}

I_{Ca} は、膜電位と細胞内外の Ca^{2+} 濃度に依存する。そこで、時間特性を表現するために Hodgkin-Huxley 型方程式を使用した。また、Nernst の式から求められる反転電位を用いた記述では、 $-10mV$ 以上の I-V 特性をフィットすることが困難であったため、 Ca^{2+} 濃度に依存する部分は GHK 型の式で記述した。

$$\alpha_{m_{Ca}} = \frac{-1280V}{\exp\left(-\frac{V}{8.1}\right) - 1} \quad (5.2)$$

$$\beta_{m_{Ca}} = 590 \exp\left(-\frac{V}{860}\right) \quad (5.3)$$

$$\frac{dm_{Ca}}{dt} = \alpha_{m_{Ca}}(1 - m_{Ca}) - \beta_{m_{Ca}}m_{Ca} \quad (5.4)$$

$$\xi = \frac{z_{Ca}FV}{RT} \quad (5.5)$$

$$J_{Ca} = z_{Ca}F\xi \frac{[Ca]_{ss} - [Ca]_{ex} \exp(\xi)}{1 - \exp(\xi)} \quad (5.6)$$

$$P_{Ca} = \overline{P_{Ca}}m_{Ca}^4 \quad (5.7)$$

$$I_{Ca} = P_{Ca}J_{Ca} \quad (5.8)$$

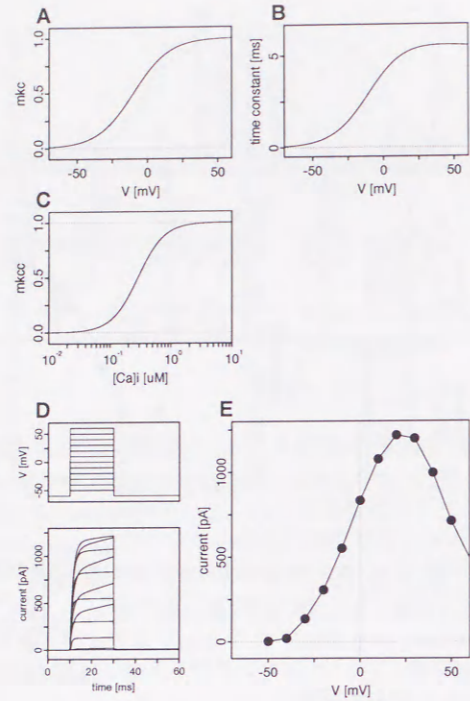


図 5.3 $I_{K(Ca)}$ モデルのパラメータ特性

A: $m_{Kc}(V, \infty)$. B: $\tau_{m_{Kc}}(V)$. C: $m_{Kcc}([Ca]_i)$ の細胞内カルシウム濃度依存特性. D: -60mV に保持し、 -50mV から 60mV まで 10mV ステップ (上) で膜を固定したときの電流応答 (下). E: コマンドパルス終了直前 (0.0299ms) の電流値をプロットした I-V 特性.

V	: シナプス終末の膜電位, [mV]
$\alpha_{m_{Ca}}$: 速度定数 [s^{-1}]
$\beta_{m_{Ca}}$: 速度定数 [s^{-1}]
m_{Ca}	: 活性化変数
J_{Ca}	: 流束 [pA/cm]
P_{Ca}	: 透過率 [cm/s]
I_{Ca}	: Ca 電流 [pA]
z_{Ca}	: Ca イオンの価数, 2
F	: ファラデー定数, 9.65×10^5 [c/mol]
R	: 気体定数, 8.31 [j/(deg·mol)]
T	: 絶対温度, [K]
$[Ca]_{ex}$: 細胞外の Ca^{2+} 濃度, 2.5 [mM]
\bar{P}_{Ca}	: 最大透過率, 0.46 [cm/s]

なお、パラメータは、膜電位固定実験結果 [94] より推定した。

5.2.2 カルシウム依存性カリウム電流、 $I_{K(Ca)}$

$I_{K(Ca)}$ は、細胞内 Ca^{2+} 濃度のほかに膜電位にも依存することから、膜電位に依存した活性化変数および細胞内 Ca^{2+} 濃度に依存した活性化変数によって記述した。モデル記述を次に示す。

$$\alpha_{m_{Kc}} = \frac{1.5(0.018 - V)}{\exp\left(\frac{0.018 - V}{450}\right) - 1} \quad (5.9)$$

$$\beta_{m_{Kc}} = 310 \exp\left(-\frac{V}{13}\right) \quad (5.10)$$

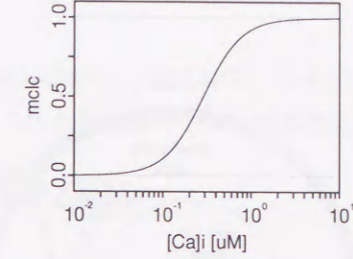


図 5.4 $I_{Cl(Ca)}$ モデルのパラメータ特性
 $m_{Clc}([Ca]_i)$ の Ca^{2+} 濃度依存特性

$$\frac{dm_{Kc}}{dt} = \alpha_{m_{Kc}}(1 - m_{Kc}) - \beta_{m_{Kc}}m_{Kc} \quad (5.11)$$

$$m_{Kcc} = \frac{[Ca]_{ss}^4}{[Ca]_{ss}^4 + 0.00029^4} \quad (5.12)$$

$$g_{Kc} = \bar{g}_{Kc}m_{Kc}m_{Kcc} \quad (5.13)$$

$$I_{K(Ca)} = g_{Kc}(V - E_K) \quad (5.14)$$

$\alpha_{m_{Kc}}$: 速度定数 [s^{-1}]
$\beta_{m_{Kc}}$: 速度定数 [s^{-1}]
m_{Kc}	: 膜電位依存性の活性化変数
m_{Kcc}	: Ca^{2+} 濃度依存性の活性化変数
g_{Kc}	: コンダクタンス [nS]
$I_{K(Ca)}$: カルシウム依存性カリウム電流 [pA]
\bar{g}_{Kc}	: 最大コンダクタンス, 12.4 [nS]
E_K	: K^+ の平衡電位, -100 [mV]

そのパラメータ値は、膜電位固定実験結果 [94] より推定した。

5.2.3 カルシウム依存性塩素電流、 $I_{Cl(Ca)}$

$I_{Cl(Ca)}$ は、実験結果 [54] より膜電位依存性は見られないため、細胞内 Ca^{2+} 濃度に依存した式で記述し、膜電位固定実験結果 [54] を満足するようにパラメータ値を推定した。

$$m_{Clc} = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{0.0018 - [Ca]_{ss}}{0.0004}\right)} \quad (5.15)$$

$$g_{Clc} = \bar{g}_{Clc}m_{Clc} \quad (5.16)$$

$$I_{Cl(Ca)} = g_{Clc}(V - E_{Cl}) \quad (5.17)$$

m_{Clc}	: Ca^{2+} 濃度依存性の活性化変数
g_{Clc}	: コンダクタンス [nS]
$I_{Cl(Ca)}$: カルシウム依存性塩素電流 [pA]
\bar{g}_{Clc}	: 最大コンダクタンス, 2.46 [nS]
E_{Cl}	: Cl^- の平衡電位, -6.0 [mV]

5.2.4 Na^+ - Ca^{2+} 交換系、 I_{NC}

本モデルでは、 Ca^{2+} 濃度および Na^+ 濃度依存性を表現するために、DiFrancesco らが提案した心筋細胞の Na^+ - Ca^{2+} 交換系のモデル [17] を用いた。パラメータ値は、膜電位固定時の I_{Ca} のテイル電流値や時

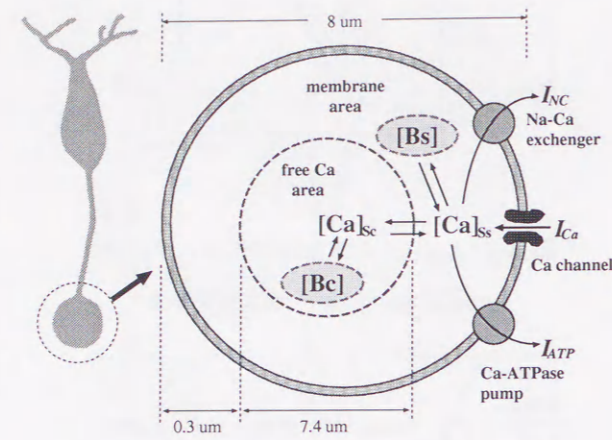


図 5.5 細胞内カルシウム機構

細胞内を細胞膜直下と細胞内部の2つの領域 ($[Ca]_{ss}$, $[Ca^{2+}]_{sc}$) に分割し、それぞれに対して流入 (I_{Ca})、排出 (I_{NC} , I_{ATP})、カルシウムバッファ ($[Bs]$, $[Bc]$) の吸着、遊離および領域間の拡散により Ca^{2+} 濃度を調節する機構を導入。

間変化および細胞内 Ca^{2+} 濃度変化 [54] を満足するように推定した (式 (5.18))。

$$I_{NC} = K_{nc} S_S \left\{ [Ca]_{ex} [Na]_i^3 \exp\left(\frac{\gamma FV}{RT}\right) - [Ca]_{ss} [Na]_{ex}^3 \exp\left(\frac{(\gamma-1)FV}{RT}\right) \right\} \quad (5.18)$$

- I_{NC} : Na^+ - Ca^{2+} 交換系による電流 [pA]
- $[Na]_i$: 細胞内 Na^+ 濃度, 10 [mM]
- $[Na]_{ex}$: 細胞外 Na^+ 濃度, 115 [mM]
- K_{nc} : Na^+ - Ca^{2+} 交換系の最大電流値, 170 [pA]
- γ : 分割定数, 0.38
- S_S : シナプス終末の表面積, 200 [μm^2]

5.2.5 Ca^{2+} ポンプ、 I_{ATP}

I_{ATP} は、簡単のため Ca^{2+} 濃度のみから決まる Hill 関数で記述し (式 (5.19))、膜電位固定実験結果および細胞内 Ca^{2+} 濃度変化 [54] よりパラメータを推定した。

$$I_{ATP} = z_{Ca} F S_S P_{max} \frac{[Ca]_{ss}}{[Ca]_{ss} + K_d} \quad (5.19)$$

- I_{ATP} : Ca^{2+} ポンプによる電流 [pA]
- P_{max} : Ca^{2+} ポンプの最大電流値, 100 [pA]
- K_d : 解離定数, 0.005 [mM]

5.2.6 漏れ電流、 I_l

I_l は膜電位に対して比例する特性を有しているため、次式によって記述した。

$$I_l = \bar{g}_l \cdot (V - E_l) \quad (5.20)$$

- I_l : 漏れ電流 [pA]
- \bar{g}_l : 最大コンダクタンス, 0.3 [nS]
- E_l : I_l の反転電位, -60 [mV]

5.2.7 容量性電流、 I_C

膜容量には、 $C = 3$ [pF] を使用した。これは、仮定しているモデルの形状 (図 4.6、5.5) から、細胞体とシナプス終末の表面積の比を求め、これと細胞体モデルの膜容量よりシナプス終末の膜容量を算出したものである。

5.2.8 細胞内 Ca^{2+} 濃度

細胞内 Ca^{2+} 濃度を調節する機構は、双極細胞細胞体モデルと同様、細胞内領域を細胞膜近傍と細胞内深部に分割することで細胞内 Ca^{2+} 濃度分布を表現できるモデルを用いた (図 5.5)。モデルには、流入系 (I_{Ca})、排出系 (I_{NC} , I_{ATP})、緩衝系 (カルシウムバッファ、 $[Bs]$, $[Bc]$) の細胞内 Ca^{2+} 濃度を制御する機構を導入した。水平細胞などでは細胞内カルシウムストアからの放出があることが報告されているが [30]、双極細胞ではこのような細胞内カルシウムストアからの放出は観測されていないため [54]、モデルより省略した。また、シナプス終末から軸索を介した細胞体への Ca^{2+} の拡散に関しては、双極細胞の細胞体とシナプス終末の Ca^{2+} 濃度変化を同時に調べた実験によれば [120]、 I_{Ca} の活性化する時間スケールが短い (1s 以内) 場合、細胞体での濃度変化はほとんどないことから、シナプス終末から細胞体への拡散量は微小であると考え省略した。パラメータ値は、膜電位固定実験結果 [54] および細胞内 Ca^{2+} 濃度蛍光測定結果 [94] を満足するよう推定した。

$$\frac{d[Ca]_{ss}}{dt} = \frac{I_{Ca} - 2I_{NC} + I_{ATP}}{2FV_{ss}} - \frac{d[Bs]}{dt} - \frac{D_{Ca} S_{Ssc}}{V_{ss} d_{Ssc}} ([Ca]_{ss} - [Ca]_{sc}) \quad (5.21)$$

$$\frac{d[Ca]_{sc}}{dt} = \frac{D_{Ca} S_{Ssc}}{V_{sc} d_{Ssc}} ([Ca]_{ss} - [Ca]_{sc}) - \frac{d[Bc]}{dt} \quad (5.22)$$

$$\frac{d[Bs]}{dt} = \alpha_{Bs} [Ca]_{ss} ([Bs]_{max} - [Bs]) + \beta_{Bs} [Bs] \quad (5.23)$$

$$\alpha_{Bc} = \frac{8}{\exp\left(\frac{0.0012 - [Ca]_{sc}}{0.00012}\right) + 1} \quad (5.24)$$

$$\frac{d[Bc]}{dt} = \alpha_{Bc} [Ca]_{sc} ([Bc]_{max} - [Bc]) + \beta_{Bc} [Bc] \quad (5.25)$$

- $[Ca]_{ss}$: 細胞膜近傍の Ca^{2+} 濃度, [mM]
- $[Ca]_{sc}$: 細胞内深部の Ca^{2+} 濃度, [mM]
- D_{Ca} : 拡散定数, 6.0×10^8 [$\mu m^2/s$]
- V_{ss} : 細胞膜近傍の体積, 56 [μm^3]
- V_{sc} : 細胞内深部の体積, 212 [μm^3]
- S_{Ssc} : 細胞膜近傍部と細胞内深部の境界面積, 172 [μm^2]
- d_{Ssc} : 細胞膜近傍部と細胞内深部の距離, 2.0 [μm]
- $[Bs]$: 細胞膜近傍のバッファの Ca^{2+} 吸収機質濃度 [mM]
- $[Bc]$: 細胞内深部のバッファの Ca^{2+} 吸収機質濃度 [mM]
- $[Bs]_{max}$: 細胞膜近傍の最大カルシウムバッファ濃度, 20 [mM]
- α_{Bs} : Ca^{2+} 吸着の速度定数, 630 [$s^{-1}mM^{-1}$]
- β_{Bs} : Ca^{2+} 遊離の速度定数, 15 [s^{-1}]
- $[Bc]_{max}$: 細胞内深部の最大カルシウムバッファ濃度, 30 [mM]
- α_{Bc} : Ca^{2+} 吸着の速度定数 [$s^{-1}mM^{-1}$]
- β_{Bc} : Ca^{2+} 遊離の速度定数, 0.02 [s^{-1}]

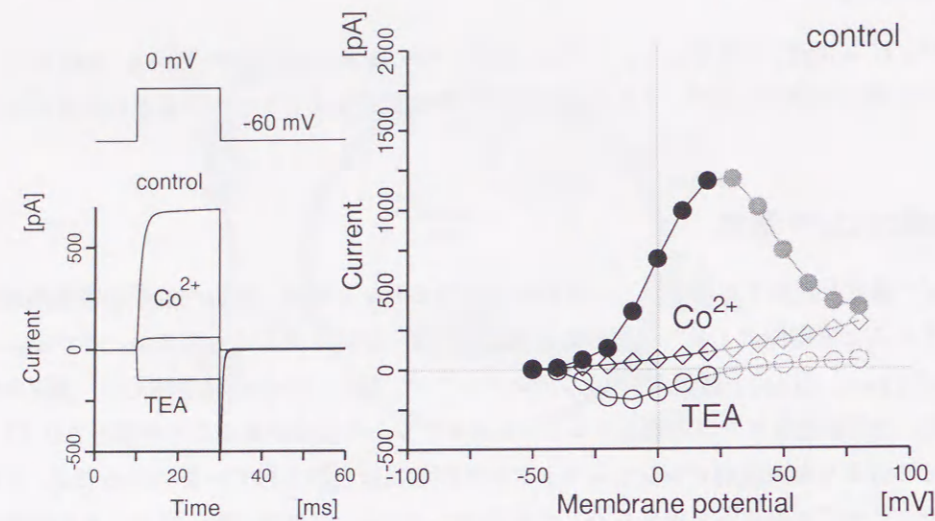


図 5.6 双極細胞シナプス終末の膜電位固定シミュレーション結果
 図 2.13 に示す実験のシミュレーション結果。右側は膜電位固定下の電流応答。コントロール液 (control, ●), TEA 溶液 (TEA, ○), Co^{2+} 溶液 (Co^{2+} , ◇) 灌流時の結果が重ね書きされている。左側は I-V 特性。19.88ms 時の電流値をプロット。実線で示した範囲がパラメータ推定に用いた電位範囲。

5.3 双極細胞シナプス終末モデルのシミュレーション

以下では、構築したシナプス終末モデルを評価するために、膜電位固定下での実験結果とそのシミュレーション結果を比較する。さらに、本モデルの妥当性を、パラメータ推定に用いた膜電位固定実験とは別の実験条件で観測されている自発性スパイク現象をシミュレーションすることにより評価する。

5.3.1 膜電位固定シミュレーション

膜電位固定下におけるシナプス終末の全電流 (I) は次式によって求められる。

$$I = I_h + I_{Kv} + I_{Ca} + I_{K(Ca)} + I_{Cl(Ca)} + I_{NC} + I_{ATP} + I_l \quad (5.26)$$

図 5.6 は、Sakaba ら [94] による実験 (図 2.13) と同様の条件下における膜電位固定シミュレーション結果である。標準状態 (control)、 Co^{2+} または TEA 灌流した 3 種類の状態での結果である。図 5.6 左は、膜電位を -60mV の保持電位から、 0mV へ脱分極させたときの電流波形であり、図 5.6 右は、この細胞の電流-電圧特性である。生理的範囲である $+20\text{mV}$ 以下において (実線)、control 状態では脱分極するほど強い外向き電流が流れるのに対し、カリウム電流をブロックする TEA 存在下では、ほぼ内向き電流のベル型の電流-電圧特性を示す。また、カルシウム電流をブロックする Co^{2+} 存在下では、電圧に対して電流は、ほぼ比例して増加する。提案モデルは、Sakaba ら [94] のこうした結果 (図 2.13A) を良く再現している。

図 5.7B は、細胞内 Ca^{2+} 濃度変化と Ca^{2+} 濃度調節機構に関するシミュレーション結果である。この条件下では、 I_h 、 $I_{K(Ca)}$ は薬物灌流によってブロックされていることから、これらのイオン電流は 0 とした。図 5.7B 上は、膜電位を -70mV の保持電位から、 -20mV へ脱分極させたときの全電流である。脱分

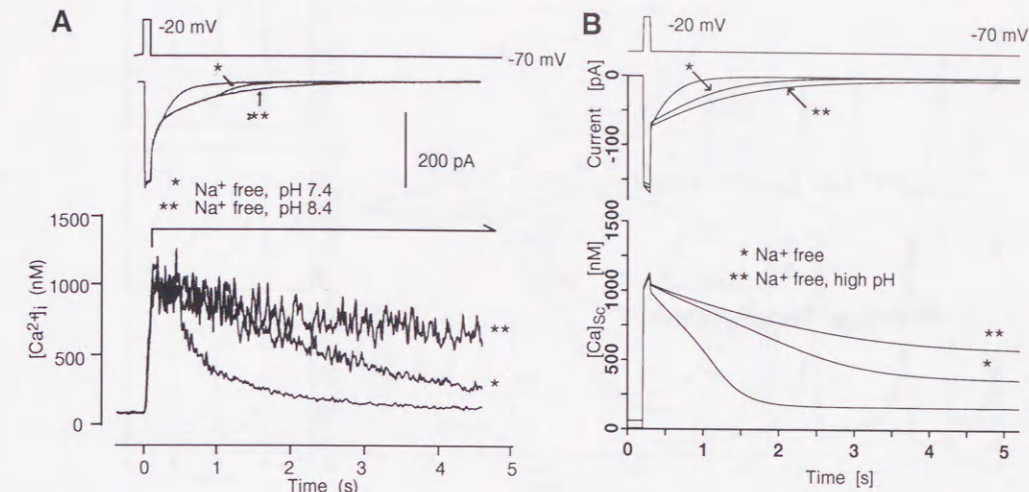


図 5.7 双極細胞シナプス終末の電流と細胞内 Ca^{2+} 濃度
 A: 100ms のコマンドパルスにより双極細胞を脱分極したときの電流応答と細胞内 Ca^{2+} 濃度変化。コントロール溶液、 Na^+ フリー溶液 (*), Na^+ フリー溶液 (*) および高 pH 溶液 (**) を灌流したとき結果を重ね書きした [54]。B: シミュレーション結果。

極により内向き電流が流れ、電位固定終了後にはテイル電流がみられる。このテイル電流は、細胞外 Na^+ 濃度を 0 ($[\text{Na}]_o = 0$) とした場合顕著になる。図 5.7B 下は、このときの細胞内 Ca^{2+} 濃度変化である。細胞内 Ca^{2+} 濃度は、電流と比較するとゆっくりとした速度変化をもつ。また、細胞外 Na^+ 濃度を 0 とすることによって減少速度は遅くなり、更に細胞外 pH を高くすると (高 pH により I_{ATP} が抑制、 $P_{max} = 20$)、よりゆっくりになる。Kobayashi ら [54] の生理実験結果 (図 5.7A) に見られる Ca^{2+} による電流と細胞内 Ca^{2+} 濃度変化にみられるこうした特徴を提案モデルは十分に再現している。

5.3.2 双極細胞シナプス終末の自発的カルシウムスパイク

前節では双極細胞シナプス終末モデルが膜電位固定実験による細胞膜の振舞いを忠実に再現できることを示した。ここでは本モデルの妥当性を、他の実験条件のシミュレーションにより評価するとともに、シナプス終末の自発的スパイク現象の発生機構について解析する。

Zenisek らは、キンギョ網膜のオン型杆体双極細胞で、自発的な一過性細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇について報告している [139]。この一過性 Ca^{2+} 濃度上昇 (図 5.8B 下) は、シナプス終末のみで観測される。この濃度上昇は、L 型カルシウムチャネルのプロックによって消失すること、膜電位の静止レベルに依存することなどから、L 型カルシウムチャネルからの流入によって生じていると考えられる。更に、膜電位レベルでも、図 5.8A、B 上に示したように、カルシウムスパイクと考えられる自発的な脱分極が観測されており、これが一過性 Ca^{2+} 濃度上昇の原因になっていると考えられる。最初に、この自発的なカルシウムスパイクが構築したモデルで再現できるか確認した。

Zenisek らの報告によれば、双極細胞のスパイクは細胞に外部刺激を与えない状態で自発的に発生している。本モデルでシナプス終末が外部刺激である電流を注入しない状態、すなわち、式 (5.1) において $I_{ex} = 0$ のとき、スパイクを発生するか否かをシミュレーションで確認した。Zenisek らの実験条件に合わせるため

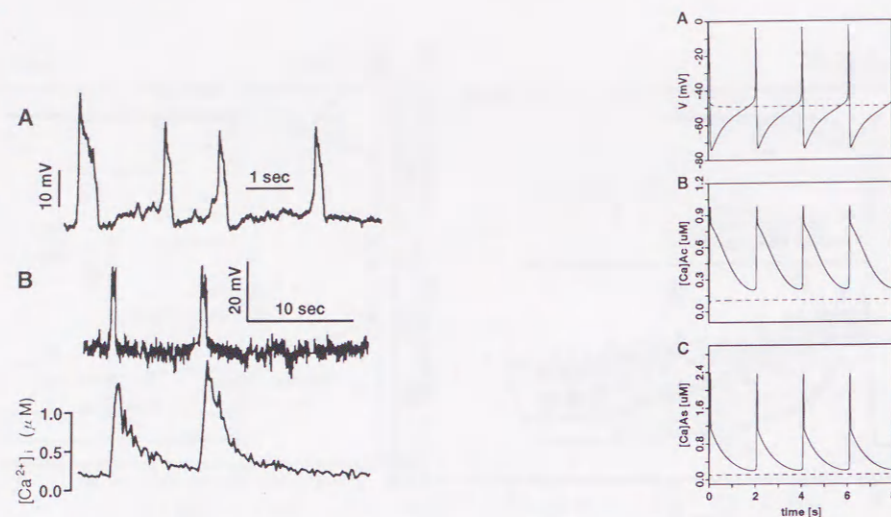


図 5.8 双極細胞の自発的 Ca^{2+} 濃度上昇 [139]

A: 膜電位固定下で観測される神経スパイクに似た自発的な脱分極応答. B: 細胞内 Ca^{2+} 濃度の自発的な上昇は(下)、自発的な脱分極スパイク(上)によって生じる.

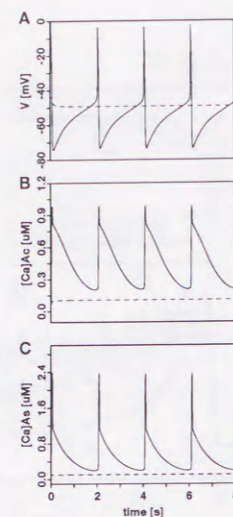


図 5.9 双極細胞シナプス終末モデルの応答

A: 膜電位応答 (V). B: 細胞内部の Ca^{2+} 濃度変化 ($[\text{Ca}]_{\text{sc}}$). C: 細胞膜近傍の Ca^{2+} 濃度変化 ($[\text{Ca}]_{\text{ss}}$). 破線は推定したパラメータを用いたシミュレーション結果. 実線は, パラメータの一部を変更 ($g_l = 0.12$, $\overline{g_{\text{Ca}}} = 0.72$, $\overline{g_{\text{K}(\text{Ca})}} = 3.7$) したときの結果.

変更が必要となるパラメータ ($[\text{Na}]_o = 115$ [mM], $[\text{Na}]_i = 4$ [mM], $E_{\text{Cl}} = -88$ [mV]) のみ設定しシミュレーションを行ったところ, 報告されているような自発的スパイクは再現されなかった(図 5.9点線). そこで, 他の条件で自発的スパイクが発生するのかについて, 各イオン電流のイオンチャネル数に相当するパラメータである最大膜コンダクタンス値を 20~150%まで変化することで条件を変え確認した. その結果, 図 5.9実線に示すように, $g_l = 0.12$, $\overline{g_{\text{Ca}}} = 0.72$, $\overline{g_{\text{K}(\text{Ca})}} = 3.7$ の条件では外部から刺激を与えない状態でスパイク列が発生した. こうした自発的なスパイク現象の発生過程を明確にするため, シミュレーション結果よりシナプス終末の各イオン電流成分の動的機構を解析した. 図 5.10は, スパイク列が発生したときの結果より, 膜電位に対する電流をプロットしたものである. 図には各イオン電流成分のうちスパイク発生に強く関与している 3 種類, I_{Ca} , $I_{\text{K}(\text{Ca})}$, $I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ のみを描いた. 全電流 (I) と, これを構成するイオン電流成分の変化より, 自発的スパイク生成のメカニズムは次のように説明できる.

-60mV を起点として見たとき, 全電流は, I_{Ca} の活性化により最初内向きに流れる. このため, 膜は脱分極し, それによって I も矢印で示すように変化し内向き電流が増え, 更に脱分極する過程を繰り返す(図 5.10 ①). ある点(図では約 -20mV) を越えると外向き電流成分である $I_{\text{K}(\text{Ca})}$ や $I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ が大きくなるため I は減少し, -10mV で正味の I は 0 になる(図 5.10 ②). このとき, I_{Ca} は活性化し続けるため細胞内カルシウム濃度は増加することになり, この濃度に依存した 2 種類の外向き電流 $I_{\text{K}(\text{Ca})}$, $I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ も増加する. その結果, 膜は過分極していく(図 5.10 ③). 脱分極過程(図 5.10 ①)よりも細胞内カルシウム濃度が高いために, 全電流 I は正味外向き電流であり続け, 膜は約 -70mV まで過分極する(図 5.10 ④). 過分極と細胞内カルシウム濃度の低下によって, 膜は再び脱分極過程(図 5.10 ①)に入る. つまり, 自発的なスパイク列の発生には,

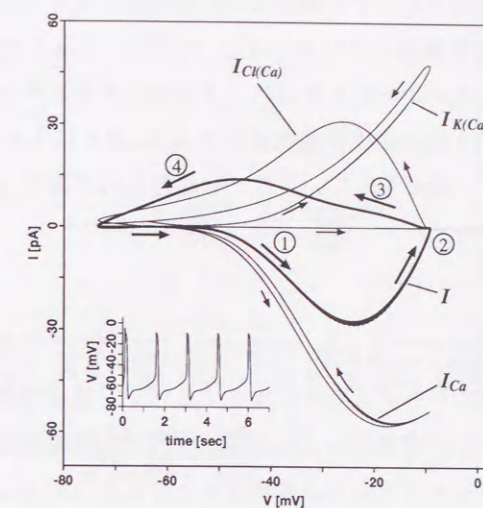


図 5.10 自発的スパイク発生時の電流-電圧特性

自発的スパイクが生じているときの I-V 特性. それぞれの電流は, 時間が進むごとに矢印の示した方向へ変化する. 詳細は本文に記す.

- 1) 立ち上がり時には内向き電流が優性であること.

$$I_{\text{Ca}} + I_{\text{K}(\text{Ca})} + I_{\text{Cl}(\text{Ca})} < 0. \quad (5.27)$$

- 2) 立ち下がり時には外向き電流が優性であること.

$$I_{\text{Ca}} + I_{\text{K}(\text{Ca})} + I_{\text{Cl}(\text{Ca})} > 0. \quad (5.28)$$

の条件が必須である.

図 5.10に示されていない他の電流成分 I_h , I_{Kv} , I_{NC} , I_{ATP} は, I_{Ca} , $I_{\text{K}(\text{Ca})}$, $I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ に比較して振幅が小さい (1/10~1/50). また, 式 (5.1) よりこれらを省略した場合も, 図 5.9と同様の結果が得られるため, この実験条件において, スパイク形成への I_h , I_{NC} , I_{ATP} の影響は小さいと考える. ただし, I_{NC} , I_{ATP} のカルシウム排出系は細胞内 Ca^{2+} 濃度に影響を及ぼすことから(式 5.21), これらの電流の振幅を変更した場合には Ca^{2+} 濃度変化に影響が生じるため, 間接的にスパイク発生にも関与する. 例えば I_{NC} を小さくすると図 5.9のスパイクは発生しないが, $I_{\text{K}(\text{Ca})}$ を小さくすると図 5.9と同様のまたスパイクが発生することをモデルで確認している. このようにカルシウム排出系はスパイク発生に対して, $I_{\text{K}(\text{Ca})}$, $I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ のカルシウム依存性電流への影響として現われることになる. なお, I_h , I_{NC} , I_{ATP} は振幅が小さいことを先に述べたが, I_{Ca} , $I_{\text{K}(\text{Ca})}$, $I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ の最大コンダクタンスが推定した値よりも小さい, あるいはカリウム, 塩素イオンの平衡電位がより脱分極側にある等 I_{Ca} , $I_{\text{K}(\text{Ca})}$, $I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ の振幅が小さくなる条件下では, I_h , I_{Kv} , I_{NC} , I_{ATP} もスパイク発生に関与してくることから, 式 (5.27), (5.28) の条件にこれら 3 種の電流も加える必要がある.

以上の結果から, Zenisek らの報告しているシナプス終末の自発的スパイク現象には, I_{Ca} のほかにカルシウム依存性電流 $I_{\text{K}(\text{Ca})}$, $I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ が重要と考えられる. 先に述べたように本モデルでは, 膜電位固定実験結果より推定した最大コンダクタンス値を, 20~150%変化させ自発的スパイクの発生を確認した. Zenisek

らによれば、約30%の細胞で自発的カルシウム濃度上昇が観測されなかったこと、また電流注入によるスパイク応答にも2種類あったことを報告している [139]。今回のシミュレーション解析結果とこの報告より、細胞によってこれら3種のイオンコンダクタンス、すなわちイオンチャネル数の割合にばらつきがあると考えられる。また、シナプス終末には伝達物質であるGABAによって作動する電流 [2, 65, 118] や I_{Ca} が細胞内情報伝達機構によって制御されていることも報告されており [67]、細胞によって細胞の内部状態に違いがあることも考えられる。

5.4 まとめ

本章では、網膜オン型双極細胞のシナプス終末に存在するイオン電流機構およびカルシウム機構についてモデル化し、シナプス終末モデルを構築した。また膜電位固定、膜電流固定シミュレーションによりその妥当性を検証し、提案モデルがシナプス終末の膜特性を十分に表現できることを示した。次に、シナプス終末で発生する自発的スパイク現象について、構築したモデルを用いたシミュレーションにより解析した。その結果、自発的スパイク発生には、過分極状態では内向き電流である I_{Ca} が優性、脱分極状態では外向き電流であるカルシウム依存性電流 $I_{K(Ca)}$ 、 $I_{Cl(Ca)}$ が優性である膜特性によって発生することを示した。アマクリン細胞から双極細胞へのGABAあるいはglycineを情報伝達物質とするフィードバック入力は、塩素コンダクタンスを介することが知られている [2, 65, 118]。更にトラフサンショウウオの双極細胞のシナプス終末では、 I_{Ca} を制御すると考えられるGABAレセプタが報告されており [67]、3次ニューロンからの入力によって、自発的スパイク列発生の閾値が調節されている可能性もある。また、こうしたアクティブなシナプス終末の特性は、細胞体の応答を修飾するものと考えられる。従って、双極細胞応答は、視細胞からの入力のみならず、アマクリン細胞あるいは神経節細胞といった3次ニューロンにも強く依存することが考えられる。本章で提案したオン型杆体双極細胞のシナプス終末モデルは、こうした双極細胞の非線形な膜特性と、双極細胞の光応答形成との関連を明確に示すことを可能にするものである。

第6章

オン型双極細胞内伝達特性と 光応答モデル

双極細胞の光応答特性は通常、細胞体にガラス微小電極を刺入することや、パッチ電極を当てることで計測されている。第2章で述べたように、双極細胞は、形態やイオン電流機構の違いから大きく3つの部位に分割できる。こうしたイオンチャネル分布の違いから、双極細胞の電気的特性もまた一様でないことが予想され、細胞の部位によって信号に対する修飾作用に大きく違いがあることも考えられる。さらに、双極細胞は視細胞から神経節細胞へと情報を伝達する位置にある細胞であり、樹状突起では視細胞から、シナプス終末ではアマクリン細胞からと、細胞の両端2ヶ所を入力を受けている。すなわち、双極細胞細胞体で記録される光応答特性は、樹状突起への視細胞入力の他に、細胞自身の膜特性や、シナプス終末への入力によって強く修飾されている可能性がある。前章までに双極細胞のイオン機構に基づいて、細胞体、シナプス終末の各部位(コンパートメント:compartment)の数理モデルを構築した。本章ではこれらのモデルを統合し、オン型杆体双極細胞のコンパートメントモデルを構築する。このモデルを用いた計算機シミュレーションにより、細胞体からシナプス終末、逆にシナプス終末から細胞体への情報伝達特性について解析する。さらに、視細胞まで含めたネットワークモデルを用いて、オン型杆体双極細胞の光応答を再現するモデルを構成し、光応答波形の形成における各部位のイオン電流の影響を解析する。

6.1 オン型杆体双極細胞のコンパートメントモデル

第4章、第5章で構築した細胞体、シナプス終末の各モデルを統合し、オン型杆体双極細胞のコンパートメントモデルを構成した(図6.1)。ただし、以下の仮定をおいた。

- 1) シナプス終末にカルシウムチャネルのほとんどが存在することが報告されていることから [120]、本モデルでは細胞体にはカルシウムチャネルと細胞内カルシウム依存性チャネルはないものと仮定した。そのため、細胞体のモデル(第4章)に含まれる I_{Ca} および細胞内カルシウム依存性電流である $I_{K(Ca)}$ は0とした。
- 2) 生理実験で得られているシナプス終末部位の I_{Kv} は細胞体のそれに比較すると小さいため無視し、シナプス終末部位の I_{Kv} は0とした。

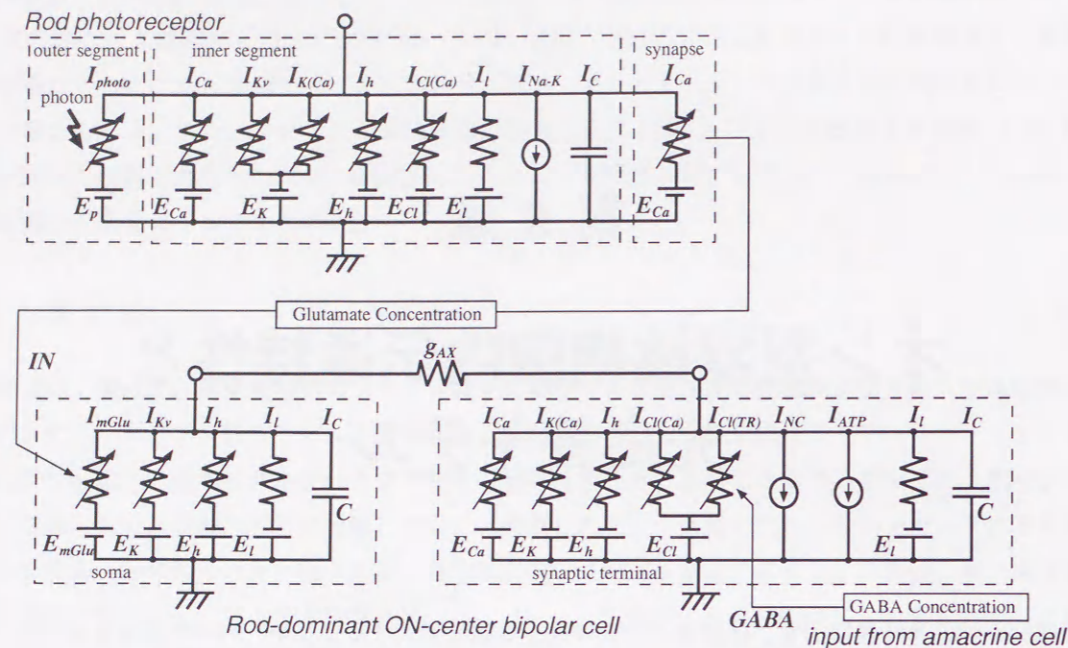


図 6.1 オン中心型杆体双極細胞のネットワークモデル

また視細胞からの伝達物質であるグルタミン酸によって駆動する電流 I_{mGlu} については、次節で述べるモデル化を行い、細胞体モデルに並列に付加した(図 6.1)。さらに、シナプス終末に存在する GABA 作動性電流については、生理的範囲では、膜電位依存性が見られないことから [2] 簡単に塩素電流として次式で記述し、シナプス終末モデルに並列に付加した。

$$I_{Cl(GABA)} = g_{Cl(GABA)} \cdot GABA \cdot (V - E_{Cl}) \quad (6.1)$$

$I_{Cl(GABA)}$: GABA 作動性塩素電流 [pA]
 $g_{Cl(GABA)}$: コンダクタンス [nS]
 $GABA$: GABA を介した入力 0~1
 E_{Cl} : 反転電位 [mV]

双極細胞は、シナプス終末においてアマクリン細胞からフィードバック入力を受けているが(第 2 章 2.3.5 節参照)、上式において、 $GABA$ がアマクリン細胞からのフィードバック入力である。

6.1.1 グルタミン酸作動性電流モデル、 I_{mGlu}

代謝型レセプタによる細胞内情報伝達は、cGMP や PDE を介しているなど、視細胞の光変換機構と類似した構造をしていることから、 I_{mGlu} は、Torre らの視細胞外節の光変換機構モデル [125] と同様なカスケード構造を持つモデル(図 C.4)を用い次式で記述した。

$$\frac{d[RGlU]}{dt} = \alpha_r([R]_{max} - [RGlU])[Glu]_{max}IN - \beta_r[RGlU] \quad (6.2)$$

$$\frac{d[PDE^*]}{dt} = \alpha_p([PDE]_{max} - [PDE^*]) - \frac{\beta_p}{1 + \frac{[RGlU]}{K_p}}[PDE^*] \quad (6.3)$$

$$\frac{d[cGMP]}{dt} = P_{cG} - [cGMP](h_{p0} + \beta_{cg}[PDE^*]) \quad (6.4)$$

$$g_{mGlu} = \frac{[cGMP]^{n_{cg}}}{g_{mGlu} [cGMP]^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}} \quad (6.5)$$

$$I_{mGlu} = g_{mGlu} \cdot (V - E_{mGlu}) \quad (6.6)$$

- $RGlU$: 活性化したレセプタの総数
- IN : 杆体視細胞入力 0~1
- $[Glu]_{max}$: 最大グルタミン酸濃度, 78 [mM]
- α_r, β_r : 速度定数, 19 [$s^{-1}mM^{-1}$], 50 [s^{-1}]
- $[R]_{max}$: グルタミン酸レセプタの総数, 120 [mM]
- $[PDE^*]$: 活性化した PDE 濃度 [mM]
- α_p, β_p, K_p : 速度定数, 1.1 [$s^{-1}mM$], 124 [s^{-1}]
- $[PDE]_{max}$: PDE の総濃度, 1 [mM]
- $[cGMP]$: cGMP 濃度 [mM]
- P_{cG} : cGMP の生産量 0.4 [$s^{-1}mM$]
- h_{p0} : $[Glu]_{clef} = 0$ 時の PDE による cGMP の加水分解量 2.25 [$s^{-1}mM^{-1}$]
- β_{cg} : PDE による cGMP の加水分解量, 1500 [s^{-1}]
- g_{mGlu} : コンダクタンス [nS]
- $\frac{g_{mGlu}}{g_{mGlu}}$: 最大コンダクタンス, 7.3 [nS]
- K_g : 解離定数, 0.323 [mM]
- n_{cg} : ヒル定数, 2.0
- I_{mGlu} : 代謝調節型グルタミン酸作動性電流 [pA]
- E_{mGlu} : 反転電位, 0 [mV]

各パラメータは、生理実験結果 [81,98,102] より推定した。この推定の詳細については、付録 C に記す。この式において、視細胞シナプス終末からの出力は、 IN に入る。

6.1.2 軸索コンダクタンスの推定

双極細胞の細胞体とシナプス終末は軸索によって結ばれているが、双極細胞の電気的特性の記述をするためには、この軸索部分のコンダクタンスである g_{AX} を求めることが必要となる。実験的には細胞体とシナプス終末の両者に電極を刺入することで可能と考えるが、双極細胞自体が小さいことから、測定は困難である。そこで、細胞体に電極を刺入したときとシナプス終末に電極を刺入したときに計測した I_{Ca} の I-V 特性の違いより g_{AX} を推定した。

オン型双極細胞のカルシウム電流を細胞体、シナプス終末それぞれで計測したとき、電流-電圧 (I-V) 特性でピークに達する膜電位は細胞体からの記録がより過分極側にあることが報告されている [76]。図 6.2A は、図 6.1 のモデルを用いてこの実験のシミュレーションをした結果である。実験結果と同様シナプス終末で記録した場合(図 6.2A 薄い線)に比較して、細胞体から記録した場合(図 6.2A 実線)のほうがより過分極側でピーク値に到達している。また、細胞体で記録した場合の I-V 特性の形状は、 g_{AX} に依存しており、 g_{AX} が小さいほどシナプス終末で記録したときより過分極側にシフトしている。図 6.2B は、膜電位のこのシフト量を、 g_{AX} に対して描いたものである。生理実験結果によれば、双極細胞の細胞体で記録したとき、シナプス終末での記録に比較して約 $10 \pm 2mV$ 過分極側へシフトしている [76]。この結果と図 6.2B より、軸索コンダクタンス g_{AX} を推定すると、 g_{AX} は約 17~25 nS である(図 6.2B 薄い線)。一方、細胞質抵抗の値を 200~400 Ωcm [112] とし、オン型杆体双極細胞の軸索を直径 2.0 μm 、長さ 40 μm [37] としたとき、その軸索コンダクタンスは、 $g_{AX} = 20 \sim 40$ [nS] である。これらの結果から、双極細胞の軸索コンダクタンスの値は、20~30 [nS] が妥当であるものと考えられる。そこで本モデルでは $g_{AX} = 25$ を用いた。

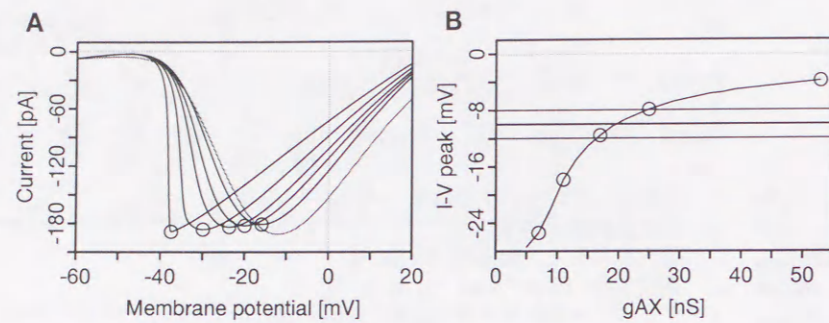


図 6.2 細胞体で記録したときの I-V 特性

A: I-V 特性. シナプス終末で記録した時 (薄い線) に比較して, 細胞体で記録した時は, 軸索コンダクタンスが小さくなるほど I-V のピーク電位が過分極側になる. B: A の結果から, 細胞体で記録したときのピーク電位 (丸印) とシナプス終末で記録したときのピーク電位の差を軸索コンダクタンス g_{AX} に対してプロット.

6.2 細胞体-シナプス終末間の情報伝達特性

細胞体とシナプス終末間の情報伝達特性に関して, 以上まで構築したオン型杆体双極細胞のコンパートメントモデルを用いて解析を行った. 最初に, 静的な膜特性より細胞体-シナプス終末間の結合特性について解析し, 次に, 両者間での周波数特性についてシミュレーション結果より考察する.

6.2.1 結合特性

細胞体からシナプス終末, 逆にシナプス終末から細胞体への伝達の程度を調べるには, 一方の細胞膜で起きた伝達物質によるコンダクタンス変化による他方の膜電位の変化量を調べればよい. この割合を結合係数と定義する. 細胞体のコンダクタンス変化がシナプス終末の膜電位に与える影響の割合である結合係数 K_{ST} は次式によって求められる (付録 D 参照).

$$K_{ST} = \frac{g_{AX}}{G_{ST} + g_{AX}} \quad (6.7)$$

ここで, G_{ST} はシナプス終末の膜コンダクタンスの総和であり,

$$G_{ST} = g_h + g_{Ca} + g_{K(Ca)} + g_{Cl(Ca)} + g_l \quad (6.8)$$

逆に, シナプス終末のコンダクタンス変化による変化は,

$$K_{TS} = \frac{g_{AX}}{G_{SM} + g_{AX}} \quad (6.9)$$

で求められる. ここで, G_{SM} は細胞体の膜コンダクタンスの総和で,

$$G_{SM} = g_{mg} + g_h + g_{Kv} + g_l \quad (6.10)$$

である. 式 (6.7), (6.9) より結合係数は, 細胞体, シナプス終末の膜コンダクタンスの総和と軸索コンダクタンスによって決定される. 構築した双極細胞モデル (図 6.1) を用いて, 表 6.1 に示す条件の時の, 細胞体, シナプス終末の膜コンダクタンスを求めた. また, 軸索コンダクタンス g_{AX} は, 前節の結果より, 25 nS

表 6.1 双極細胞の結合係数を求めるために用いたパラメータ

E_K	-100 [mV]
E_{Cl}	-55 [mV]
$[Na^+]_{ex}$	115 [mM]
$[Na^+]_{in}$	4 [mM]
$[Ca^{2+}]_{ex}$	2.5 [mM]

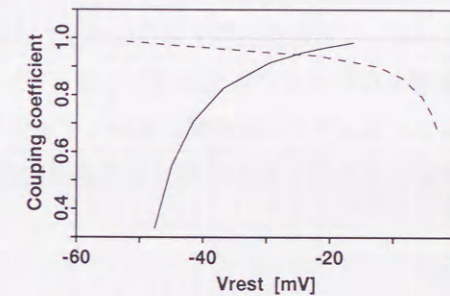


図 6.3 静止膜電位に対する細胞体とシナプス終末の結合係数の変化

実線: 細胞体からシナプス終末への伝達係数. 破線: シナプス終末から細胞体への伝達係数.

を用いた. 静止時 ($V_h = -47$ [mV]) での両者の膜コンダクタンスの総和は, 細胞体で $G_{SM} = 2.1$ [nS], シナプス終末で $G_{ST} = 0.34$ [nS] が導出された. この結果, 結合係数 K_{ST} , K_{TS} はそれぞれ, 0.92, 0.99 になる. すなわち, 細胞体での膜電位変化はその 9 割以上がシナプス終末へ伝達し, シナプス終末での膜電位変化はほぼ 100% 細胞体へと伝達するといえる.

次に細胞の膜コンダクタンスは, 細胞の膜電位に依存することから, ある静止電位での結合係数 K_{ST} , K_{TS} を求めた. 電流注入シミュレーションによる結果, $-80 \sim -10$ mV では K_{ST} , K_{TS} は, ほとんど変化が見られなかった. これは各部位のコンダクタンスの総和に比較して g_{AX} が大きいこと, このような結果になると考えられる.

最後に膜電位レベルを, あるイオンコンダクタンスの値を変えることにより調節した場合の結果を図 6.3 に示す. 図 6.3 において, 実線はコンダクタンスが増えるほど膜電位が過分極するイオン電流を変化させた時の結果であり, 破線はコンダクタンスが増えるほど脱分極するイオン電流を変化させた時の結合係数である. 具体的には, 前者はフィードバック入力を介す塩素コンダクタンス (すなわち $g_{Cl(GABA)}$), 後者はフィードフォワード入力を介すグルタミン酸作動性コンダクタンス (すなわち, $\overline{g_{mGlu}}$) である.

双極細胞へのアマクリン細胞からのフィードバック入力は, シナプス終末のみに入力され, その部位の GABA もしくは glycine 作動性塩素コンダクタンスを制御していると考えられている (第 2 章 2.3.5 節参照). したがって, フィードバック入力は, シナプス終末の膜コンダクタンスを変化させ, 式 (6.7) より細胞体からシナプス終末への伝達効率に関係する. 図 6.3 実線の特性より, フィードバック入力によって制御される塩素コンダクタンスを大きくするほど膜電位は過分極し, その結果, 過分極になるほどシナプス終末部位

のコンダクタンスの総和は増加することで結合係数は低くなる。このことは、より強いフィードバック入力があるとき細胞体からシナプス終末方向への伝達が悪くなり、シナプス終末が電氣的にアイソレートされることを意味している。したがって、双極細胞はアマクリン細胞からのフィードバック入力効果を増強する膜特性を有しているものと考えられる。一方、杆体視細胞からのフィードフォワード入力は、細胞体のコンダクタンス変化を引き起こし、その結果、式(6.9)より、シナプス終末から細胞体への伝達効率に関与することが示唆される。図6.3破線より脱分極側ほど結合係数が低く過分極側は高いことから、杆体入力があり細胞が脱分極している状態では、シナプス終末からの伝達効率が下がることを意味する。このことから、薄暗い光刺激による入力時など杆体入力小さいときには、シナプス終末でのコンダクタンス変化(例えばフィードバック入力によるもの)が細胞体応答に顕著に現われると考えられる。また、図6.3の結果は、両曲線の交差する膜電位、 -25mV 以下では、シナプス終末から細胞体への方向がより伝達しやすい特性を持っていることも示している。双極細胞の静止電位は通常、 $-30\sim-40\text{mV}$ であるため、双極細胞はシナプス終末での電位変化の影響を受けやすい電氣的特性を持っていると考えられる。

以上の結果は、結合係数をイオンコンダクタンスが時間に関わらず一定の条件で導出していることから、ある背景光下の静止状態から光刺激が入った後、極短時間での双極細胞の膜特性と言える。

6.2.2 周波数特性

細胞体-シナプス終末間の動的な伝達特性に関して調べるため、細胞体-シナプス終末間の周波数伝達特性を、フォワード入力である杆体視細胞入力 IN 、シナプス終末へのフィードバック入力である $GABA$ に単一正弦波入力を加えることでシミュレーションを行い、そのときの応答特性を調べた。図6.4Aは、視細胞入力 IN に入力を与えたときの細胞体応答 V 、シナプス終末の I_{Ca} 変化である。これより周波数が高いほど細胞体、シナプス終末応答とも振幅が小さくなるのがわかる。図6.5Aは、これより周波数に対する細胞体、シナプス終末での振幅変化をプロットした結果である。これらの結果より双極細胞は、視細胞入力で約 1Hz の信号を通過させるバンドパスフィルタの特性を有していることを示している。一方、シナプス終末入力に対する周波数特性(図6.5B)では、このフィルタ特性のピークに達する周波数が約 30Hz と、異なった周波数特性を示した。これらの結果は、双極細胞が視細胞(フィードフォワード)入力に対しては高周波成分をカットする膜特性であること、さらにシナプス終末(フィードバック)入力に対しては、むしろ高周波成分を良く通過させる特性であることを示している。このことは、シナプス終末でフィードバック入力により急峻な膜電位変化が生じた場合、それが容易に細胞体へと伝達されることを意味すると考えられる。また、図6.4A、Bの I_{Ca} の波形から分かるように、シナプス終末の I_{Ca} は、膜電位変化のうち過分極方向よりも脱分極方向を強調した波形になる。これは I_{Ca} の非線形な $I-V$ 特性のためであるが、 I_{Ca} の変化すなわち細胞内 Ca^{2+} は、シナプス終末からの伝達物質放出のトリガであることから [120]、こうした特性はオン型双極細胞においてオン応答を強調する機構に関与しているものと考えられる。

6.3 オン型杆体双極細胞の光応答の再構成

本節では、オン型杆体双極細胞の電位応答ダイナミクスに対してシナプス終末や各イオン電流の及ぼす影響について計算機シミュレーションにより解析した。オン型杆体双極細胞の光応答を再構成するため、

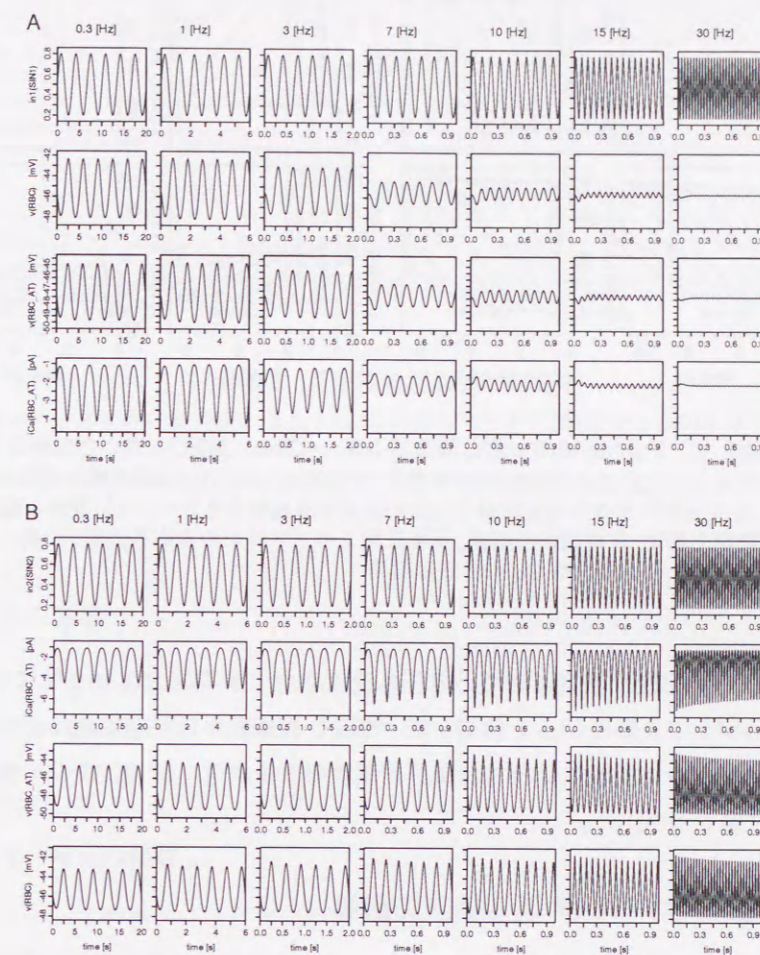


図6.4 単一周波数刺激による膜電位応答と終末の I_{Ca} 変化
A: 視細胞入力 IN に入力を与えたときの各応答波形。上から視細胞入力 IN 、細胞体の膜電位 V 、シナプス終末の膜電位 V 、シナプス終末の I_{Ca} 。B: $GABA$ 入力 $GABA$ に入力を与えたときの各応答波形。上から $GABA$ 入力 $GABA$ 、シナプス終末の I_{Ca} 、シナプス終末の膜電位 V 、細胞体の膜電位 V 。

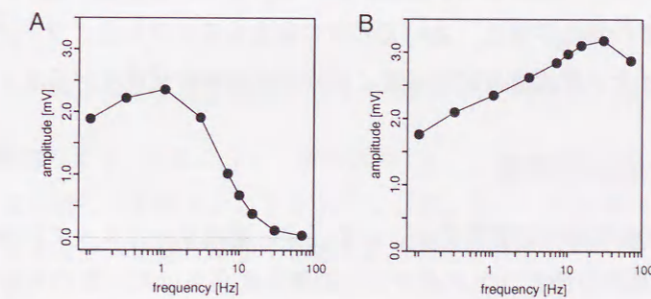


図6.5 オン型杆体双極細胞の周波数特性
図6.4の結果より求めた周波数特性。A: 細胞体への視細胞入力による細胞体とシナプス終末応答の周波数特性。B: シナプス終末への $GABA$ 入力による細胞体とシナプス終末応答の周波数特性。

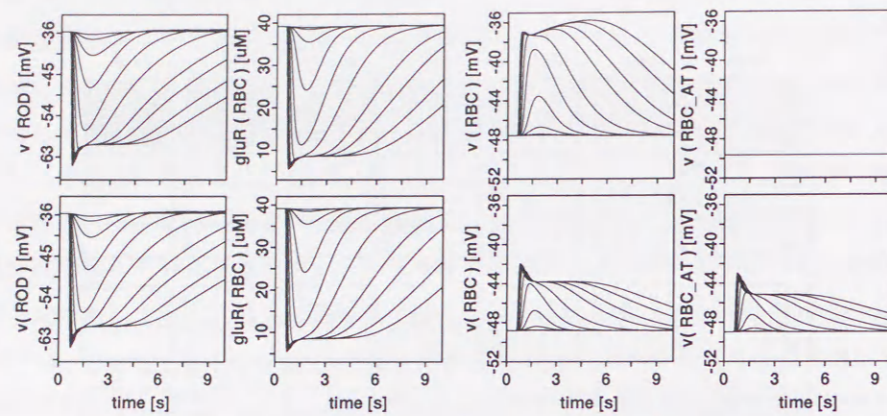


図 6.6 光応答シミュレーション結果

300ms のフラッシュ光による刺激時の応答波形。光強度が 0.0006, 0.0018, 0.006, 0.018, 0.06, 0.18, 0.6, 1.2, 3, 6 のフラッシュ光を与えた時の結果が重ね書きされている。左から順に、杆体、グルタミン酸濃度変化、双極細胞細胞体、双極細胞シナプス終末の光応答波形。上段: $g_{AX} = 0$ のときの結果。下段: $g_{AX} = 25$ [nS] のときの結果。

前節までに構築したモデルと既に提案されている杆体視細胞モデル [41, 150, 151] より、図 6.1 に示した等価回路で表されるネットワークモデルを構築した。なお、視細胞から双極細胞への情報伝達は、視細胞シナプス終末部位のカルシウム電流によってシナプス間隙のグルタミン酸濃度変化を制御される機構を導入しモデル化した (付録 C 参照)。

6.3.1 細胞体応答に対するシナプス終末の影響

図 6.6 に、光強度を変えた時のフラッシュ光応答をシミュレーションした結果を示す。左から順に杆体、グルタミン酸濃度、細胞体の膜電位、シナプス終末の膜電位応答を示しており、上は、 $g_{AX} = 0$ すなわち双極細胞が細胞体だけの場合のシミュレーション結果、右は $g_{AX} = 25$ [nS] で細胞体とシナプス終末のコンパートメントを結合した場合のシミュレーション結果である。両者で細胞体の電位変化を比較すると、細胞体だけの場合、強い光刺激を加えた時、振幅が徐々に大きくなる特性が見られるが、シナプス終末まで含めたモデル応答ではその特性が消え、強い光刺激の場合もほぼ平らなプラトが形成されている。この結果は、シナプス終末のイオン電流成分によって、光応答が修飾を受けていることを示すものである。

6.3.2 各イオン電流成分の影響

次に、図 6.6 に示した双極細胞の応答特性が、どのイオン電流成分によって形成されているのかについて、双極細胞の各イオン電流の最大コンダクタンスの値を変化させたときの光応答の変化の傾向から調べた (図 6.7)。シミュレーションは、各コンダクタンス値を通常の 2, 1.5, 0.5, 0.25 倍に変化させて行った。図 6.7 は、その時の細胞体での膜電位応答の重ね書きで、上段は光強度が弱いときの、下段は光強度が強いときの結果である。各コンダクタンス値を変化させると、光応答の他にの範囲で静止電位も変化する (-40 ± 5 mV)。応答ダイナミクスに与える各イオン電流成分の影響を調べるため、図 6.7 では静止電位を 0 mV とし、応答振幅のみ重ね書きした。

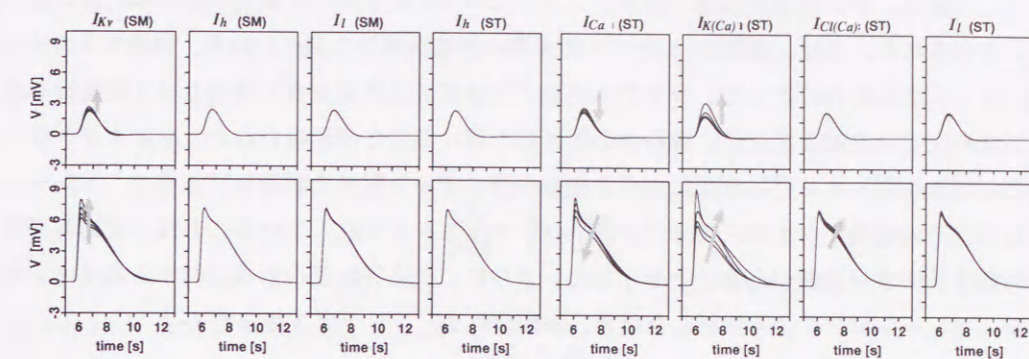


図 6.7 双極細胞細胞体の光応答

イオンコンダクタンスの最大値を、2.0, 1.0, 0.25 倍したときの光 (左から 0.018, 0.18 の光強度) に対する双極細胞の膜電位変化。応答から静止膜電位 ($V_h = -46$ [mV]) を引き振幅変化を示した。左から順に、細胞体の \bar{g}_{Kv} , \bar{g}_h , \bar{g}_l , シナプス終末の \bar{g}_h , \bar{g}_{Ca} , $\bar{g}_{K(Ca)}$, $\bar{g}_{Cl(Ca)}$, \bar{g}_l の値を変更した時の結果。矢印は、コンダクタンス値を小さくしたときの变化方向を示す。

細胞体のイオン電流の影響

I_{Kv} , I_h , I_l のコンダクタンスを変化させシミュレーションを行ったところ、 I_h , I_l については、コンダクタンス値を変えても膜電位応答にはほとんど影響しなかった。 I_{Kv} を変更した時 (図 6.7 $I_{Kv}(SM)$) のみ応答に影響が現われ、この時、 I_{Kv} が小さいほど応答の振幅は大きくなる。

シナプス終末のイオン電流の影響

- I_{Ca} ; コンダクタンスが小さいほど光応答の振幅が減少する。特に 1.0 倍と、2.0 倍 (薄い線) で比較すると、一過性の部分の振幅が増加するが、プラト部分の電位はほとんど変化がない。
- $I_{K(Ca)}$; コンダクタンスが小さい場合は電流振幅が全体的に大きくなる。また、一過性の成分が強調されると同時に、プラト部分の時間的変化にも違いがあらわれる。
- $I_{Cl(Ca)}$; コンダクタンスが小さいほどプラト部分の振幅が小さくなる。最初の一過性の部分の振幅はほとんど変化しない。
- I_l ; コンダクタンスが大きくなるほど振幅が小さく傾向が見られるが、大きな変化ではない。

以上の結果は、双極細胞のイオン電流のうち、細胞体の I_{Kv} 、シナプス終末の I_{Ca} , $I_{K(Ca)}$, $I_{Cl(Ca)}$ が、オン型双極細胞の光応答に対して影響することを示している。また、その中でも、シナプス終末の I_{Ca} , $I_{K(Ca)}$ は、光応答のダイナミクスに対して強く影響すると考えられる。

6.4 まとめ

網膜オン型杆体双極細胞は、杆体からの明暗情報のうちオン情報を処理、伝達を司る細胞である。本章では、細胞体モデル、シナプス終末モデルに新たに伝達物質作動性の電流モデルを付加し、オン型杆体双極細胞のコンパートメントモデルを構築した。このモデルを用いて、細胞体-シナプス終末間の伝達特性を

静的に解析した結果、オン型双極細胞ではシナプス終末のコンダクタンス変化が細胞体応答に強く影響を及ぼすことが示された。また、細胞体-シナプス終末間の周波数特性を調べた結果、細胞体入力成分は、高周波が強くカットされるのに対して、シナプス終末入力が高周波成分を良く通過させる膜特性を有しており、シナプス終末での急峻な変化が、細胞体応答に強く現れることが示唆された。次にネットワークモデルを用いて、双極細胞のオン応答形成における細胞の持つイオン電流の影響を計算機シミュレーションにより解析した。その結果、シナプス終末にカルシウムチャネルが局在していることは、光応答ダイナミクスに強く影響を及ぼす可能性があることを示した。さらに、光応答波形の形成に対する各イオン電流成分の影響をシミュレーションにより解析した結果、細胞体の I_{Kv} 、シナプス終末の I_{Ca} 、 $I_{K(Ca)}$ 、 $I_{Cl(Ca)}$ が強く影響を及ぼすことが示唆された。

第7章

結論

7.1 本研究の成果

網膜外網状層では、視覚情報に対する基本的な処理が行われており、その詳細を解析するためには従来の解析的手法のみではなく、既に解析的手法によって得られている知見を基に構築したモデルによるアプローチが重要である。特に神経細胞では、その処理の基礎的な構成要素であるイオン電流に基づいたモデルが有効となる。双極細胞のイオン機構にはその細胞形態の各部位で違いが見られ、特に細胞体部分のイオン機構と、内網状層に位置するシナプス終末部分のそれとは大きな違いが見られる。通常双極細胞の光応答特性は、その細胞体部分から計測されており、こうした細胞体応答に対して双極細胞細胞膜のイオン機構の不均一性の影響を明確にすることは、今後、光応答波形の解析などによって網膜の情報処理機能を理解していく上で重要であると考えられる。

第4章では、各イオン電流の膜電位固定実験結果および生理学的、生化学的知見に基づき、双極細胞細胞体の各イオン電流およびカルシウム機構をモデル化することにより、双極細胞細胞体のイオン電流モデルを構築した。提案モデルの妥当性は、膜電位固定および膜電流固定シミュレーションにより評価し、本モデルが双極細胞の複雑な膜特性を十分に表現できることを示した。また本モデル上で行った膜電流固定シミュレーションにより、各々のイオン電流が電位応答の形成に対してどのように関与しているのかを解析した。これより生理実験では直接測定することが困難な、電位応答時の各イオン電流の関与を解析することが可能となった。双極細胞は、主に結合する視細胞の種類から杆体型、錐体型の2種類に分類されている。ホワイトバス網膜においては、細胞体の大きさによって識別した両者での膜電位固定応答に違いがみられる。提案モデルにおいて適当なパラメータセットを決定することにより、こうした両者の膜電流固定応答の違いを表現することが可能である。その結果 I_A があるとき杆体型と同様の、また I_A がいないとき錐体型と同様の応答波形が得られた。したがって両者の膜電位固定応答波形の違いは、 I_A の有無によって決定されることが考えられる。

第5章では、双極細胞シナプス終末でのイオン電流機構の実験結果を基に、双極細胞シナプス終末の数理モデルを構築した。本モデルもまた、細胞体モデル同様、細胞の示す膜電位固定応答、膜電流固定応答を再現可能であり、シナプス終末の膜特性を十分に表現できるモデルである。このモデルを用いてシナプス終末での自発的スパイク現象について計算機シミュレーションにより解析した。その結果、過分極状態

では、 I_{Ca} が優性、脱分極状態では外向き電流であるカルシウム依存性電流 $I_{K(Ca)}$ 、 $I_{Cl(Ca)}$ が優性である膜特性によって発生することが示された。シナプス終末には、アマクリン細胞から双極細胞への GABA あるいは glycine を情報伝達物質とするフィードバック入力があること、[2, 65, 118]、あるいは双極細胞のシナプス終末の I_{Ca} は GABA によって間接的に抑制されるなど [67]、3 次ニューロンからの入力によって、シナプス終末のイオン電流が調節されていることが報告されている。 I_{Ca} 、 $I_{K(Ca)}$ 、 $I_{Cl(Ca)}$ の Ca^{2+} に関与したイオン電流が、自発的スパイク発生に強く関与しているというシミュレーション解析の結果は、3 次ニューロンからの入力によって双極細胞シナプス終末部位でのスパイク発生が制御されている強い可能性を示唆するものである。

最後にこうしたシナプス終末での膜電位変化が細胞体で記録される光応答に対してどの程度影響を及ぼすのか明確にするために、第 6 章で細胞体-シナプス終末間の伝達特性について解析した。第 4 章、第 5 章で構築した細胞体、シナプス終末のモデルを統合し、双極細胞全体のコンパートメントモデルを構築した。このモデルを用いて、細胞体-シナプス終末間の伝達特性を解析し、オン型双極細胞ではシナプス終末のコンダクタンス変化が細胞体応答に強く影響を及ぼすことを示した。また、入力コンダクタンスと細胞体-シナプス終末間の伝達特性の関係についても考察し、視細胞入力があり細胞が脱分極している状態では、シナプス終末から細胞体への伝達効率が下がること、シナプス終末へのフィードバック入力が強まると、細胞体からシナプス終末への伝達の効率が下がることを示唆した。さらに周波数特性より、細胞体入力の高周波成分はほとんどシナプス終末へと伝達しないのに対して、シナプス終末入力の高周波成分は細胞体へと容易に伝達することを示した。これらの結果は、オン型杆体双極細胞は、視細胞から受けた入力をただ伝達して神経節細胞へと出力するだけでなく、イオンチャネルの特性や、不均一なチャネル分布によって入力信号が双極細胞内で修飾作用を受けていることを示すものである。さらに、これらの結果は、双極細胞のシナプス終末で生じた電位変化は細胞体の膜電位に対して顕著に影響を及ぼし得るものであることを示している。そこで最後に本モデルを用いて杆体-双極細胞ネットワークモデルを構成し、双極細胞の光応答波形形成に対して、細胞の各部位のイオン電流が及ぼす影響について計算機シミュレーションにより解析した。まず、シナプス終末がどの程度応答形成に関わってくるのか確認した結果、シナプス終末によって光応答ダイナミクスが大きく変化することを示した。さらに、光応答波形の形成に対する各イオン電流成分の影響をシミュレーションにより解析した結果、細胞体の I_{Kv} 、シナプス終末の I_{Ca} 、 $I_{K(Ca)}$ 、 $I_{Cl(Ca)}$ が強く影響を及ぼすことが示唆された。こうした結果は、通常、双極細胞の光応答ダイナミクスは、樹状突起部位 (外網状層) への入力成分のみで決定されるのみならず、双極細胞自身の膜特性、さらにはシナプス終末部位 (内網状層) への入力によって生じるシナプス終末の膜電位変化によって強く修飾を受けることを意味するものである。すなわち、通常、細胞体から記録されている双極細胞の光応答は、外網状層および内網状層、両者の部位で他の細胞から受ける入力統合されたものが観測されていると言える。

第 2 章においてまとめたように、双極細胞には形態学、電気生理学的にみて数種のサブタイプが存在する。本論文では、その細胞の大きさから実験が最も容易なため、そのイオン機構が詳細に判明しているオン型杆体双極細胞についてモデル化を行い、細胞自身の電氣的膜特性について明らかにした。オフ型や錐体型といったサブタイプについても、オン型同様のイオンチャネル分布、例えばカルシウムチャネルがシナプス終末に局在するなど、もしくはサブタイプ特有のイオン機構の詳細など、各サブタイプのイオン機構の特性が明らかになれば、本モデルを改良、修正することによってそれらサブタイプのモデルを構築することが可能である。すなわち、本論文で提案したオン型杆体双極細胞モデルは、双極細胞に関するイオ

ン電流レベルの知見をほぼ網羅し統合したものであり双極細胞数理モデルの基本であると考えられる。

このように網膜を構成する各細胞レベルでの数理モデルが構築されることによって、それらを使用した神経回路モデルを構成し、それを用いて細胞特性に加え回路特性により生じている視覚機能を解析することが可能になる。既に網膜の細胞の中で、視細胞 [41, 150, 151]、水平細胞 [128, 129] に関してはそのイオン機構に基づいたモデルが構築されており、本論文で構築した双極細胞モデルより、外網状層を構成する神経細胞モデルの基本が完成したといえる。また神経節細胞についてもイオン電流レベルのモデルが提案されている [24, 154]。これらのモデルをネットワークモデルへ統合し解析に使用するためには、情報伝達機構すなわちシナプス結合機構について数理的に記述する必要がある。視細胞-双極細胞の情報伝達機構に関しては付録 C に簡単にまとめたが、シナプス前部終末からの伝達物質放出機構や伝達物質回収機構などその詳細な特性は未だ明らかになっていない。同様の問題が、双極細胞のシナプス終末側、双極細胞-神経節細胞間のシナプス結合に関しても存在し、双極細胞シナプス終末側のカルシウムチャネルと伝達物質放出部位との位置的な関連や、神経節細胞シナプス後部でのグルタミン酸受容体のシナプス終末内分布特性など今尚研究が進められている分野である [95]。このようなシナプス入出力に関する問題に対しても、本論文で構築した双極細胞モデルを用いて、逆モデルによる入力成分の推定手法 [148] を適用することや、シナプス特性が分離できる実験条件をシミュレーションにより求め生理実験により確認するなど、計算機シミュレーションと生理実験を組み合わせることで解明可能であると考えられる。双極細胞に限らず各細胞のイオン機構と、網膜の情報処理機能の関連が明らかになれば、その中から新しい視覚情報処理アルゴリズムの開発や、網膜の前処理機能を備えたビジョンチップなど [74] 工学的応用にも期待できる。本論文で構築した双極細胞の数理モデルは、網膜情報処理機能解明に向け、その礎になることを確信する。

謝辞

本研究を進めるにあたり、始終懇切なる御指導を賜った豊橋技術科学大学情報工学系白井支朗教授に深く感謝いたします。

愛知県立大学神山齊己助教授には、日頃より御熱心な御指導、また本研究に関して多大かつ有益なる御助言、本論文をまとめるにあたって数々の御助言、御指導をいただいた。ここに深く感謝の意を表します。

本論文をまとめるにあたり、懇切な御助言と、御鞭撻を賜りました情報工学系宇野洋二教授に深く感謝いたします。

本論文は、東京大学心理学研究室立花政夫教授の生理実験データの多くを参照しており、その貴重な研究成果無くしてはありえなかった。また、立花教授には本論文をまとめるにあたって懇切な御討論、御助言を賜りました。ここに深く感謝いたします。

日頃より本研究に関して有益な御討論、御助言を賜りました愛知県立大学戸田尚宏助教授、情報工学系中内茂樹講師に深く感謝いたします。

本研究を始め進めていくにあたり、池野英利助教授(現 姫路工業大学)、石井宏幸氏(現 インターナショナルネットワークセキュリティ)、河合房夫氏(現 藤田保健衛生大学)、小椋俊彦氏(現 オムロンライフサイエンス研究所)には、おしめない御協力、御助言をいただいた。ここに、深く感謝いたします。

研究のみならずその支援環境の整備、また日頃からの相談に乗って頂いた本学生体・情報工学研究室の諸先輩方、並びに、日夜努力を共にした同輩、後輩諸君に深く感謝いたします。

最後に、長期に渡り大学に通わせて頂き、おしめない経済的御支援、精神的支援を続けて下さった両親に心より感謝いたします。

付録 A

双極細胞細胞体のイオン電流モデル記述

双極細胞細胞体の各イオン電流と細胞内カルシウム機構のモデル記述を以下に示す。

A.1 イオン電流モデル記述

A.1.1 membrane potential

$$C \frac{dV}{dt} = I - (I_{Kv} + I_h + I_{Ca} + I_{K(Ca)} + I_l). \quad (\text{A.1})$$

A.1.2 Delayed rectifier potassium current

$$\alpha_{m_{Kv}} = \frac{75}{\exp\left(-\frac{V-25}{17}\right) + 1} \quad (\text{A.2})$$

$$\beta_{m_{Kv}} = 0.15 \exp\left(-\frac{V}{14}\right) \quad (\text{A.3})$$

$$\frac{dm_{Kv}}{dt} = \alpha_{m_{Kv}} \cdot (1 - m_{Kv}) - \beta_{m_{Kv}} \cdot m_{Kv} \quad (\text{A.4})$$

$$\alpha_{h_{Kv}} = \frac{1500}{\exp\left(\frac{V+92}{7}\right) + 1} \quad (\text{A.5})$$

$$\beta_{h_{Kv}} = \frac{80}{\exp\left(\frac{V+100}{15}\right) + 1} + 0.02 \quad (\text{A.6})$$

$$\frac{dh_{Kv}}{dt} = \alpha_{h_{Kv}} \cdot (1 - h_{Kv}) - \beta_{h_{Kv}} \cdot h_{Kv} \quad (\text{A.7})$$

$$g_{Kv} = \bar{g}_{Kv} \cdot m_{Kv}^3 \cdot h_{Kv} \quad (\text{A.8})$$

$$I_{Kv} = g_{Kv} \cdot (V - E_K) \quad (\text{A.9})$$

- $\alpha_{m_{Kv}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 $\beta_{m_{Kv}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 m_{Kv} : 活性化変数
 $\alpha_{h_{Kv}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 $\beta_{h_{Kv}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 h_{Kv} : 不活性化変数
 g_{Kv} : コンダクタンス [nS]
 \bar{g}_{Kv} : 最大コンダクタンス, 2.0 [nS]
 I_{Kv} : 遅延整流性カリウム電流, [pA]
 E_K : K⁺ の平衡電位, -58 [mV]

A.1.3 Transient outward current

$$\alpha_{m_A} = \frac{1200}{1 + \exp\left(-\frac{v-50}{28}\right)} \quad (\text{A.10})$$

$$\beta_{m_A} = 6 \exp\left(-\frac{V}{10}\right) \quad (\text{A.11})$$

$$\frac{dm_A}{dt} = \alpha_{m_A} \cdot (1 - m_A) - \beta_{m_A} \cdot m_A \quad (\text{A.12})$$

$$\alpha_{h_A} = 0.045 \exp\left(-\frac{V}{13}\right) \quad (\text{A.13})$$

$$\beta_{h_A} = \frac{75}{1 + \exp\left(-\frac{V-50}{15}\right)} \quad (\text{A.14})$$

$$\frac{dh_A}{dt} = \alpha_{h_A} \cdot (1 - h_A) - \beta_{h_A} \cdot h_A \quad (\text{A.15})$$

$$g_A = \bar{g}_A \cdot m_A^3 \cdot h_A \quad (\text{A.16})$$

$$I_A = g_A \cdot (V - E_K) \quad (\text{A.17})$$

- α_{m_A} : 速度定数 [s⁻¹]
 β_{m_A} : 速度定数 [s⁻¹]
 m_A : 活性化変数
 α_{h_A} : 速度定数 [s⁻¹]
 β_{h_A} : 速度定数 [s⁻¹]
 h_A : 不活性化変数
 g_A : コンダクタンス [nS]
 \bar{g}_A : チャンネルの最大コンダクタンス, 13 [nS]
 I_A : 一過性外向きカリウム電流 [pA]

A.1.4 Hyperpolarization activated current

$$\alpha_h = \frac{18}{\exp\left(\frac{V+105}{10}\right) + 1} \quad (\text{A.18})$$

$$\beta_h = \frac{1.5}{\exp\left(-\frac{V+115}{15}\right) + 1} \quad (\text{A.19})$$

$$\mathbf{M} = \begin{bmatrix} C_1 & C_2 & O_1 & O_2 & O_3 \end{bmatrix}^t \quad (\text{A.20})$$

$$\mathbf{K} = - \begin{bmatrix} 4\alpha_h & -\beta_h & 0 & 0 & 0 \\ 4\alpha_h & 3\alpha_h + \beta_h & -2\beta_h & 0 & 0 \\ 0 & -3\alpha_h & 2\alpha_h + 2\beta_h & -3\beta_h & 0 \\ 0 & 0 & -2\alpha_h & \alpha_h + 3\beta_h & -4\beta_h \\ 0 & 0 & 0 & -\alpha_h & 4\beta_h - h \end{bmatrix} \quad (\text{A.21})$$

$$\frac{dM}{dt} = \mathbf{KM} \quad (\text{A.22})$$

$$m_h = O_1 + O_2 + O_3 \quad (\text{A.23})$$

$$g_h = \bar{g}_h \cdot m_h \quad (\text{A.24})$$

$$I_h = g_h \cdot (V - E_h) \quad (\text{A.25})$$

- α_h : 速度定数 [s⁻¹]
 β_h : 速度定数 [s⁻¹]
 m_h : 膜電位依存性の活性化変数
 g_h : コンダクタンス [nS]
 I_h : 過分極活性化型内向き電流 [pA]
 \bar{g}_h : 最大コンダクタンス, 0.98 [nS]
 E_h : I_h の反転電位, -17.7 [mV]

A.1.5 Calcium current

$$\alpha_{m_{Ca}} = \frac{1200(82 - V)}{\exp\left(-\frac{V-82}{25}\right) - 1} \quad (\text{A.26})$$

$$\beta_{m_{Ca}} = \frac{4000}{\exp\left(\frac{V+55}{55}\right) + 1} \quad (\text{A.27})$$

$$\frac{dm_{Ca}}{dt} = \alpha_{m_{Ca}} \cdot (1 - m_{Ca}) - \beta_{m_{Ca}} \cdot m_{Ca} \quad (\text{A.28})$$

$$h_{Ca} = \frac{\exp\left(-\frac{V-30}{11}\right)}{\exp\left(-\frac{V-30}{11}\right) + 1} \quad (\text{A.29})$$

$$g_{Ca} = \bar{g}_{Ca} \cdot m_{Ca}^4 \cdot h_{Ca} \quad (\text{A.30})$$

$$E_{Ca} = 12.9 \log \left(\frac{[Ca]_{ex}}{[Ca]_s} \right) \quad (\text{A.31})$$

$$I_{Ca} = g_{Ca} \cdot (V - E_{Ca}) \quad (\text{A.32})$$

- $\alpha_{m_{Ca}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 $\beta_{m_{Ca}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 m_{Ca} : 活性化変数
 h_{Ca} : 不活性化変数
 g_{Ca} : コンダクタンス [nS]
 \bar{g}_{Ca} : チャンネルの最大コンダクタンス, 1.1 [nS]
 E_{Ca} : I_{Ca} の反転電位 [mV]
 $[Ca]_{ex}$: 細胞外カルシウム濃度, 2.5 × 10³ [μM]
 $[Ca]_s$: 細胞膜付近の細胞内カルシウム濃度, [μM]
 I_{Ca} : カルシウム電流 [pA]

A.1.6 Calcium dependent potassium current

$$\alpha_{m_{Kc}} = \frac{24 \cdot (230 - V)}{\exp\left(\frac{230-V}{62}\right) - 1} \quad (\text{A.33})$$

$$\beta_{m_{Kc}} = 24 \exp\left(-\frac{V}{75}\right) \quad (\text{A.34})$$

$$\frac{dm_{Kc}}{dt} = \alpha_{m_{Kc}} \cdot (1 - m_{Kc}) - \beta_{m_{Kc}} \cdot m_{Kc} \quad (\text{A.35})$$

$$m_{Kcc} = \frac{[Ca]_s^3}{[Ca]_s^3 + 0.4^3} \quad (A.36)$$

$$g_{Kc} = \frac{g_{Kc}}{g_{Kc}} \cdot m_{Kc}^2 \cdot m_{Kc1} \quad (A.37)$$

$$I_{K(Ca)} = g_{Kc} \cdot (V - E_k) \quad (A.38)$$

- $\alpha_{m_{Kc}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 $\beta_{m_{Kc}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 m_{Kc} : 膜電位依存性の活性化変数
 m_{Kcc} : 細胞内 Ca²⁺ 依存性の活性化変数
 g_{Kc} : コンダクタンス [nS]
 \bar{g}_{Kc} : 最大コンダクタンス, 8.5 [nS]
 $I_{K(Ca)}$: カルシウム依存性カリウム電流 [pA]

A.1.7 Leakage current

$$I_l = \bar{g}_l \cdot (V - E_l) \quad (A.39)$$

- I_l : 漏れ電流 [pA]
 \bar{g}_l : 最大コンダクタンス, 0.15 [nS]
 E_l : I_l の反転電位, -30 [mV]

A.1.8 Capacitance

$$C = 8 \text{ [pF]} \quad (A.40)$$

A.2 カルシウム機構モデル記述

$$\frac{d[Ca]_s}{dt} = \frac{I_{Ca} + I_{ex} + I_{ATP}}{2F \cdot V_s} \cdot 10^{-6} - \frac{D_{Ca} \cdot S_{sc}}{V_s \cdot d_{sc}} ([Ca]_s - [Ca]_c) - \frac{d[Bls]}{dt} - \frac{d[Bhs]}{dt} \quad (A.41)$$

$$\frac{d[Ca]_c}{dt} = \frac{D_{Ca} \cdot S_{sc}}{V_c \cdot d_{sc}} ([Ca]_s - [Ca]_c) - \frac{d[Blc]}{dt} - \frac{d[Bhc]}{dt} \quad (A.42)$$

$$\frac{d[Bls]}{dt} = \alpha_{Bl} \cdot [Ca]_s \cdot ([Bl]_{\max} - [Bls]) + \beta_{Bl} \cdot [Bls] \quad (A.43)$$

$$\frac{d[Bhs]}{dt} = \alpha_{Bh} \cdot [Ca]_s \cdot ([Bh]_{\max} - [Bhs]) + \beta_{Bh} \cdot [Bhs] \quad (A.44)$$

$$\frac{d[Blc]}{dt} = \alpha_{Bl} \cdot [Ca]_c \cdot ([Bl]_{\max} - [Blc]) + \beta_{Bl} \cdot [Blc] \quad (A.45)$$

$$\frac{d[Bhc]}{dt} = \alpha_{Bh} \cdot [Ca]_c \cdot ([Bh]_{\max} - [Bhc]) + \beta_{Bh} \cdot [Bhc] \quad (A.46)$$

$$I_{ex} = \frac{J_{ex} \cdot ([Ca]_s - [Ca]_{\min})}{[Ca]_s - [Ca]_{\min} + 2.3} \cdot \exp\left(-\frac{V + 14}{70}\right) \quad (A.47)$$

$$I_{ATP} = \frac{J_{ATP} \cdot ([Ca]_s - [Ca]_{\min})}{[Ca]_s - [Ca]_{\min} + 0.5} \quad (A.48)$$

- $[Ca]_s$: 細胞膜近傍の Ca²⁺ 濃度 [mM]
 $[Ca]_c$: 細胞内深部の Ca²⁺ 濃度 [mM]
 F : ファラデー定数, 9.65 × 10⁵ [c/mol]
 D_{Ca} : Ca²⁺ の拡散定数, × 10⁻⁸ [l/s]
 V_s : 細胞膜近傍の容積, 1.69 × 10⁻¹³ [l]
 V_c : 細胞内深部の容積, 7.36 × 10⁻¹³ [l]
 S_{sc} : 細胞膜近傍部と細胞内深部の境界面積, 4.00 × 10⁻¹⁰ [m²]
 d_{sc} : 細胞膜近傍部と細胞内深部の距離, 5.90 × 10⁻⁶ [m]
 $[Bls]$: 細胞膜近傍の低親和性バッファ Ca²⁺ 吸収機質濃度 [μM]
 $[Blc]$: 細胞内深部の低親和性バッファ Ca²⁺ 吸収機質濃度 [μM]
 $[Bl]_{\max}$: 低親和性バッファの最大 Ca²⁺ バッファ濃度, 400 [μM]
 α_{Bl} : 低親和性バッファの Ca²⁺ 吸着の速度定数, 0.4 [s⁻¹ μM⁻¹]
 β_{Bl} : 低親和性バッファの Ca²⁺ 遊離の速度定数, 0.2 [s⁻¹ μM⁻¹]
 $[Bhs]$: 細胞膜近傍の高親和性バッファ Ca²⁺ 吸収機質濃度 [μM]
 $[Bhc]$: 細胞内深部の高親和性バッファ Ca²⁺ 吸収機質濃度 [μM]
 $[Bh]_{\max}$: 高親和性バッファの最大 Ca²⁺ バッファ濃度, 300 [μM]
 α_{Bh} : 高親和性バッファの Ca²⁺ 吸着の速度定数, 100 [s⁻¹ μM⁻¹]
 β_{Bh} : 高親和性バッファの Ca²⁺ 遊離の速度定数, 90 [s⁻¹ μM⁻¹]
 I_{ex} : Na⁺-Ca²⁺ 交換系による電流 [pA]
 J_{ex} : Na⁺-Ca²⁺ 交換系による最大排出電流, 9.0 [pA]
 $[Ca^{2+}]_{\min}$: 排出電流の最小排出濃度, 0.05 [μM]
 I_{ATP} : Ca²⁺ ポンプによる電流 [pA]
 J_{ATP} : Ca²⁺ ポンプによる最大排出電流, 9.5 [pA]

付録 B

双極細胞シナプス終末の イオン電流モデル記述

双極細胞シナプス終末の各イオン電流と細胞内カルシウム機構のモデル記述を以下に示す。

B.1 イオン電流モデル記述

B.1.1 membrane potential

$$C \frac{dV}{dt} = I_{ex} - (I_h + I_{Kv} + I_{Ca} + I_{K(Ca)} + I_{Cl(Ca)} + I_{NC} + I_{ATP} + I_i). \quad (B.1)$$

B.1.2 Calcium current

$$\alpha_{m_{Ca}} = \frac{-1280V}{\exp\left(-\frac{V}{8.1}\right) - 1} \quad (B.2)$$

$$\beta_{m_{Ca}} = 590 \exp\left(-\frac{V}{860}\right) \quad (B.3)$$

$$\frac{dm_{Ca}}{dt} = \alpha_{m_{Ca}}(1 - m_{Ca}) - \beta_{m_{Ca}}m_{Ca} \quad (B.4)$$

$$z = \frac{z_{Ca}FV}{RT} \quad (B.5)$$

$$V_{GHK} = z_{Ca}Fz \frac{[Ca]_{ss} - [Ca]_{ex} \exp(z)}{1 - \exp(z)} \quad (B.6)$$

$$g_{Ca} = \overline{g_{Ca}}m_{Ca}^4 \quad (B.7)$$

$$I_{Ca} = g_{Ca}V_{GHK} \quad (B.8)$$

V	: シナプス終末の膜電位, [mV]
$\alpha_{m_{Ca}}$: 速度定数 [s ⁻¹]
$\beta_{m_{Ca}}$: 速度定数 [s ⁻¹]
m_{Ca}	: 活性化変数
V_{GHK}	: 駆動電位 [mV]
g_{Ca}	: コンダクタンス [nS]
I_{Ca}	: Ca 電流 [pA]
z_{Ca}	: Ca イオンの価数, 2
F	: ファラデー定数, 9.65×10^5 [c/mol]
R	: 気体定数, 8.31 [j/(deg·mol)]
T	: 絶対温度, [K]
$[Ca]_{ex}$: 細胞外の Ca ²⁺ 濃度, 2.5 [mM]
$\overline{g_{Ca}}$: 最大コンダクタンス, 0.46 [nS]

B.1.3 Ca-dependent potassium current

$$\alpha_{m_{Kc}} = \frac{1.5(0.018 - V)}{\exp\left(\frac{0.018 - V}{450}\right) - 1} \quad (B.9)$$

$$\beta_{m_{Kc}} = 310 \exp\left(-\frac{V}{13}\right) \quad (B.10)$$

$$\frac{dm_{Kc}}{dt} = \alpha_{m_{Kc}}(1 - m_{Kc}) - \beta_{m_{Kc}}m_{Kc} \quad (B.11)$$

$$m_{Kcc} = \frac{[Ca]_{ss}^4}{[Ca]_{ss}^4 + 0.00029^4} \quad (B.12)$$

$$g_{Kc} = \overline{g_{Kc}}m_{Kc}m_{Kcc} \quad (B.13)$$

$$I_{K(Ca)} = g_{Kc}(V - E_K) \quad (B.14)$$

$\alpha_{m_{Kc}}$: 速度定数 [s ⁻¹]
$\beta_{m_{Kc}}$: 速度定数 [s ⁻¹]
m_{Kc}	: 膜電位依存性の活性化変数
m_{Kcc}	: Ca 依存性の活性化変数
g_{Kc}	: コンダクタンス [nS]
$I_{K(Ca)}$: Ca 依存性 K 電流 [pA]
$\overline{g_{Kc}}$: 最大コンダクタンス, 12.4 [nS]
E_K	: K ⁺ の平衡電位, -100 [mV]

B.1.4 Ca-dependent chloride current

$$m_{Clc} = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{0.0018 - [Ca]_{ss}}{0.0004}\right)} \quad (B.15)$$

$$g_{Clc} = \overline{g_{Clc}}m_{Clc} \quad (B.16)$$

$$I_{Cl(Ca)} = g_{Clc}(V - E_{Cl}) \quad (B.17)$$

m_{Clc}	: Ca 依存性の活性化変数
g_{Clc}	: コンダクタンス [nS]
$I_{Cl(Ca)}$: Ca 依存性 Cl 電流 [pA]
$\overline{g_{Clc}}$: 最大コンダクタンス, 2.46 [nS]
E_{Cl}	: Cl ⁻ の平衡電位, -6.0 [mV]

B.1.5 Hyperpolarization activated current

$$\alpha_h = \frac{3}{\exp\left(\frac{V+110}{15}\right) + 1} \quad (B.18)$$

$$\beta_h = \frac{1.5}{\exp\left(-\frac{V+115}{15}\right) + 1} \quad (\text{B.19})$$

$$\mathbf{M} = [C_1 \ C_2 \ O_1 \ O_2 \ O_3]^t \quad (\text{B.20})$$

$$\mathbf{K} = \begin{bmatrix} 4\alpha_h & -\beta_h & 0 & 0 & 0 \\ -4\alpha_h & 3\alpha_h + \beta_h & -2\beta_h & 0 & 0 \\ 0 & -3\alpha_h & 2\alpha_h + 2\beta_h & -3\beta_h & 0 \\ 0 & 0 & -2\alpha_h & \alpha_h + 3\beta_h & -4\beta_h \\ 0 & 0 & 0 & -\alpha_h & 4\beta_h \end{bmatrix} \quad (\text{B.21})$$

$$\frac{d}{dt}\mathbf{M} = -\mathbf{KM} \quad (\text{B.22})$$

$$m_h = O_1 + O_2 + O_3 \quad (\text{B.23})$$

$$g_h = \bar{g}_h m_h \quad (\text{B.24})$$

$$I_h = g_h(V - E_h) \quad (\text{B.25})$$

- α_h : 速度定数 [s⁻¹]
 β_h : 速度定数 [s⁻¹]
 m_h : 膜電位依存性の活性化変数
 g_h : コンダクタンス [nS]
 I_h : 過分極活性型内向き電流 [pA]
 \bar{g}_h : 最大コンダクタンス, 0.98 [nS]
 E_h : I_h の反転電位, -17.7 [mV]

B.1.6 Delayed rectifier potassium current

$$\alpha_{m_{Kv}} = \frac{75}{\exp\left(-\frac{V-25}{17}\right) + 1} \quad (\text{B.26})$$

$$\beta_{m_{Kv}} = 0.15 \exp\left(-\frac{V}{14}\right) \quad (\text{B.27})$$

$$\frac{dm_{Kv}}{dt} = \alpha_{m_{Kv}} \cdot (1 - m_{Kv}) - \beta_{m_{Kv}} \cdot m_{Kv} \quad (\text{B.28})$$

$$\alpha_{h_{Kv}} = \frac{1500}{\exp\left(\frac{V+92}{7}\right) + 1} \quad (\text{B.29})$$

$$\beta_{h_{Kv}} = \frac{80}{\exp\left(\frac{V+100}{15}\right) + 1} + 0.02 \quad (\text{B.30})$$

$$\frac{dh_{Kv}}{dt} = \alpha_{h_{Kv}} \cdot (1 - h_{Kv}) - \beta_{h_{Kv}} \cdot h_{Kv} \quad (\text{B.31})$$

$$g_{Kv} = \bar{g}_{Kv} \cdot m_{Kv}^3 \cdot h_{Kv} \quad (\text{B.32})$$

$$I_{Kv} = g_{Kv} \cdot (V - E_K) \quad (\text{B.33})$$

- $\alpha_{m_{Kv}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 $\beta_{m_{Kv}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 m_{Kv} : 活性化変数
 $\alpha_{h_{Kv}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 $\beta_{h_{Kv}}$: 速度定数 [s⁻¹]
 h_{Kv} : 不活性化変数
 g_{Kv} : コンダクタンス [nS]
 \bar{g}_{Kv} : 最大コンダクタンス, 0.2 [nS]
 I_{Kv} : 遅延整流性カリウム電流, [pA]

B.1.7 Leakage current

$$I_l = g_l(V - E_l) \quad (\text{B.34})$$

- I_l : 漏れ電流 [pA]
 g_l : 最大コンダクタンス, 0.3 [nS]
 E_l : 反転電位, -60 [mV]

B.1.8 Capacitance

$$C = 3 \text{ [pF]} \quad (\text{B.35})$$

B.2 細胞内カルシウム機構のモデル記述

B.2.1 Calcium concentration

$$\begin{aligned} \frac{d[\text{Ca}]_{Ss}}{dt} = & -\frac{I_{Ca} - 2I_{NC} + I_{ATP}}{2FV_{Ss}} - \frac{d[\text{Bs}]}{dt} \\ & - \frac{D_{Ca}S_{Sc}}{V_{Ss}d_{Sc}}([\text{Ca}]_{Ss} - [\text{Ca}]_{Sc}) \end{aligned} \quad (\text{B.36})$$

$$\frac{d[\text{Ca}]_{Sc}}{dt} = \frac{D_{Ca}S_{Sc}}{V_{Sc}d_{Sc}}([\text{Ca}]_{Ss} - [\text{Ca}]_{Sc}) - \frac{d[\text{Bc}]}{dt} \quad (\text{B.37})$$

- $[\text{Ca}]_{Ss}$: 細胞膜近傍の Ca²⁺ 濃度, [mM]
 $[\text{Ca}]_{Sc}$: 細胞内深部の Ca²⁺ 濃度, [mM]
 D_{Ca} : 拡散定数, 6.0 × 10⁸ [μm³/s]
 V_{Ss} : 細胞膜近傍の体積, 56 [μm³]
 V_{Sc} : 細胞内深部の体積, 212 [μm³]
 S_{Sc} : 細胞膜近傍部と細胞内深部の境界面積, 172 [μm²]
 d_{Sc} : 細胞膜近傍部と細胞内深部の距離, 2.0 [μm]

B.2.2 Calcium buffer concentration

$$\frac{d[\text{Bs}]}{dt} = \alpha_{Bs}[\text{Ca}]_{Ss}([\text{Bs}]_{\max} - [\text{Bs}]) + \beta_{Bs}[\text{Bs}] \quad (\text{B.38})$$

$$\alpha_{Bc} = \frac{8}{\exp\left(\frac{0.0012 - [\text{Ca}]_{Sc}}{0.00012}\right) + 1} \quad (\text{B.39})$$

$$\frac{d[\text{Bc}]}{dt} = \alpha_{Bc}[\text{Ca}]_{Sc}([\text{Bc}]_{\max} - [\text{Bc}]) + \beta_{Bc}[\text{Bc}] \quad (\text{B.40})$$

[Bs]	: 細胞膜近傍のバッファの Ca^{2+} 吸収機質濃度 [mM]
[Bc]	: 細胞内深部のバッファの Ca^{2+} 吸収機質濃度 [mM]
[Bs] _{max}	: 細胞膜近傍の最大 Ca^{2+} バッファ濃度, 20 [mM]
α_{Bs}	: Ca^{2+} 吸着の速度定数, 630 [$\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}$]
β_{Bs}	: Ca^{2+} 遊離の速度定数, 15 [s^{-1}]
[Bc] _{max}	: 細胞内深部の最大 Ca^{2+} バッファ濃度, 30 [mM]
α_{Bc}	: Ca^{2+} 吸着の速度定数 [$\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}$]
β_{Bc}	: Ca^{2+} 遊離の速度定数, 0.02 [s^{-1}]

B.2.3 Calcium pump and exchanger

$$I_{NC} = K_{nc} S_S \left\{ [\text{Ca}]_{\text{ex}} [\text{Na}]_i^3 \exp\left(\frac{\gamma FV}{RT}\right) - [\text{Ca}]_{\text{ss}} [\text{Na}]_{\text{ex}}^3 \exp\left(\frac{(\gamma-1)FV}{RT}\right) \right\} \quad (\text{B.41})$$

$$I_{ATP} = z_{Ca} F S_S P_{max} \frac{[\text{Ca}]_{\text{ss}}}{[\text{Ca}]_{\text{ss}} + K_d} \quad (\text{B.42})$$

I_{NC}	: Na^+ - Ca^{2+} 交換系による電流 [pA]
$[\text{Na}]_i$: 細胞内 Na^+ 濃度, 10 [mM]
$[\text{Na}]_{\text{ex}}$: 細胞外 Na^+ 濃度, 115 [mM]
K_{nc}	: Na^+ - Ca^{2+} 交換系の最大電流値, 170 [pA]
γ	: 分割定数, 0.38
S_S	: シナプス終末の表面積, 200 [μm^2]
I_{ATP}	: Ca^{2+} ポンプによる電流 [pA]
P_{max}	: Ca^{2+} ポンプの最大電流値, 100 [pA]
K_d	: 解離定数, 0.005 [mM]

付録 C

視細胞-双極細胞間の情報伝達機構のモデル化

双極細胞の光応答は、杆体あるいは錐体からの入力によってそのほとんどが形成されているものと考えられる。すなわち、光によって視細胞の膜電位が変化すると、視細胞のシナプス終末からの伝達物質放出量が増加し、双極細胞はその濃度変化を検出することで膜電位に変化が起こる (図 C.1)。したがって、視細胞の数理モデルは既に構築されていることから、双極細胞での光応答を再現できる数理モデルを構築するためには、視細胞シナプス終末のグルタミン酸放出機構および、双極細胞のグルタミン酸レセプタについてモデル化する必要がある。以下では、これらの機構について順にモデル化を行う。

C.1 視細胞-双極細胞間の情報伝達機構

図 C.1に、視細胞-双極細胞間の情報伝達機構の概略図を示す。暗時、視細胞は、約 -30mV の脱分極状態にある。視細胞シナプス終末には L 型カルシウムチャンネルが存在し、その活性化の閾値は約 -45mV であることから [57]、暗時に Ca^{2+} は前シナプス終末内へ持続的に流入している。神経細胞の伝達物質放出には細胞内カルシウムイオン濃度が深く関与していることが知られており、暗時、視細胞シナプス終末には持続的に Ca^{2+} が流入していることから、情報伝達物質であるグルタミン酸もまたシナプス終末からシナプス間隙へ持続的に放出される。ここで、シナプス間隙内に放出されたグルタミン酸分子は、拡散によって双極細胞樹状突起の後シナプス終末に到達し、そこに存在するグルタミン酸レセプタに受容される。その結果、双極細胞ではグルタミン酸作動性電流が生じ、双極細胞は、暗時に約 -40mV の膜電位を有することになる。

光を受容すると視細胞は過分極性緩電位応答を示し、これは視細胞シナプス終末へ伝播する。膜が過分極することから視細胞シナプス終末の膜電位依存性カルシウムチャンネルは閉じ、 Ca^{2+} の流入量が減少するため、その部位の細胞内 Ca^{2+} 濃度は減少する。したがって、暗時に一定量放出されていた伝達物質は光によってその放出量もまた減少し、シナプス間隙内のグルタミン酸濃度もまた低下する。こうした光によるグルタミン酸濃度変化は、グルタミン酸レセプタによって検出され、結果双極細胞のグルタミン酸作動性電流が変化し、光情報は視細胞から双極細胞へと伝達される。

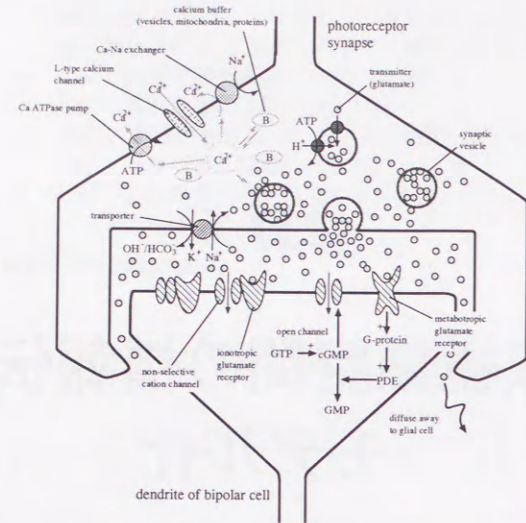


図 C.1 視細胞-双極細胞間のシナプス伝達の概略図

C.1.1 視細胞シナプス終末モデル

前シナプス終末からのグルタミン酸放出量には Ca^{2+} の流入量が大きく関与している。したがって、視細胞-双極細胞シナプス間隙のグルタミン酸濃度は、視細胞シナプス部のカルシウム電流 I_{Ca} の関数となる式で記述した。また、視細胞シナプス部のカルシウム電流 I_{Ca} には以下に示した式を用いた。 I_{Ca} モデルのパラメーターは、視細胞の膜電位固定実験結果 [57] および実験条件より推定した。

$$\frac{dm_{Ca}}{dt} = \alpha_{m_{Ca}} \cdot (1 - m_{Ca}) - \beta_{m_{Ca}} \cdot m_{Ca} \quad (C.1)$$

$$\alpha_{m_{Ca}} = \frac{100 \cdot (270 - V)}{\exp\left(\frac{270 - V}{50}\right) - 1} \quad (C.2)$$

$$\beta_{m_{Ca}} = \frac{150}{1 + \exp\left(\frac{34 + V}{6}\right)} \quad (C.3)$$

$$j_{Ca} = \frac{-K_j ([Ca]_{ex} \exp(-80V) - [Ca]_i)}{K_j \cdot [Ca]_{ex} \exp(-80V) + 1.0} \quad (C.4)$$

$$I_{Ca} = C_{m_{Ca}} \cdot m_{Ca}^4 \cdot j_{Ca} \quad (C.5)$$

$$[Glu]_{clef} = [Glu]_{max} \frac{(-I_{Ca})^2}{(-I_{Ca})^2 + K_{Glu}^2} \quad (C.6)$$

- [Glu]_{clef} : グルタミン酸濃度 [mM]
- [Glu]_{max} : 最大グルタミン酸濃度 [mM]
- K_{Glu} : 解離定数, 4.5 [pA]
- I_{Ca} : カルシウム電流 [pA]
- m_{Ca} : 活性化変数 [pA]
- j_{Ca} : チャンネル一個辺りのカルシウム電流 [pA]
- $C_{m(Ca)}$: チャンネル数, 90
- K_j : 10 [mM]
- [Ca]_i : 細胞内 Ca^{2+} 濃度, 0.05 [mM]
- [Ca]_{ex} : 細胞外 Ca^{2+} 濃度, 2500 [mM]

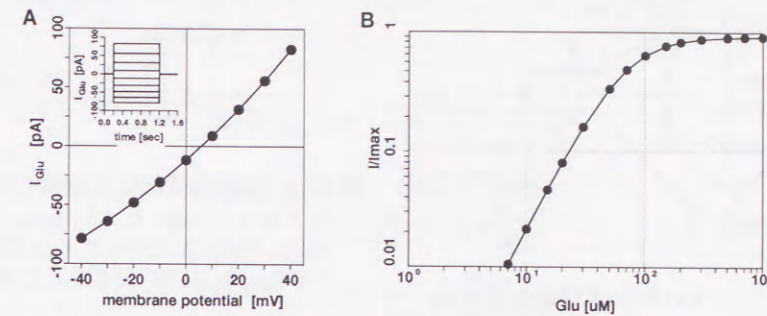


図 C.2 I_{Glu} モデルのシミュレーション結果

C.2 双極細胞のグルタミン酸作動性電流

形態的に識別されたオン型双極細胞とオフ型双極細胞では、グルタミン酸に対する電流応答極性に相違がみられることが報告されている [2,63,102]。薬理的 [77,110]、電気生理学的 [2,81,82,102] な実験によれば、オフ型双極細胞のグルタミン酸作動性電流は、イオンチャネル直結型レセプタによって生じるものであり、オン型双極細胞の電流は、代謝型レセプタによって制御されていると考えられている。双極細胞樹状突起にみられる、この2種類のグルタミン酸作動性電流を生理実験結果を基にモデル化した。次節以下にその詳細について述べる。

C.2.1 イオンチャネル直結型グルタミン酸作動性電流 (I_{Glu})

第2章 2.3.3節にまとめたように、 I_{Glu} は、グルタミン酸に対して電流は約 0mV で反転する特性を示し、負電位では内向き、正電位では外向きに流れる (図 2.7A)。また、この電流はグルタミン酸濃度が高くなると飽和する特性を示す (図 2.7B)。

このオフ型双極細胞にみられるグルタミン酸作動性電流は、薬理的特性や電気生理学的特性が水平細胞のグルタミン酸感受性電流と類似していることから、両者を制御するグルタミン酸レセプタは同一種類と考えられている。このことから、オフ型双極細胞のグルタミン酸作動性電流モデルの記述に、水平細胞モデル [129] のグルタミン酸感受性電流と同様、膜電位に依存する記述を用いた。また、この電流はグルタミン酸濃度にも依存することから、グルタミン酸濃度によって変化する項を含めた。

$$I_{Glu} = g_{Glu} \left\{ \exp\left(\frac{V - 5.82}{115}\right) - 1 \right\} \quad (C.7)$$

$$g_{Glu} = \frac{[Glu]^2}{g_{Glu} [Glu]^2 + K_{Glu}^2} \quad (C.8)$$

- I_{Glu} : イオンチャネル直結型グルタミン酸作動性電流 [pA]
- g_{Glu} : コンダクタンス [nS]
- [Glu] : グルタミン酸濃度 [mM]
- K_{Glu} : 解離定数, 0.068 [mM]

モデルのパラメーターは、図 2.7A、B に示す実験結果より推定した。 I_{Glu} モデルを用いたシミュレーション結果を図 C.2に示す。

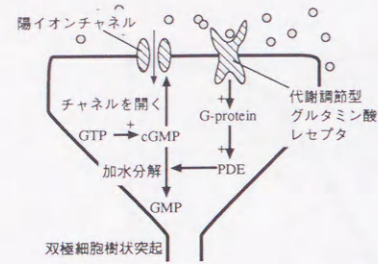


図 C.3 代謝型レセプタの細胞内情報伝達機構

C.2.2 代謝型グルタミン酸作動性電流 (I_{mGlu})

オン型双極細胞ではその樹状突起に代謝型グルタミン酸レセプタが存在し、グルタミン酸によって流量が調節される電流が観測されている。ここでは、そのモデル化について述べる。

トラフサンショウウオの双極細胞において、細胞内 cGMP 濃度に依存した電流が報告されている [81,82]。この電流は、細胞外から細胞にグルタミン酸を加えると減少する。さらには、スライス標本を用いた実験において、光照射時にはこの電流が減少することが示されており、このことは、この電流が視細胞-双極細胞間の情報伝達経路に位置することを示すものである。また、Shiellsらは、ツノザメ (dogfish) の双極細胞にも同様に細胞内 cGMP によって流量が変化する電流の存在を報告している [102]。そこで、グルタミン酸のレセプタへの受容から細胞膜のイオンコンダクタンス変化までの、cGMP を介した細胞内情報伝達を次のようにモデル化した。

$$\frac{d[\text{RGl}u]}{dt} = \alpha_r([\text{R}]_{\text{max}} - [\text{RGl}u])[\text{Glu}]_{\text{clef}} - \beta_r[\text{RGl}u] \quad (\text{C.9})$$

$$\frac{d[\text{PDE}^*]}{dt} = \alpha_p([\text{PDE}]_{\text{max}} - [\text{PDE}^*]) - \frac{\beta_p}{1 + \frac{[\text{RGl}u]}{K_p}}[\text{PDE}^*] \quad (\text{C.10})$$

$$\frac{d[\text{cGMP}]}{dt} = P_{cG} - [\text{cGMP}](h_{p0} + \beta_{cg}[\text{PDE}^*]) \quad (\text{C.11})$$

$$g_{mGlu} = \frac{g_{mGlu} [\text{cGMP}]^{n_{cg}}}{[\text{cGMP}]^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}} \quad (\text{C.12})$$

$$I_{mGlu} = g_{mGlu} \cdot (V - E_{mGlu}) \quad (\text{C.13})$$

- $RGl u$: 活性化したレセプタの総数
- $[\text{Glu}]_{\text{clef}}$: グルタミン酸濃度 [mM]
- α_r, β_r : 速度定数 [s^{-1}]
- $[\text{R}]_{\text{max}}$: グルタミン酸レセプタの総数
- $[\text{PDE}^*]$: 活性化した PDE 濃度 [mM]
- α_p, β_p, K_p : 速度定数 [s^{-1}]
- $[\text{PDE}]_{\text{max}}$: PDE の総濃度 [mM]
- $[\text{cGMP}]$: cGMP 濃度 [mM]
- P_{cG} : cGMP の生産量 [$\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}$]
- h_{p0} : $[\text{Glu}]_{\text{clef}} = 0$ 時の PDE による cGMP の加水分解量 [$\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}$]
- β_{cg} : PDE による cGMP の加水分解量 [s^{-1}]
- g_{mGlu} : コンダクタンス [nS]
- \bar{g}_{mGlu} : 最大コンダクタンス [nS]
- K_g : 解離定数 [mM]
- n_{cg} : ヒル定数
- I_{mGlu} : 代謝調節型グルタミン酸作動性電流 [pA]
- E_{mGlu} : 反転電位 [mV]

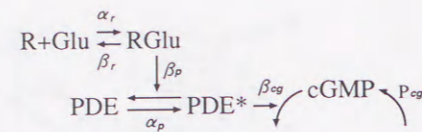


図 C.4 細胞内情報伝達機構のカスケード構造
R: グルタミン酸レセプタ, Glu: グルタミン酸, RGl u: 活性化したレセプタ, PDE: ホスホジエステラーゼ, PDE*: 活性化した PDE.

これらの式より、 $[\text{Glu}]_{\text{clef}} =$ 一定の定常状態での値 $[\text{RGl}u]_{\infty}$ 、 $[\text{Gp}^*]_{\infty}$ 、 $[\text{PDE}^*]_{\infty}$ 、 $[\text{cGMP}]_{\infty}$ は、次のようになる。

$$[\text{RGl}u]_{\infty} = \frac{\alpha_r[\text{R}]_{\text{max}}[\text{Glu}]_{\text{clef}}}{\alpha_r[\text{Glu}]_{\text{clef}} + \beta_r} \quad (\text{C.14})$$

$$[\text{PDE}^*]_{\infty} = \frac{\alpha_p[\text{PDE}]_{\text{max}}}{\alpha_p + \frac{\beta_p}{1 + \frac{[\text{RGl}u]_{\infty}}{K_p}}} \quad (\text{C.15})$$

$$[\text{cGMP}]_{\infty} = \frac{P_{cG}}{h_{p0} + \beta_{cg}[\text{PDE}^*]_{\infty}} \quad (\text{C.16})$$

ここで、 $\gamma_r = \beta_r/\alpha_r$ 、 $\gamma_p = \beta_p/\alpha_p$ と置くと式 (C.14)-(C.16) は、次のようになる。

$$[\text{RGl}u]_{\infty} = \frac{[\text{R}]_{\text{max}}[\text{Glu}]_{\text{clef}}}{[\text{Glu}]_{\text{clef}} + \gamma_r} \quad (\text{C.17})$$

$$[\text{PDE}^*]_{\infty} = \frac{[\text{PDE}]_{\text{max}}}{1 + \frac{\gamma_p}{1 + \frac{[\text{RGl}u]_{\infty}}{K_p}}} \quad (\text{C.18})$$

$$[\text{cGMP}]_{\infty} = \frac{P_{cG}}{h_{p0} + \beta_{cg}[\text{PDE}^*]_{\infty}} \quad (\text{C.19})$$

さて、代謝型グルタミン酸レセプタ mGluR6 によって調節される電流 I_{mGlu} は、グルタミン酸 $[\text{Glu}]_{\text{clef}}$ が 0 のとき最大値をとり、 $[\text{Glu}]_{\text{clef}}$ が増加すると減少する。したがって、濃度 $[\text{Glu}]$ のグルタミン酸によって生じる電流 $I([\text{Glu}])$ は、

$$I([\text{Glu}]) = I_{mGlu}([\text{Glu}]) - I_{mGlu}(0) \quad (\text{C.20})$$

である。図の実験結果において、スライス標本を用いていることから、暗時に視細胞と双極細胞が結ぶシナプスの間にはグルタミン酸 $[\text{Glu}]_d$ が存在していると考えられる。したがって、あるグルタミン酸濃度の電流値 $I([\text{Glu}])$ は、

$$I([\text{Glu}]) = I_{mGlu}([\text{Glu}]) - I_{mGlu}([\text{Glu}]_d) \quad (\text{C.21})$$

である。最大値より正規化したときの電流値 $I_r([\text{Glu}])$ は、したがって、

$$I_r([\text{Glu}]) = \frac{I([\text{Glu}])}{\max(I([\text{Glu}]))} \quad (\text{C.22})$$

$$= \frac{I_{mGlu}([\text{Glu}]) - I_{mGlu}([\text{Glu}]_d)}{-I_{mGlu}([\text{Glu}]_d)} \quad (\text{C.23})$$

である。これに式 (C.12)、(C.13)、(C.19) を代入すると、

$$I_r([\text{Glu}]) = \frac{g_{mGlu}([\text{Glu}]_d) - g_{mGlu}([\text{Glu}])}{g_{mGlu}([\text{Glu}]_d)} \quad (\text{C.24})$$

$$= 1 - \frac{g_{mGlu}([\text{Glu}])}{g_{mGlu}([\text{Glu}]_d)} \quad (\text{C.25})$$

$$= 1 - \frac{P_{cG}^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}(h_{p0} + \beta_{cg}[\text{PDE}^*])([\text{Glu}]_d)^{n_{cg}}}{P_{cG}^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}(h_{p0} + \beta_{cg}[\text{PDE}^*])([\text{Glu}])^{n_{cg}}} \quad (\text{C.26})$$

である。

式 (C.9) において、 $[\text{Glu}]_{\text{clef}}$ が $[\text{Glu}](0)$ から $[\text{Glu}]_{\infty}$ へとステップ状に変化する $[\text{Glu}](t)$ という関数で与えられた時、 $[\text{RGlu}](t)$ を求めることについて考える。式 (C.9) は、式 (C.14) より、

$$\frac{d[\text{RGlu}]}{dt} = \alpha_r [\text{R}]_{\text{max}} [\text{Glu}]_{\text{clef}} - (\alpha_r [\text{Glu}]_{\text{clef}} + \beta_r) [\text{RGlu}] \quad (\text{C.27})$$

$$= (\alpha_r [\text{Glu}]_{\text{clef}} + \beta_r) ([\text{RGlu}]_{\infty} - [\text{RGlu}]) \quad (\text{C.28})$$

という変数分離型の微分方程式で記述できることから、 $[\text{RGlu}](t)$ は、

$$\frac{1}{[\text{RGlu}]_{\infty} - [\text{RGlu}]} \frac{d[\text{RGlu}]}{dt} = (\alpha_r [\text{Glu}]_{\text{clef}} - \beta_r) \quad (\text{C.29})$$

$$-\log([\text{RGlu}]_{\infty} - [\text{RGlu}]) = (\alpha_r [\text{Glu}]_{\text{clef}} - \beta_r)t + A \quad (\text{C.30})$$

$$[\text{RGlu}]_{\infty} - [\text{RGlu}] = B \exp\{-(\alpha_r [\text{Glu}]_{\text{clef}} - \beta_r)t\} \quad (\text{C.31})$$

$$[\text{RGlu}](t) = [\text{RGlu}]_{\infty} - B \exp\left(-\frac{t}{\tau_r}\right) \quad (\text{C.32})$$

ここで A 、 B は積分定数であり、

$$\tau_r = \frac{1}{\alpha_r [\text{Glu}]_{\text{clef}} + \beta_r} \quad (\text{C.33})$$

は時定数である。初期条件 $[\text{RGlu}](0) = [\text{RGlu}]_0$ より、

$$[\text{RGlu}](0) = [\text{RGlu}]_{\infty} - B \quad (\text{C.34})$$

$$B = [\text{RGlu}]_{\infty} - [\text{RGlu}](0) \quad (\text{C.35})$$

$$= [\text{RGlu}]_{\infty} - [\text{RGlu}]_0 \quad (\text{C.36})$$

が導出できるため $[\text{RGlu}](t)$ は、

$$[\text{RGlu}](t) = [\text{RGlu}]_{\infty} - \{[\text{RGlu}]_{\infty} - [\text{RGlu}]_0\} \exp\left(-\frac{t}{\tau_r}\right) \quad (\text{C.37})$$

となる。同様にして、式 (C.10)、(C.11) から次式が求まる。

$$[\text{PDE}^*](t) = [\text{PDE}^*]_{\infty} - \{[\text{PDE}^*]_{\infty} - [\text{PDE}^*]_0\} \exp\left(-\frac{t}{\tau_p}\right) \quad (\text{C.38})$$

$$[\text{cGMP}](t) = [\text{cGMP}]_{\infty} - \{[\text{cGMP}]_{\infty} - [\text{cGMP}]_0\} \exp\left(-\frac{t}{\tau_{cg}}\right) \quad (\text{C.39})$$

ここで、時定数 τ_p 、 τ_{cg} は、次式となる。

$$\tau_p = \frac{1}{\alpha_p + \frac{\beta_p}{1 + [\text{RGlu}]/K_p}} \quad (\text{C.40})$$

$$\tau_{cg} = \frac{1}{h_{p0} + \beta_{cg} [\text{PDE}^*]} \quad (\text{C.41})$$

ここで、Shiells & Falk の生理実験結果 (図 2.6) より、1mM グルタミン酸による応答電流の立ち上がり、立ち下りの時定数を求めると、 $n_{cg} = 2$ のとき最も誤差が少ない結果が得られ、各時定数は、 $\tau_{on} = 198[\text{ms}]$ 、 $\tau_{off} = 36.7[\text{ms}]$ であった。以下、Shiells & Falk らの生理結果 [102] より次に示す手順で各パラメータを推定した。

1. I-V 特性

1mM グルタミン酸によって得られた I-V 特性 [102] より、そのコンダクタンス値は、 $G = 6.23$ である。電流振幅は、式 (C.21) によって決まるため、これに式 (C.13)、(C.11) を代入すると次のようになる。

$$I([\text{Glu}]) = I_{mGlu}([\text{Glu}]) - I_{mGlu}([\text{Glu}]_d) \quad (\text{C.42})$$

$$= (g_{mGlu}([\text{Glu}]) - g_{mGlu}([\text{Glu}]_d))(V_h - E_{mGlu}) \quad (\text{C.43})$$

$$= \overline{g_{mGlu}} \left(\frac{[\text{cGMP}]^{n_{cg}}}{[\text{cGMP}]^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}} - \frac{[\text{cGMP}]_d^{n_{cg}}}{[\text{cGMP}]_d^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}} \right) (V_h - E_{mGlu}) \quad (\text{C.44})$$

これを、 $\overline{g_{mGlu}}$ について解くと、

$$\overline{g_{mGlu}} = \frac{I([\text{Glu}])}{V_h - E_{mGlu}} \frac{1}{\frac{[\text{cGMP}]^{n_{cg}}}{[\text{cGMP}]^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}} - \frac{[\text{cGMP}]_d^{n_{cg}}}{[\text{cGMP}]_d^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}}} \quad (\text{C.45})$$

$$= G \frac{1}{\frac{[\text{cGMP}]^{n_{cg}}}{[\text{cGMP}]^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}} - \frac{[\text{cGMP}]_d^{n_{cg}}}{[\text{cGMP}]_d^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}}} \quad (\text{C.46})$$

となり、1mM グルタミン酸の時の cGMP 濃度の定常値 $[\text{cGMP}]$ と暗時の cGMP 濃度の定常値 $[\text{cGMP}]_d$ が決まれば $\overline{g_{mGlu}}$ は求められる。

2. 時定数は、

$$\tau_{on} = \frac{1}{h_{p0} + \beta_{cg} [\text{PDE}^*](1)} \leq 0.198 \quad (\text{C.47})$$

$$\tau_{off} = \frac{1}{h_{p0} + \beta_{cg} [\text{PDE}^*](\text{[Glu]}_d)} \leq 0.0367 \quad (\text{C.48})$$

の条件を満足すべきである。これより、それぞれ

$$h_{p0} \geq 5.05 - \beta_{cg} [\text{PDE}^*](1) \quad (\text{C.49})$$

$$h_{p0} \geq 27.2 - \beta_{cg} [\text{PDE}^*](\text{[Glu]}_d) \quad (\text{C.50})$$

が求まるが、ここで $[\text{PDE}^*](1) \gg [\text{PDE}^*](\text{[Glu]}_d)$ であるため、

$$h_{p0} \geq 27.2 - \beta_{cg} [\text{PDE}^*](\text{[Glu]}_d) \quad (\text{C.51})$$

という条件を満足するようなパラメータを選択すれば良い。

3. 同様に、PDE 濃度についても、

$$\tau_{on} = \frac{1}{\alpha_p + \frac{\beta_p}{1 + [\text{RGlu}](1)/K_p}} \leq 0.198 \quad (\text{C.52})$$

$$\tau_{off} = \frac{1}{\alpha_p + \frac{\beta_p}{1 + [\text{RGlu}](\text{[Glu]}_d)/K_p}} \leq 0.0367 \quad (\text{C.53})$$

$$(\text{C.54})$$

が成立する必要がある。これらを変形すると次のようになる。

$$\alpha_p + \frac{\beta_p}{1 + [\text{RGlu}](1)/K_p} = \frac{1}{\tau_{on}} \quad (\text{C.55})$$

$$\alpha_p + \frac{\beta_p}{1 + [\text{RGlu}](\text{[Glu]}_d)/K_p} = \frac{1}{\tau_{off}} \quad (\text{C.56})$$

これを α_p 、 β_p の連立方程式と見て解くと、解は次のようになる。

$$\alpha_p = \frac{1}{[\text{RGlu}](1) - [\text{RGlu}](\text{[Glu]}_d)} \left\{ \frac{([\text{RGlu}](1) + K_p)}{\tau_{on}} - \frac{([\text{RGlu}](\text{[Glu]}_d) + K_p)}{\tau_{off}} \right\} \quad (\text{C.57})$$

$$\beta_p = \left(\frac{1}{\tau_{off}} - \frac{1}{\tau_{on}} \right) \frac{(K_p + [\text{RGlu}](1))(K_p + [\text{RGlu}](\text{[Glu]}_d))}{K_p([\text{RGlu}](1) - [\text{RGlu}](\text{[Glu]}_d))} \quad (\text{C.58})$$

すなわち、 K_p と $[\text{RGlu}]$ の関数系が決まれば、 α_p 、 β_p はこれらの式によって求められる。

4. 暗時の cGMP 濃度

Shiells は [98]、 $100\mu\text{M}$ 以上の cGMP を細胞内に注入したとき、光応答に対して cGMP の影響が現れたことを示している。これより、Shiells らの実験系においては、暗時の双極細胞の cGMP 濃度は、 $100\mu\text{M}$ であると考えられる。定常状態での細胞内 cGMP 濃度は、式 (C.19) によって求められることから、

$$[\text{cGMP}]_d = \frac{P_{cG}}{h_{p0} + \beta_{cg}[\text{PDE}^*]_d} = 0.1 \quad (\text{C.59})$$

である。したがって、 P_{cG} は、

$$P_{cG} = [\text{cGMP}]_d(h_{p0} + \beta_{cg}[\text{PDE}^*]_d) \quad (\text{C.60})$$

である。

5. cGMP 注入による光応答の消失

Shiells らは [98]、細胞内に cGMP を注入したとき、 $100\mu\text{M}$ 以上の cGMP で光応答が減少し、 $250\mu\text{M}$ ではほぼ抑制されることを示している。ことことは、光によって、双極細胞の細胞内 cGMP 濃度は増加することから、細胞内 cGMP 濃度が約 $250\mu\text{M}$ のときは、cGMP 依存性チャネルがほとんど全て開いていると考えられる。すなわち、コンダクタンスの式 (C.12) より、1 に近い値を ε としたとき、

$$\frac{0.25^{n_{cg}}}{0.25^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}}} \geq \varepsilon \quad (\text{C.61})$$

である。これを K_g について解くと、

$$K_g^{n_{cg}} \leq \frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon} 0.25^{n_{cg}} \quad (\text{C.62})$$

となる。実験結果を満足するために、 K_g はこの値をとらなくてはならない。実際には、 $\varepsilon = 0.95$ で推定した。

表 C.1 I_{mGlu} モデルのパラメーター

Parameter	Value	Reason of choice
α_r	$19.2 [\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}]$	Dose response 曲線 [102] より
β_r	$50 [\text{s}^{-1}]$	
$[\text{R}]_{\text{max}}$	$120 [\text{mM}]$	
α_p	$1.1 [\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}]$	グルタミン酸応答の時定数と Dose response 曲線 [102] より
β_p	$124 [\text{s}^{-1}]$	
$[\text{PDE}]_{\text{max}}$	$1.0 [\text{mM}]$	
P'_{cg}	$2.74 [\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}]$	Dose response 曲線 [102] より
h_{p0}	$2.25 [\text{mM}]$	
β_{cg}	$1500 [\text{s}^{-1}]$	
P_{cg}	$0.400 [\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}]$	cGMP 注入時の電流変化 [98] より
n_{cg}	2.0	グルタミン酸応答 [102] より
K_g	$0.323 [\text{mM}]$	Dose response 曲線 [102] より
$\overline{g_{mGlu}}$	$7.32 [\text{nS}]$	I-V 特性 [102] より
E_{mGlu}	$0 [\text{mV}]$	I-V 特性 [102] より
$[\text{Glu}]_d$	$0.02 [\text{mM}]$	cGMP 注入電流値 [98] より

intact でのグルタミン酸作動性電流の推定

前節までモデルパラメーターの推定に用いた Shiells ら [98,102] の実験データは、細胞に刺入する電極に cGMP や GTP など物質を注入した状態での実験結果である。これらの物質は、細胞内の状態を変え I_{mGlu} を記録しやすいよう強調するような作用を及ぼしていると考えられるため、モデルパラメーターも過推定を起こしているといえる。そこで、次にこれらピペット内物質の影響を考慮しモデルパラメーターを再推定することを考える。

ピペット内 GTP の影響 I_{mGlu} モデルのパラメーター推定に用いた実験データは、一貫して、ピペット内に 0.5mM GTP を入れた状態での実験結果である。したがって、GTP の影響を取り除くことを考える。

mGluR6 レセプタから cGMP 依存性チャネルまでの細胞内経路において、細胞内 GTP が関与するのは次の 2ヶ所であると考えられる。

1. G タンパクの活性化

細胞内に GTP の磷酸化しないアナログである $\text{GTP}\gamma\text{S}$ を加えたときに光応答や APB による応答が抑制されることから GTP が関与していることが示唆されている [81,82,98]。

2. cGMP 濃度

GTP を cGMP へと分解するグアニレートシクラーゼ (GC) が存在する。

前者が強く効くのであれば、GTP によって定常状態での cGMP 内濃度が低くなるため、定常状態での I_{mGlu} は減少するが、GTP を細胞内に注入したときに、 I_{mGlu} は増加することから [81]、GTP は前者よ

りも後者、GC による分解を促進するほうに強く働いていると考えられる。そこで簡単のため、後者の影響のみ考察する。

GTP 注入による cGMP 濃度と電流 式 (C.11) は電極からの cGMP の拡散を考慮すると、次のように書き換えられる。

$$\frac{d[\text{cGMP}]_i'}{dt} = P_{cG}' - [\text{cGMP}]_i'(cG_{h0} + \beta_{cg}PDE^*) + D([\text{cGMP}]_e - [\text{cGMP}]_i') \quad (\text{C.63})$$

ここで、 D は拡散係数、 $[\text{cGMP}]_e$ はピペット内 cGMP 濃度である。また、ピペット容量は、細胞に比較して十分に大きいので、 $[\text{cGMP}]_e$ は一定と見なすことができる。この式より暗時の cGMP の定常濃度は、

$$[\text{cGMP}]_i' = \frac{P_{cG}' + D[\text{cGMP}]_e}{cG_{h0} + \beta_{cg}[PDE^*]_d + D} \quad (\text{C.64})$$

これらの式において Guanilic cyclase による GTP の分解によって cGMP がほぼ全部得られていると仮定すると、GTP は、パラメーター P_{cG}' のみ影響していると言える。Shiells らの、0.5mM GTP、250 μ M cGMP のピペットによる結果によれば [98]、ピペット刺入後電流は、約 60pA 変化している。刺入した瞬間の電流は、*intact* な状態での電流値であり、その後、ピペット内物質の拡散によって cGMP 濃度が変化したものと考えられることから、この電流変化 ΔI は、

$$\Delta I = I([\text{Glu}]_d) - I'([\text{Glu}]_d) \quad (\text{C.65})$$

である。式 (C.12) を代入して整理すると、

$$\frac{\Delta I}{g_{mGlu}(V_h - E_{mGlu})} = \frac{K_g^{n_{cg}}([\text{cGMP}]_i'^{n_{cg}} - [\text{cGMP}]_d^{n_{cg}})}{([\text{cGMP}]_i'^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}})([\text{cGMP}]_d^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}})} = \delta \quad (\text{C.66})$$

$$[\text{cGMP}]_d^{n_{cg}} = \frac{K_g^{n_{cg}}\{[\text{cGMP}]_i'^{n_{cg}} - \delta([\text{cGMP}]_i'^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}})\}}{K_g^{n_{cg}} + \delta([\text{cGMP}]_i'^{n_{cg}} + K_g^{n_{cg}})} \quad (\text{C.67})$$

から、ピペットを刺入した瞬間の cGMP 濃度 $[\text{cGMP}]_d$ が求められる。*intact* な場合の cGMP 濃度 $[\text{cGMP}]_d$ は、式 (C.16) によってあたえることができるため、これより、*intact* での P_{cG} は、

$$P_{cG} = [\text{cGMP}]_d(h_{p0} + \beta_{cg}[PDE^*]_d) \quad (\text{C.68})$$

より求まる。推定では、 $D = 0.0015$ を用いた。

以上の手法により推定した各パラメータ値を表 C.1 に示す。

膜電位固定シミュレーション

第 2 章 2.3.3 節にまとめたように、オン型双極細胞の樹状突起にグルタミン酸を局所的に灌流し電流応答を記録した場合、約 0mV で反転する電流応答が記録される。その応答極性は、負電位では外向き、正電位では内向きの電流応答を示す (図 2.6A)。この電流は、低いグルタミン酸濃度ではほぼ線形な応答を示し、約 200 μ M 以上で飽和する特性を持っている (図 2.6B)。このグルタミン酸作動性電流 (I_{mGlu}) は、代謝型グルタミン酸レセプタによって制御されていると考えられている [81, 82, 98]。代謝型グルタミン酸レセプタにグルタミン酸が受容されると、細胞内において G 蛋白を介した phosphodiesterase (PDE) の活性化が生じ、結果、cGMP が加水分解され細胞内 cGMP 濃度が減少する。細胞膜には細胞内 cGMP 濃度によって開閉

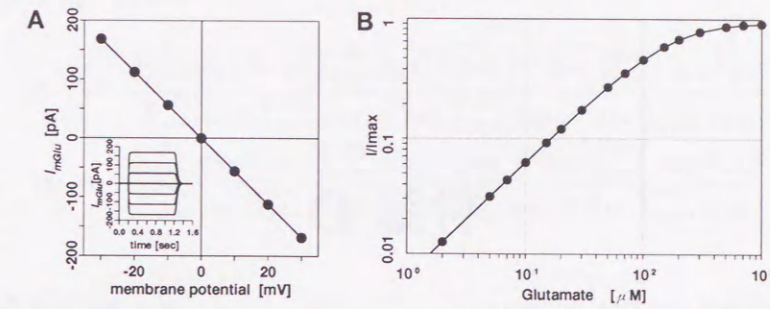


図 C.5 I_{mGlu} モデルのシミュレーション結果

状態が調節される陽イオンチャネルがあり、細胞内 cGMP 濃度の減少によって電流が抑制され、 I_{mGlu} として観測される (図 C.1)。また、このグルタミン酸レセプタは、他の種類のグルタミン酸レセプタと違い、グルタミン酸のアゴニストである 2-amino-4-phosphonobutyrate (APB) に対して感受性を持つ [81, 110]。

I_{mGlu} モデルのシミュレーション結果が、図 C.5 であり、本モデルがその特性をほぼ表現できていることが分かる。

付録 D

細胞間の結合係数と膜コンダクタンス

D.1 膜コンダクタンスと細胞間の結合係数

それぞれ N_1 個、 N_2 個のコンダクタンスからなる神経細胞を、コンダクタンス g_{AX} で接続した場合について考える (図 D.1)。それぞれ細胞の膜電位 V_1 、 V_2 は、

$$C_1 \frac{dV_1}{dt} = - \sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} (V_1 - E_{i(1)}) - i_{AX} \quad (D.1)$$

$$C_2 \frac{dV_2}{dt} = - \sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)} (V_2 - E_{j(2)}) + i_{AX} \quad (D.2)$$

$$i_{AX} = g_{AX} (V_1 - V_2) \quad (D.3)$$

という式で求められる。この回路が定常状態すなわち細胞が静止状態であるときの膜電位を求める。

$$\begin{cases} 0 = - \sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} (V_1 - E_{i(1)}) - g_{AX} (V_1 - V_2) \\ 0 = - \sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)} (V_2 - E_{j(2)}) + g_{AX} (V_1 - V_2) \end{cases}$$

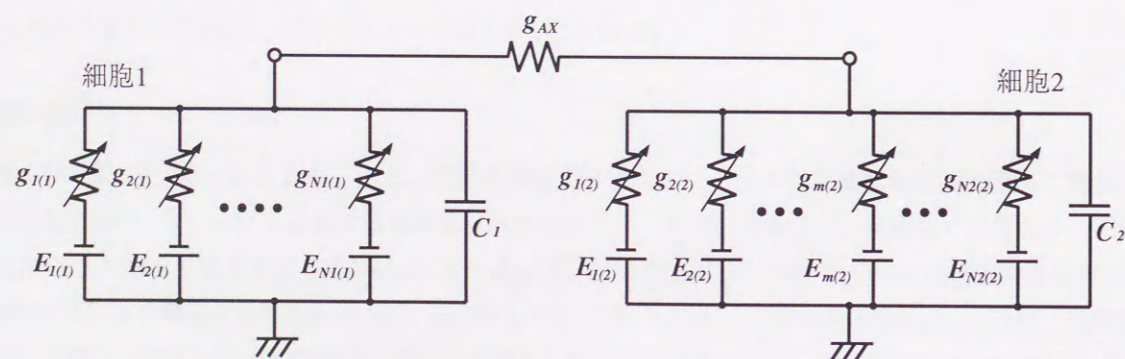


図 D.1 軸索コンダクタンス g_{AX} で接続した神経細胞の等価回路

この連立方程式より V_1 、 V_2 は、

$$V_1 = \frac{\sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} E_{i(1)} (\sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)} + g_{AX}) + g_{AX} \sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)} E_{j(2)}}{\sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} \sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)} + g_{AX} \sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} + g_{AX} \sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)}} \quad (D.4)$$

$$V_2 = \frac{\sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)} E_{j(2)} (\sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} + g_{AX}) + g_{AX} \sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} E_{i(1)}}{\sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} \sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)} + g_{AX} \sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} + g_{AX} \sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)}} \quad (D.5)$$

となる。

次に、細胞 2 のあるコンダクタンス $g_{m(2)}$ が、 $g_{m(2)} + \Delta g$ に変化した場合、それぞれの細胞の膜電位がどれだけ変化するかについて考える。ただし簡単のため、コンダクタンスは膜電位変化に関わらず一定とし膜容量も無視する。このときの膜電位 V'_1 、 V'_2 は、式 (D.4)、(D.5) より、次式によって決まる。

$$V'_1 = \frac{GE_1(G_2 + \Delta g + g_{AX}) + g_{AX}(GE_2 + \Delta g E_{m(2)})}{G_1(G_2 + \Delta g) + g_{AX}G_1 + g_{AX}(G_2 + \Delta g)} \quad (D.6)$$

$$V'_2 = \frac{(GE_2 + \Delta g E_{m(2)})(G_1 + g_{AX}) + g_{AX}GE_1}{G_1(G_2 + \Delta g) + g_{AX}G_1 + g_{AX}(G_2 + \Delta g)} \quad (D.7)$$

ここで、

$$G_1 = \sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} \quad (D.8)$$

$$G_2 = \sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)} \quad (D.9)$$

$$GE_1 = \sum_{i=1}^{N_1} g_{i(1)} E_{i(1)} \quad (D.10)$$

$$GE_2 = \sum_{j=1}^{N_2} g_{j(2)} E_{j(2)} \quad (D.11)$$

とおいた。膜電位の変化分 ΔV_1 、 ΔV_2 は、したがって、

$$\Delta V_1 = V'_1 - V_1 \quad (D.12)$$

$$\Delta V_2 = V'_2 - V_2 \quad (D.13)$$

である。これより、細胞 2 から細胞 1 への結合係数 K_{21} は、

$$K_{21} = \frac{\Delta V_1}{\Delta V_2} = \frac{V'_1 - V_1}{V'_2 - V_2} \quad (D.14)$$

$$= \frac{(GE_1 + g_{AX}E_{m(2)})\Delta g G_{AL} - \{GE_1(G_2 + g_{AX}) + g_{AX}GE_2\}(G_1 + g_{AX})\Delta g}{\Delta g E_{m(2)}(G_1 + g_{AX})G_{AL} - \{GE_2(G_1 + g_{AX}) + g_{AX}GE_1\}(G_1 + g_{AX})\Delta g} \quad (D.15)$$

$$= \frac{(GE_1 + g_{AX}E_{m(2)})G_{AL} - \{GE_1(G_2 + g_{AX}) + g_{AX}GE_2\}(G_1 + g_{AX})}{\{E_{m(2)}G_{AL} - GE_2(G_1 + g_{AX}) - g_{AX}GE_1\}(G_1 + g_{AX})} \quad (D.16)$$

ここで、 $G_{AL} = G_1G_2 + G_1g_{AX} + G_2g_{AX}$ とおいた。ここまでの式展開において Δg はなくなり、結合係数は、 Δg に依存しないことが分かる。さらに式展開を進める。

$$K_{21} = \frac{(GE_1 + g_{AX}E_{m(2)})(G_1G_2 + G_1g_{AX} + G_2g_{AX}) - \{GE_1(G_2 + g_{AX}) + g_{AX}GE_2\}(G_1 + g_{AX})}{\{E_{m(2)}G_{AL} - GE_2(G_1 + g_{AX}) - g_{AX}GE_1\}(G_1 + g_{AX})} \quad (D.17)$$

$$= \frac{g_{AX}\{E_{m(2)}G_{AL} - GE_1g_{AX} - GE_2(G_1 + g_{AX})\}}{\{E_{m(2)}G_{AL} - GE_2(G_1 + g_{AX}) - g_{AX}GE_1\}(G_1 + g_{AX})} \quad (D.18)$$

$$= \frac{g_{AX}}{G_1 + g_{AX}} \quad (D.19)$$

このことは、細胞2のあるコンダクタンスが変化したときの細胞1と細胞2の電位変化の比は、軸索コンダクタンス g_{AX} と細胞1の膜コンダクタンスの総和 G_1 によってのみ決定され、反転電位や細胞2の膜コンダクタンスには依存しないことを示している。

参考文献

- [1] Ashmore, J. F and Copenhagen, D. R. "Different postsynaptic events in two types of retinal bipolar cell.", *Nature*, Vol.287, 84-86, Nov., (1980).
- [2] Attwell, D, Mobbs, P, and Tessier-Lavigne, M. "Neurotransmitter-induced currents in retinal bipolar cells of the axolotl *ambystoma mexicanum*.", *J. Physiol.*, Vol.387, 125-161, (1987).
- [3] Ayoub, G. S and Matthews, G. "Substance P modulates calcium current in retinal bipolar neurons.", *Visual Neurosci.*, Vol.8, 539-544, (1992).
- [4] Barnes, S and Hille, B. "Ionic channels of the inner segment of tiger salamander cone photoreceptors.", *J. Gen. Physiol.*, Vol.94, 719-743, (1989).
- [5] Borges, S and Wilson, M. "Structure of the receptive fields of bipolar cells in the salamander retina.", *J. Neurophysiol.*, Vol.58, No.6, 1275-1291, (1987).
- [6] Brandstätter, J. H, Koulen, P, and Wässle, H. "Diversity of glutamate receptors in the mammalian retina.", *Vision Res.*, Vol.38, 1385-1397, (1998).
- [7] Brivanlou, I. H, Warland, D. K, and Meister, M. "Mechanisms of concerted firing among retinal ganglion cells.", *Neuron*, Vol.20, 527-539, (1998).
- [8] Burrone, J and Lagnado, L. "Electrical resonance and Ca^{2+} influx in the synaptic terminal of depolarizing bipolar cells from the goldfish retina.", *J. Physiol.*, Vol.505, No.3, 571-584, (1997).
- [9] Carneval, N. T and Rosenthal, S. "Kinetics of diffusion in a spherical cell. i. no solute buffering.", *J. Neurosci. Meth.*, Vol.41, 205-216, (1992).
- [10] Copenhagen, D. R, Ashmore, J. F, and Schnapf, J. K. "Kinetics of synaptic transmission from photoreceptors to horizontal and bipolar cells in turtle retina.", *Vision Res.*, Vol.23, No.4, 363-369, (1983).
- [11] Dacey, D. M. "Circuitry for color coding in the primate retina.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.93, 582-588, (1996).
- [12] Dacey, D. M, Lee, B. B, Stafford, D. K, Pokorny, J, and Smith, V. C. "Horizontal cells of the primate retina: cone specificity without spectral opponency.", *Science*, Vol.271, 656-659, (1996).

- [13] Davanger, S, Storm-Mathisen, J, and Ottersen, O. P. "Colocalization of glutamate and glycine in bipolar cell terminals of the human retina.", *Exp. Brain Res.*, Vol.98, 342-354, (1994).
- [14] Daw, N. W, Jensen, R. J, and Brunken, W. J. *TINS*, Vol.13, 110-115, (1990).
- [15] de la Villa, P, Kurahashi, T, and Kaneko, A. "L-glutamate-induced responses and cGMP-activated channels in three subtypes of retinal bipolar cells dissociated from the cat.", *J. Neurosci.*, Vol.15, No.5, 3571-3582, May, (1995).
- [16] DeVries, S. H and Schwartz, E. A. "Kainate receptors mediate synaptic transmission between cones and 'OFF' bipolar cells in a mammalian retina.", *Nature*, Vol.397, 157-160, Jan., (1999).
- [17] DiFrancesco, D and Noble, D. "A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes.", *Phil. Trans. Roy. Soc. London Ser. B.*, Vol.307, 353-398, (1985).
- [18] Dolan, R. P and Schiller, P. H. "Evidence for only depolarizing rod bipolar cells in the primate retina.", *Visual Neurosci.*, Vol.2, 421-434, (1989).
- [19] Dowling, J. E. *The retina*. Belknap, Harvard, (1987).
- [20] Ehinger, B, Ottersen, O. P, Storm-Mathisen, J, and Dowling, J. E. "Bipolar cells in the turtle retina are strongly immunoreactive for glutamate.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.85, 8321-8325, Nov., (1988).
- [21] Euler, T, Schneider, H, and Wässle, H. "Glutamate responses of bipolar cells in a slice preparation of the rat retina.", *J. Neurosci.*, Vol.16, No.9, 2934-2944, May, (1996).
- [22] Fan, S.-F and Yazulla, S. "Suppression of voltage-dependent K^+ currents in retinal bipolar cells by ascorbate.", *Visual Neurosci.*, Vol.16, 141-148, (1999).
- [23] Feigenspan, A, Wässle, H, and Bormann, J. "Pharmacology of GABA receptor Cl^- channels in rat retinal bipolar cells.", *Nature*, Vol.361, 159-160, Jan., (1993).
- [24] Fohlmeister, J. E and Miller, R. F. "Impulse encoding mechanisms of ganglion cells in the tiger salamander retina.", *J. Neurophysiol.*, Vol.78, 1935-1947, (1997).
- [25] Frumkes, T. E and Wu, S. M. "Independent influences of rod adaptation on cone-mediated responses to light onset and offset in distal retinal neurons.", *J. Neurophysiol.*, Vol.64, No.3, 1043-1054, Sept., (1990).
- [26] Gilbertson, T. A, Scobey, R, and Wilson, M. "Permeation of calcium ions through non-NMDA glutamate channels retinal bipolar cells.", *Science*, Vol.251, 1613-1615, Mar., (1991).
- [27] Grant, G. B and Dowling, J. E. "A glutamate-activated chloride current in cone-driven on bipolar cells of the white perch retina.", *J. Neurosci.*, Vol.15, No.5, 3852-3862, (1995).

- [28] Grant, G. B and Dowling, J. E. "On bipolar cell responses in the teleost retina are generated by two distinct mechanisms.", *J. Neurophysiol.*, Vol.76, No.6, 3842-3849, (1996).
- [29] Hayashida, Y, Yagi, T, and Yasui, S. " Ca^{2+} regulation by the Na^+-Ca^{2+} exchanger in retinal horizontal cells depolarized by l-glutamate.", *Neurosci. Res.*, Vol.31, 189-199, (1998).
- [30] Hayashida, Y, Yasui, S, and Yagi, T. "Na-ca exchanger of the retinal horizontal cell.", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, Vol.37, 139, (1996).
- [31] Heidelberger, R and Matthews, G. "Calcium influx and calcium current in single synaptic terminals of goldfish retinal bipolar neurons.", *J. Physiol.*, Vol.447, 235-256, (1992).
- [32] Hensley, S. H, Yang, X.-L, and Wu, S. M. "Relative contribution of rod and cone inputs to bipolar cells and ganglion cells in the tiger salamander retina.", *J. Neurophysiol.*, Vol.69, No.6, 2086-2098, June, (1993).
- [33] Hille, B. *Ionic channels of excitable membranes*. Sinauer Associates, (1984).
- [34] Hirano, A. A and MacLeish, P. R. "Glutamate and 2-amino-4-phosphonobutyrate evoke an increase in potassium conductance in retinal bipolar cells.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.88, 805-809, Feb., (1991).
- [35] Hodgkin, A. L and Huxley, A. F. "A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve.", *J. Physiol.*, Vol.117, 500-544, (1952).
- [36] hua Pan, Z. "Differential expression of high- and two types of low- voltage-activated calcium currents in rod and cone bipolar cells of the rat retina.", *J. Neurophysiol.*, Vol.83, 513-527, (2000).
- [37] Ishida, A. T, Stell, W. K, and Lightfoot, D. O. "Rod and cone inputs to bipolar cells in goldfish retina.", *J. Comp. Neurology*, Vol.191, 315-335, (1980).
- [38] Johnston, D and sin Wu, S. M. *Foundations of Cellular Neurophysiology*. The Mit Press, (1995).
- [39] Jr., E. V. F, Kaneko, A, and Tachibana, M. "Neuronal architecture of on and off pathways to ganglion cells in carp retina.", *Science*, Vol.198, 1267-1269, (1977).
- [40] Kamiyama, Y, Ogura, T, and Usui, S. "Direct input from rod horizontal cells to rod bipolar cells in the carp retina." In *The 4th IBRO World Congress of Neuroscience*, p. 278, July, (1995).
- [41] Kamiyama, Y, Ogura, T, and Usui, S. "Ionic current model of the vertebrate rod photoreceptor.", *Vision Res.*, Vol.36, No.24, 4059-4068, (1996).
- [42] Kaneko, A. "Receptive field organization of bipolar and amacrine cells in the goldfish retina.", *J. Physiol.*, Vol.235, 133-153, (1973).
- [43] Kaneko, A. "The functional role of retinal horizontal cells.", *Jpn. J. Physiol.*, Vol.37, 341-358, (1987).

- [44] Kaneko, A, Edward V. Famiglietti, J, and Tachibana, M. "Physiological and morphological identification of signal pathways in the carp retina.", *Neurobiology*, 235-251, (1979).
- [45] Kaneko, A, Pinto, L. H, and Tachibana, M. "Transient calcium current of retinal bipolar cells of the mouse.", *J. Physiol.*, Vol.410, 613-629, (1989).
- [46] Kaneko, A and Saito, T. "Ionic mechanisms underlying the responses of off-center bipolar cells in carp retina ii. studies on responses evoked by transretinal current stimulation.", *J. Gen. Physiol.*, Vol.81, 603-612, (1983).
- [47] Kaneko, A and Shimazaki, H. "Synaptic transmission from photoreceptors to bipolar and horizontal cells in the carp retina.", *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, Vol.XL, 537-546, (1976).
- [48] Kaneko, A and Tachibana, M. "Convergence of rod and cone signals to single bipolar cells in the carp retina.", *Sensory Processes*, Vol.2, 383-387, (1978).
- [49] Kaneko, A and Tachibana, M. "Double color-opponent receptive fields of carp bipolar cells.", *Vision Res.*, Vol.23, No.4, 381-388, (1983).
- [50] Kaneko, A and Tachibana, M. "A voltage-clamp analysis of membrane currents in solitary bipolar cell dissociated from *carassius auratus*.", *J. Physiol.*, Vol.358, 131-152, (1985).
- [51] Kaneko, A and Tachibana, M. "Effects of γ -aminobutyric acid on isolated cone photoreceptors of the turtle retina.", *J. Physiol.*, Vol.373, 443-461, (1986).
- [52] Karschin, A and Wässle, H. "Voltage- and transmitter-gated currents in isolated rod bipolar cells of rat retina.", *J. Neurophysiol.*, Vol.63, No.4, 860-876, Apr., (1990).
- [53] Kim, H. G and Miller, R. F. "Properties of synaptic transmission from photoreceptors to bipolar cells in mudpuppy retina.", *J. Neurophysiol.*, Vol.69, No.2, 352-360, Feb., (1993).
- [54] Kobayashi, K and Tachibana, M. " Ca^{2+} regulation in the presynaptic terminals of goldfish retinal bipolar cells.", *J. Physiol.*, Vol.483, No.1, 79-94, (1995).
- [55] Kolb, H and Nelson, R. "Rod pathways in the retina of the cat.", *Vision Res.*, Vol.23, No.4, 301-312, (1983).
- [56] Kondo, H and Toyoda, J. "Dual effect of glutamate and aspartate on the on-center bipolar cell in the carp retina.", *Brain Res.*, Vol.199, 240-243, (1980).
- [57] Korenbrot, J. I and Maricq, A. V. "Calcium and calcium-dependent chloride currents generate action potentials in solitary cone photoreceptors.", *Neuron*, Vol.1, 503-515, (1989).
- [58] Kouyama, N and Marshak, D. W. "Bipolar cells specific for blue cones in the macaque retina.", *J. Neurosci.*, Vol.12, No.4, 1233-1252, (1992).

- [59] Kujiraoka, T and Saito, T. "Electrical coupling between bipolar cells in carp retina.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.83, 4063-4066, June, (1986).
- [60] Lagnado, L, Cervetto, L, and McNaughton, P. A. "Ion transport by the Na-Ca exchange in isolated rod outer segments.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.85, 4548-4552, June, (1988).
- [61] Lasansky, A. "Contacts between receptors and electrophysiologically identified neurones in the retina of the larval tiger salamander.", *J. Physiol.*, Vol.285, 531-542, (1978).
- [62] Lasater, E. M. "Membrane currents of retinal bipolar cells in culture.", *J. Neurophysiol.*, Vol.60, No.4, 1460-1480, (1988).
- [63] Lasater, E. M. "Membrane properties of distal retinal neurons.", *Progress in Retinal Research*, Vol.11, 215-246, (1991).
- [64] Lasater, E. M, Dowling, J. E, and Ripps, H. "Pharmacological properties of isolated horizontal and bipolar cells from the skate retina.", *J. Neurosci.*, Vol.4, No.8, 1966-1975, Aug., (1984).
- [65] Lukasiewicz, P. D, Maple, B. R, and Werblin, F. S. "A novel GABA receptor on bipolar cell terminals in the tiger salamander retina.", *J. Neurosci.*, Vol.14, No.3, 1202-1212, (1994).
- [66] Lukasiewicz, P. D and Werblin, F. S. "A novel GABA receptor modulates synaptic transmission from bipolar to ganglion and amacrine cells in the tiger salamander retina.", *J. Neurosci.*, Vol.14, No.3, 1213-1223, Mar., (1994).
- [67] Maguire, G, Maple, B, Lukasiewicz, P, and Werblin, F. " γ -Aminobutyrate type B receptor modulation of L-type calcium channel current at bipolar cell terminals in the retina of the tiger salamander.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.86, 10144-10147, Dec., (1989).
- [68] Maple, B. R, Werblin, F. S, and Wu, S. M. "Miniature excitatory postsynaptic currents in bipolar cells of the tiger salamander retina.", *Vision Res.*, Vol.34, No.18, 2357-2362, (1994).
- [69] Maple, B. R and Wu, S. M. "Synaptic inputs mediating bipolar cell responses in the tiger salamander retina.", *Vision Res.*, Vol.36, No.24, 4015-4023, (1996).
- [70] Martin, P. R. "Colour processing in the primate retina: recent progress.", *J. Physiol.*, Vol.513, No.3, 631-638, (1998).
- [71] Massey, S. C and Miller, R. F. "Glutamate receptors of ganglion cells in the rabbit retina: Evidence for glutamate as a bipolar cell transmitter.", *J. Physiol.*, Vol.405, 635-655, (1988).
- [72] Matthews, G. "Synaptic mechanisms of bipolar cell terminals.", *Vision Res.*, Vol.39, 2469-2476, (1999).
- [73] Matthews, G, Ayuob, G. S, and Heidelberger, R. "Presynaptic inhibition by GABA is mediated via two distinct GABA receptors with novel pharmacology.", *J. Neurosci.*, Vol.14, No.3, 1079-1090, (1994).

- [74] Mead, C. 情報科学シリーズ 27 アナログ VLSI と神経システム. トッパン, (1993).
- [75] Mennerick, S and Matthews, G. "Ultrafast exocytosis elicited by calcium current in synaptic terminals of retinal bipolar neurons.", *Neuron*, Vol.17, 1241-1249, (1996).
- [76] Mennerick, S, Zenisek, D, and Matthews, G. "Static and dynamic membrane properties of large-terminal bipolar cells from goldfish retina: Experimental test of a compartment model.", *J. Neurophysiol.*, Vol.78, 51-62, (1997).
- [77] Murakami, M, Ohtsuka, T, and Shimazaki, H. "Effects of aspartate and glutamate on the bipolar cells in the carp retina.", *Vision Res.*, Vol.15, 456-458, (1975).
- [78] Nakajima, Y, Iwakabe, H, Akazawa, C, Nawa, H, Shigemoto, R, Mizuno, N, and Nakanishi, S. "Molecular characterization of a novel retinal metabotropic glutamate receptor mglur6 with a high agonist selectivity for 1-2-amino-4-phosphonobutyrate.", *J. Biol. Chem.*, Vol.268, No.16, 11868-11873, June, (1993).
- [79] Nawy, S and Copenhagen, D. R. "Multiple classes of glutamate receptor on depolarizing bipolar cells in retina.", *Nature*, Vol.325, 56-58, Jan., (1987).
- [80] Nawy, S and Copenhagen, D. R. "Intracellular cesium separates two glutamate conductances in retinal bipolar cells of goldfish.", *Vision Res.*, Vol.30, No.7, 967-972, (1990).
- [81] Nawy, S and Jahr, C. E. "Suppression by glutamate of cGMP-activated conductance in retinal bipolar cells.", *Nature*, Vol.346, 269-271, (1990).
- [82] Nawy, S and Jahr, C. E. "cGMP-gated conductance in retinal bipolar cells is suppressed by the photoreceptor transmitter.", *Neuron*, Vol.7, 677-683, (1991).
- [83] Nelson, R, Kolb, H, Jr., E. V. F, and Gouras, P. "Neural responses in the rod and cone systems of the cat retina: Intracellular records and procion stains.", *Invest. Ophthalmol.*, Vol.15, 946-953, Nov., (1976).
- [84] Nowycky, M. C and Pinter, M. J. "Time courses of calcium and calcium-bound buffers following calcium influx in a model cell.", *Biophys. J.*, Vol.64, 77-91, Jan., (1993).
- [85] Okada, T, Horiguchi, H, and Tachibana, M. "Ca²⁺-dependent Cl⁻ current at the presynaptic terminals of goldfish retinal bipolar cells.", *Neurosci. Res.*, Vol.23, 297-303, (1995).
- [86] Owen, W. G and Hare, W. A. "Signal transfer from photoreceptors to bipolar cells in the retina of the tiger salamander.", *Neurosci. Res.*, Vol.10, S77-S88, (1989).
- [87] Paul J. DeMarco, J, Bilotta, J, and Powers, M. K. "DL-2-amino-4-phosphonobutyric acid does not eliminate "ON" responses in the visual system of goldfish.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.88, 3787-3791, May, (1991).

- [88] Popova, E, Kuppenova, P, Vitanova, L, and Mitova, L. "Effect of 2-amino-4-phosphonobutyrate on ERG OFF-response after glycinergic and GABAergic blockade.", *Vision Res.*, Vol.35, No.14, 1945-1949, (1995).
- [89] Qin, P and Pourcho, R. G. "Localization of ampa-selective glutamate receptor subunits in the cat retina: A light- and electron-microscopic study.", *Visual Neurosci.*, Vol.16, 169-177, (1999).
- [90] Saito, T and Kaneko, A. "Ionic mechanisms underlying the responses of off-center bipolar cells in the carp retina *i. studies on responses evoked by light.*", *J. Gen. Physiol.*, Vol.81, 589-601, (1983).
- [91] Saito, T, Kondo, H, and Toyoda, J. "Rod and cone signals into the on-center bipolar cell: their different ionic mechanisms.", *Vision Res.*, Vol.18, 591-595, (1978).
- [92] Saito, T, Kondo, H, and Toyoda, J. "Ionic mechanisms of two types of on-center bipolar cells in the carp retina.", *J. Gen. Physiol.*, Vol.73, 73-90, (1979).
- [93] Saito, T and Kujiraoka, T. "Physiological and morphological identification of two types of on-center bipolar cells in the carp retina.", *The Journal of Comparative Neurology*, Vol.205, 161-170, (1982).
- [94] Sakaba, T, Ishikane, H, and Tachibana, M. "Ca²⁺-activated K⁺ current at presynaptic terminals of goldfish retinal bipolar cells.", *Neurosci. Res.*, Vol.27, 219-228, (1997).
- [95] Sakaba, T, Tachibana, M, Matsui, K, and Minami, N. "Two components of transmitter release in retinal bipolar cells: exocytosis and mobilization of synaptic vesicles.", *Neurosci. Res.*, Vol.27, 357-370, (1997).
- [96] Sakai, T and Kaneko, A. "L-glutamate-induced responses in OFF-type bipolar cells of the cat retina.", *Vision Res.*, Vol.36, No.6, 787-795, (1996).
- [97] Sherry, D. M and Yazulla, S. "Goldfish bipolar cells and axon terminal patterns: A golgi study.", *J. Comp. Neurol.*, Vol.329, 188-200, (1993).
- [98] Shiells, R. A and Falk, G. "Glutamate receptors of rod bipolar cells are linked to a cyclic GMP via a G-protein.", *Proc. R. Soc. Lond. B*, Vol.242, 91-94, (1990).
- [99] Shiells, R. A and Falk, G. "The glutamate-receptor linked cGMP cascade of retinal on-bipolar cells is pertussis and cholera toxin-sensitive.", *Proc. R. Soc. Lond. B*, Vol.247, 17-20, (1992).
- [100] Shiells, R. A and Falk, G. "Properties of the cGMP-activated channel of retinal on-bipolar cells.", *Proc. R. Soc. Lond. B*, Vol.247, 21-25, (1992).
- [101] Shiells, R. A and Falk, G. "Retinal on-bipolar cells contain a nitric oxide-sensitive guanylate cyclase.", *Neuro Report*, Vol.3, 845-848, (1992).

- [102] Shiells, R. A and Falk, G. "Responses of rod bipolar cells isolated from dogfish retinal slice to concentration-jumps of glutamate.", *Visual Neurosci.*, Vol.11, 1175-1183, (1994).
- [103] Shiells, R. A, Falk, G, and Naghshineh, S. "Action of glutamate and aspartate analogues on rod horizontal and bipolar cells.", *Nature*, Vol.294, No.10, 592-594, Dec., (1981).
- [104] Simon, S. M and Llinás, R. R. "Compartmentalization of the submembrane calcium activity during calcium influx and its significance in transmitter release.", *Biophys. J.*, Vol.48, 485-498, Sept., (1985).
- [105] Simpson, P. B, Challiss, R. A. J, and Nahorski, S. R. "Neuronal Ca^{2+} stores: activation and function.", *TINS*, Vol.18, No.7, 299-306, (1995).
- [106] Slaughter, M. M and Miller, R. F. "2-amino-4-phosphonobutyric acid: A new pharmacological tool for retina research.", *Science*, Vol.211, 182-184, (1981).
- [107] Slaughter, M. M and Miller, R. F. "Bipolar cells in the mudpuppy retina use an excitatory amino acid neurotransmitter.", *Nature*, Vol.303, 537-538, June, (1983).
- [108] Slaughter, M. M and Miller, R. F. "An excitatory amino acid antagonist blocks cone input to sign-conserving second-order retinal neurons.", *Science*, Vol.219, 1230-1232, May, (1983).
- [109] Slaughter, M. M and Miller, R. F. "The role of excitatory amino acid transmitters in the mudpuppy retina: an analysis with kainic acid and n-methyl aspartate.", *J. Neurosci.*, Vol.3, No.8, 1701-1711, Aug., (1983).
- [110] Slaughter, M. M and Miller, R. F. "Characterization of an extended glutamate receptor of the on bipolar neuron in the vertebrate retina.", *J. Neurosci.*, Vol.5, No.1, 224-233, Jan., (1985).
- [111] Smith, S. J and Augustine, G. J. "Calcium ions, active zones and synaptic transmitter release.", *TINS*, Vol.11, No.10, 458-464, (1988).
- [112] Spruston, N, Jaffe, D. B, and Johnston, D. "Dendritic attenuation of synaptic potentials and currents: the role of passive membrane properties.", *TINS*, Vol.17, No.4, 161-166, (1994).
- [113] Stell, W. K and Lightfoot, D. O. "Color-specific interconnections of cones and horizontal cells in the retina of the goldfish.", *J. Comp. Neurol.*, Vol.159, 473-502, (1975).
- [114] Suzuki, S and Kaneko, A. "Identification of bipolar cell subtypes by protein kinase c-like immunoreactivity in the goldfish retina.", *Visual Neurosci.*, Vol.5, 223-230, (1990).
- [115] Suzuki, S, Tachibana, M, and Kaneko, A. "Effects of glycine and GABA on isolated bipolar cells of the mouse retina.", *J. Physiol.*, Vol.421, 645-662, (1990).
- [116] Tachibana, M. "Ionic currents of solitary horizontal cells isolated from goldfish.", *J. Physiol.*, Vol.345, 329-351, (1983).

- [117] Tachibana, M and Kaneko, A. " γ -aminobutyric acid at axon terminal of turtle photoreceptors: Difference in sensitivity among cell types.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.81, 7961-7964, (1984).
- [118] Tachibana, M and Kaneko, A. "Retinal bipolar cells receive negative feedback input from GABAergic amacrine cells.", *Visual Neurosci.*, Vol.1, 297-305, (1988).
- [119] Tachibana, M and Okada, T. "Release of endogenous excitatory amino acids from on-type bipolar cells isolated from the goldfish retina.", *J. Neurosci.*, Vol.11, No.7, 2199-2208, (1991).
- [120] Tachibana, M, Okada, T, Arimura, T, Kobayashi, K, and Piccolino, M. "Dihydropyridine-sensitive calcium current mediates neurotransmitter release from bipolar cells of the goldfish retina.", *J. Neurosci.*, Vol.13, No.7, 2898-2909, (1993).
- [121] Tessier-Lavigne, M, Attwell, D, Mobbs, P, and Wilson, M. "Membrane currents in retinal bipolar cells of the axolotl.", *J. Gen. Physiol.*, Vol.91, 49-72, (1988).
- [122] Thoreson, W. B and Miller, R. F. "Membrane currents evoked excitatory amino acid agonists in on bipolar cell of the mudpuppy retina.", *J. Neurophysiol.*, Vol.70, No.4, 1326-1338, Oct., (1993).
- [123] Thoreson, W. B and Miller, R. F. "Actions of (1s,3r)-1-aminocyclopentane-1,3-dicarboxylic acid (1s,3r-acpd) in retinal on bipolar cells indicate that it is an agonist at l-ap4 receptors.", *J. Gen. Physiol.*, Vol.103, 1019-1034, June, (1995).
- [124] Tian, N and Slaughter, M. M. "Pharmacological similarity between the retinal APB receptor and the family of metabotropic glutamate receptors.", *J. Neurophysiol.*, Vol.71, No.6, 2258-2268, June, (1994).
- [125] Torre, V, Straforini, M, and Campani, M. "An economic model of mechanisms underlying phototransduction." In *International Symposium on Neural Information Processing*, Iizuka, Fukuoka, Japan. Kyushu Institute of Technology, June, (1992).
- [126] Toyoda, J and Kujiraoka, T. "Analyses of bipolar cell responses elicited by polarization of horizontal cells.", *J. Gen. Physiol.*, Vol.79, 131-145, (1982).
- [127] Umino, O, Maehara, M, Hidaka, S, Kita, S, and Hashimoto, Y. "The network properties of bipolar-bipolar cell coupling in the retina of teleost fishes.", *Visual Neurosci.*, Vol.11, 533-548, (1994).
- [128] Usui, S, Ishii, H, and Kamiyama, Y. "An analysis of retinal l-type horizontal cell responses by the ionic current model.", *Neurosci. Res.*, Vol.Suppl. 15, S91-S105, (1991).
- [129] Usui, S, Kamiyama, Y, Ishii, H, and Ikeno, H. "Reconstruction of retinal horizontal cell responses by the ionic current model.", *Vision Res.*, Vol.36, No.12, 1711-1719, (1996).
- [130] Vardi, N and Sterling, P. "Subcellular localization of GABA_A receptor on bipolar cells in macaque and human retina.", *Vision Res.*, Vol.34, No.10, 1235-1246, (1994).

- [131] von Gersdorff, H and Matthews, G. "Dynamics of synaptic vesicle fusion and membrane retrieval in synaptic terminals.", *Nature*, Vol.367, 735-739, Feb., (1994).
- [132] Wagner, J and Keizer, J. "Effects of rapid buffers on Ca^{2+} diffusion and Ca^{2+} oscillations.", *Biophys. J.*, Vol.67, 447-456, (1994).
- [133] Werblin, F. S. "Control of retinal sensitivity ii. lateral interactions at the outer plexiform layer.", *J. Gen. Physiol.*, Vol.63, 62-67, (1974).
- [134] Werblin, F. S. "Control of retinal sensitivity ii. lateral interactions at the outer plexiform layer.", *J. Gen. Physiol.*, Vol.63, 62-87, (1974).
- [135] Wilson, M, Tessier-Lavigne, M, and Attwell, D. "Noise analysis predicts at least four states for channels closed by glutamate.", *Biophys. J.*, Vol.52, 955-960, Dec., (1987).
- [136] Yamada, W. M and Zucker, R. S. "Time course of transmitter release calculated from simulations of a calcium diffusion model.", *Biophys. J.*, Vol.61, 671-682, Mar., (1992).
- [137] Yamashita, M and Wässle, H. "Responses of rod bipolar cells isolated from the rat retina to the glutamate agonist 2-amino-4-phosphonobutyric acid (APB).", *J. Neurosci.*, Vol.11, No.8, 2372-2382, Aug., (1991).
- [138] Yasui, S. "Ca and Na homeostasis in horizontal cells of the cyprinid fish retina: Evidence for Na-Ca exchanger and Na-K pump.", *Neurosci. Res.*, Vol.Sup.6, S133-S146, (1987).
- [139] Zenisek, D and Matthews, G. "Calcium action potentials in retinal bipolar neurons.", *Visual Neurosci.*, Vol.15, 69-75, (1998).
- [140] 池野, 神山, 白井. "神経細胞イオン電流のモデルパラメーター推定法.", 電子情報通信学会論文誌 D-2, Vol.J76-D-2, No.5, 1047-1054, (1993).
- [141] 阿部. "神経終末における細胞内 Ca^{2+} の制御.", 蛋白質 核酸酵素, Vol.29, No.12, 1212-1222, (1984).
- [142] 中谷. "視細胞における情報処理.", 実験医学, Vol.11, No.10, 217-222, (1993).
- [143] 久場. "細胞内 Ca^{2+} の局在と膜電流.", 不整脈研究の進歩, Vol.1, 68-95, (1992).
- [144] 御手洗, 榊原. "鯉網膜双極細胞の色光応答特性.", 名大環境医学研究所年報, Vol.XXXII, 42-48, (1981).
- [145] 御手洗, 榊原. "色光および空間特性による鯉網膜双極細胞の機能分析.", 名大環境医学研究所年報, Vol.XXXIII, 35-41, (1982).
- [146] 河村. "視細胞における順応調節蛋白質.", 生物物理, Vol.32, No.4, 12-17, (1992).
- [147] 吉井. "神経細胞にみられる Ca^{2+} チャネルの異種性.", 生体の化学, Vol.38, No.6, 539-544, (1987).
- [148] 石井, 神山, 白井. "イオン電流モデルを用いた神経細胞の入力電流推定法.", 電子情報通信学会論文誌 D-II, Vol.J75-D-II, No.12, 2056-2065, 12, (1992).

- [149] 白井, 猿山, 御手洗, 榊原, 八木. "脊椎動物網膜の視覚センサ機能と構造.", バイオメカニズム, Vol.7, 41-49, (1984).
- [150] 小椋, 神山, 白井. "網膜視細胞のイオン電流モデル.", 電子情報通信学会論文誌, Vol.J78-D-II, No.10, 1501-1511, (1995).
- [151] 小椋, 神山, 白井. "網膜視細胞のイオン電流モデルと光応答のシミュレーション解析.", 電子情報通信学会論文誌, Vol.J78-D-II, No.10, 1512-1521, (1995).
- [152] 河西. "脳の機能と Ca チャネル.", 生体機能基礎研究の最前線, Vol.33, No.266, 48-53, (1992).
- [153] 神山, 白井. "生物の視覚系.", *OPTRONICS*, 47-52, (1993).
- [154] 井脇, 青山, 石原, 神山, 白井. "網膜神経節細胞のイオン電流モデル.", 電子情報通信学会技術研究報告, Vol.NC99-77, 117-123, (1999).

研究業績一覧

原著論文

1. Usui, S., Ishihara, A., Kamiyama, Y. and Ishii, H.: "Ionic Current Model of Bipolar Cells in the Lower Vertebrate Retina", *Vision Research*, Vol. 36, No. 24, 4069-4076, (1996).
2. 石原 彰人, 神山 齊己, 白井支朗: "網膜双極細胞のイオン電流モデル", 電子情報通信学会論文誌, Vol.J80-D-II, No.12, pp.3181-3190, (1997).
3. 石原彰人, 神山齊己, 白井支朗: "イオン機構に基づく網膜オン型双極細胞シナプス終末モデル", 電子情報通信学会論文誌, Vol.J83-D-II, No.2, pp.723-731, (2000)

国際会議

1. Kamiyama, Y., Ogura, T., Ishihara, A., Ishii, H. and Usui, S. : "Reconstruction of the Retinal Outer Plexiform Layer based on the Ionic Current Mechanisms", *Nagoya Symposium Integrative Mechanism of Physiological Function: from ion Channel to System*, The Second Joint Meeting of the Physiological Society of Japan and U.K. and Eire, S1-9, p.9, (1995/4).
2. Usui, S., Kamiyama, Y., Nagasaka, E. and Ishihara, A. : "Receptive Field Propertyies of Retinal Horizontal Cells Mesured by a Multi-input Technique", *International Society for Clinical Electrophysiology of Vision, XXXIV Symposium (Tubingen, Germany)*, Programme Handbook (1996/7).
3. Ishihara, A., Kamiyama, Y. and Usui, S.: "Analysis of light responses at the retinal bipolar cells based on ionic current model", *CNS*97 (Big Sky, Montana,USA)*, The proceedings of the Sixth Annual Computation and Neural Systems Conference (1997/7). *Computational Neuroscience: Trends in Research* (edited by J. Bower), Plenum Press, pp.203-209, (1998).
4. Kamiyama, Y., Ishihara, A. and Usui, S.: "A mathematical model of glutamatergic synapse of the retinal outer plexiform layer", *The 2nd RIEC International Symposium (Sendai)*, pp.137-140 (1998/5)

学会研究会

1. 石原彰人, 神山齊己, 白井支朗: "網膜双極細胞のイオン電流モデル", 平成7年度生理研視覚研究会 (1995/7).
2. 小椋俊彦, 石原彰人, 石井宏幸, 神山齊己, 白井支朗: "イオン電流モデルによる杆体双極細胞と杆体水平細胞の光応答の解析", 平成7年度生理研視覚研究会 (1995/7).
3. 石原彰人, 神山齊己, 白井支朗: "網膜双極細胞のイオン電流モデル", 電子情報通信学会技術研究報告, MBE95-112, pp.13-18 (1995/12).
4. 酒井みどり, 石原彰人, 石井宏幸, 神山齊己, 中内茂樹, 戸田尚宏, 白井支朗: "3色LEDによるランダム光刺激を用いた視細胞 — 水平細胞ネットワークの非線形特性の解析", 電子情報通信学会技術研究報告, MBE96-130, pp.49-56 (1997/3).
5. 石原彰人, 神山齊己, 白井支朗: "イオン電流とシナプス機構に基づく網膜オン型杆体双極細胞の光応答モデル", 電子情報通信学会技術研究報告, MBE97-121, pp.75-82 (1997/12).
6. 石原彰人, 神山齊己, 白井支朗: "網膜オン型杆体双極細胞コンパートメントモデルを用いた細胞体-シナプス終末間の伝達特性の解析", 第3回視覚科学フォーラム (1999/8).
7. 石原彰人, 神山齊己, 白井支朗: "網膜オン型杆体双極細胞の光応答形成に関するシミュレーション解析", 第14回生体・生理工学シンポジウム, (1999)

学会発表

1. 石原彰人, 神山齊己, 白井支朗: "網膜双極細胞のイオン電流モデル", 日本神経回路学会第6回全国大会講演論文集 (仙台), p.145 (1995/10).
2. Ishihara, A., Kamiyama, Y. and Usui, S. : "Ionic Current Model of Retinal Bipolar Cells", *Neuroscience Resarch*, Supplement 20, p.S194 (1996).
3. 石原彰人, 神山齊己, 長坂英一郎, 白井支朗: "多入力高頻度刺激による網膜水平細胞光受容野の計測", 日本ME学会東海支部学術集会, p.34, (1996/10).
4. 石原彰人, 神山齊己, 白井支朗: "多入力高頻度刺激による網膜水平細胞光受容野の計測", 第74回日本生理学会大会 (浜松), (1997/3).
Ishihara, A. Kamiyama, Y. and Usui, S.: "Receptive Field Properties of Retinal Horizontal cells Recorded by a Multi-input Technique", *Japanese Journal of Physiology*, Vol.47, Supplement 2, p.S157, (1997)
5. 石原彰人, 神山齊己, 白井支朗: "イオン機構に基づく網膜オン型杆体双極細胞の光応答モデル", 第75回日本生理学会大会 (金沢), (1998/3).

出版物

1. Usui, S., Kamiyama, Y., Ishii, H., Ogura, T., and Ishihara, A. "Ionic current Model of the Outer Retinal Cells", Modeling in the Neurosciences: From Ionic Channels to Neural Networks, Chapter 11, Roman R. Poznanski ed., Harwood Academic Publishers, Amsterdam. Proofs, (1998).

その他

1. 石原彰人: "クレタコース体験記", 日本神経回路学会誌, Vol.5 No.2, pp.86-87, (1998).

