

Title	受容野・色・光順応-視覚環境に応じた網膜神経系の調節メカニズム
Author(s)	古川, 徹生
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3151127
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

受容野・色・光順応 —

視覚環境に応じた網膜神経系の調節メカニズム

1998 年

古川 徹生

論文要旨

生物の視覚系の役割は網膜に投影された視覚画像を通じて外界の情報を得て、自己の周囲の状況を知ることにある。しかし網膜に映る視覚映像は視覚環境によって左右され、たとえ同じ状況で同じ対象物を見る場合においても照明などの条件によって異なった映像として目に映る。このように視覚画像を変える環境要因として、光源の光強度やスペクトル、媒質のゆらぎや散乱によるノイズなどが考えられる。網膜神経系を始めとする視覚初期過程の役割の一つは、視覚信号の中からこれら視覚環境に依存する要素をなるべく取り除き、外界の認知に必要な情報のみを抽出する働きがあると考えられる。環境要因を取り除く視覚神経系の機能の代表例として光順応現象が挙げられる。光順応は網膜神経系の特性を大きく変化させ、たとえば光応答感度、空間特性（受容野）、時間特性、波長（色）特性などがダイナミックに変化する。

コイ網膜のH1水平細胞の光応答感度および受容野は光刺激の波長に依存した変化を示す。これらH1水平細胞の波長依存特性は明順応時にのみ存在し、暗順応時には消失する。H1水平細胞は赤錐体からの入力を主入力とするが、赤錐体以外の短波長感受性細胞からの副次的な入力が存在してH1水平細胞の光応答特性を波長依存的に修飾するものと考えられる。本研究では次の3点を指標にH1水平細胞の波長依存特性を電気生理的に調べた。1) 波長感度特性の赤錐体からの変移。2) 受容野の波長依存性。3) シナプス入力の波長依存性。その結果、短波長感受性細胞からH1水平細胞への入力は符号反転型（抑制性）であること、そして暗順応時にはこの入力が不活性化することが示された。さらにこの波長依存的な修飾メカニズムを調べるため、さまざまな薬物を与え、波長依存性に及ぼす効果を調べた。その結果一酸化窒素(NO)のドナーは明順応と同じ効果を持ち、NO除去剤やNO合成酵素のプロックカーは暗順応と同じ効果を示した。このことは網膜内でNOが明順応信号として働くことを示しており、これは今まで知られていなかった新たな知見である。また代謝型グルタミン酸受容体のアゴニストであるAPBは暗順応と同じ効果を示し、一方網膜内明順応信号としての知られるドーパミンも明順応と同じ効果を示した。これらの薬物の働きは一貫しており、波長感度特性、受容野、シナプス入力のすべてについて同じ効果を示した。これらの結果からH1水平細胞の光応答特性は細胞内cGMP濃度によって修飾され、cGMP濃度はNOや代謝型グルタミン酸受容体によって調節されるものと考えられる。以上のような刺激光の波長と光順応の双方に依存したH1水平細胞の特性変化は、短波長光が強く散乱する水中の視覚環境に適したものと思われる。

視覚刺激に依存した視覚特性の変化は理論モデルでも示すことができる。誤差逆伝播型ニューラルネットワークに一定のノイズを加えた視覚画像を与えたところ、ネットワークに発現する受容野の形状はS/N比に依存して変化した。まったく同じ現象は網膜の双極細胞や昆虫複眼でも見られる。したがってS/N比に依存した受容野変化は視覚系の進化やアーキテクチャに依存しない共通の計算原理と考えられる。また本研究では動きを伴った視覚刺激をニューラルネットワークに与えることで、大脳視覚野の単純型細胞と類似する時空間受容野が発現することも示した。

目次

1 生物と視覚環境 —本論文の目的と概要—	1
1.1 はじめに	1
1.2 本論文の意義と目的	2
1.3 本論文の構成と概要	3
第 I 部 生理実験によるアプローチ	
2 網膜神経回路網の概要	6
2.1 網膜神経系の機能と構造	6
2.1.1 網膜の基本構造	6
2.1.2 視細胞	9
2.1.3 水平細胞	13
2.1.4 双極細胞	23
2.1.5 アマクリン細胞	26
2.1.6 Interplexiform 細胞	28
2.1.7 神経節細胞	28
2.2 光順応現象	30
2.2.1 光順応現象とメカニズム	30
2.2.2 順応情報メッセンジャー	33
2.3 代謝型グルタミン酸受容体と一酸化窒素	33
2.3.1 網膜における代謝型グルタミン酸受容体	33
2.3.2 網膜における一酸化窒素の効果	34
2.4 第 I 部の目的と概要	39
3 H1 水平細胞における波長依存現象と短波長性入力存在	40
3.1 はじめに	40
3.2 実験方法	41
3.3 実験結果	42
3.3.1 赤色背景光による短波長成分の分離	42

3.3.2	光誘起性入力抵抗変化の波長依存性	42
3.3.3	受容野の波長依存性	44
3.3.4	ドーパミンおよび APB の効果	45
3.4	討論	47
3.4.1	赤色背景光による短波長成分の分離	47
3.4.2	光誘起性入力抵抗変化の波長依存性	48
3.4.3	受容野の波長依存性	50
3.4.4	ドーパミンおよび APB の効果	50
3.5	まとめ	51
4	水平細胞の波長特性に及ぼす順応と NO の効果	52
4.1	はじめに	52
4.2	実験方法	54
4.3	実験結果	57
4.3.1	光順応に伴う H1 感度曲線の変化	57
4.3.2	NO donor の H1 波長特性に対する効果	57
4.3.3	NO scavenger の H1 波長特性に対する効果	58
4.3.4	DA, APB の H1 波長特性に対する効果	61
4.3.5	H2 波長特性に対する NO の効果	61
4.4	討論	66
4.4.1	順応の H1 波長特性に対する効果	66
4.4.2	NO の H1 波長特性に対する効果	66
4.4.3	DA, APB の H1 波長特性に対する効果	68
4.4.4	NO の H2 波長特性に対する効果	68
4.4.5	NO, DA, APB の相互関係	69
4.5	まとめ	69
5	H1 水平細胞の短波長性シナプス入力に対する順応と NO の効果	70
5.1	はじめに	70
5.2	実験方法	71
5.3	実験結果	72
5.3.1	順応の効果	72
5.3.2	NO donor の効果	74
5.3.3	NOS ブロッカーの効果	76
5.3.4	APB の効果	79
5.4	討論	79
5.4.1	順応の効果	79
5.4.2	NO の効果	81
5.4.3	APB, DA の効果	82

5.4.4	入力抵抗測定について	82
5.5	まとめ	84
6	H1 水平細胞受容野の波長依存性に対する順応と NO の効果	85
6.1	はじめに	85
6.2	実験方法	86
6.3	実験結果	88
6.3.1	受容野の波長依存性と順応の効果	88
6.3.2	H1 受容野に対する NO の効果	88
6.3.3	H1 受容野に対する DA および APB の効果	90
6.3.4	H1 受容野に対する細胞内 cGMP の効果	94
6.4	討論	94
6.4.1	H1 受容野の波長依存性と順応の効果	94
6.4.2	NO の効果	97
6.4.3	DA, APB の効果	97
6.4.4	cGMP の効果	99
6.5	まとめ	100
7	短波長性入力と順応による H1 水平細胞の特性修飾機構 — 第 I 部の討論—	101
7.1	はじめに	101
7.2	短波長性入力経路のモデル	103
7.2.1	青錐体 — APB 受容体モデル	103
7.2.2	H2 — フィードバックモデル	106
7.2.3	APB 受容体モデルとフィードバックモデルの比較	109
7.2.4	他の伝達経路の可能性	110
7.3	順応・薬物の効果と信号伝達経路	110
7.3.1	NO の効果	110
7.3.2	DA の効果	112
7.3.3	APB の効果	112
7.3.4	光順応について	113
7.4	機能的意義	114
7.5	第 I 部の結論	117

第 II 部 理論モデルによるアプローチ

8	中心—周辺拮抗型受容野にみられる視覚系共通の可塑的变化	120
8.1	はじめに	120
8.2	BP 型ニューラルネットワークにおける受容野発現	121
8.2.1	ニューラルネットにおける受容野形成	121

8.2.2	ノイズが受容野形状に与える影響	122
8.3	BP型ニューラルネットにおける微分型時間特性の発現	125
8.4	網膜双極細胞の時空間特性	125
8.4.1	実験方法	125
8.4.2	実験結果	127
8.5	討論	127
9	視覚画像中の運動検出を行う線形時空間フィルタの機能と構造	132
9.1	はじめに	132
9.2	ネットワークモデルと学習パラダイム	135
9.2.1	ネットワーク構成	135
9.2.2	学習パラダイム	136
9.3	学習結果と内部構造解析	138
9.3.1	中間層ユニットの個数と出力ユニットの入出力特性	138
9.3.2	線形時空間フィルタ (STLF) の発現構造	139
9.3.3	中間層, 出力ユニットでの処理	141
9.4	速さ情報の検出	143
9.5	討論	144
9.5.1	形成されたネットワーク構造の検討	144
9.5.2	本ネットワークの入力非依存性	147
9.5.3	出力ユニットの非線形特性の意味	149
9.5.4	生体との比較	150
9.6	まとめ	153
	参考文献	155
	業績リスト	169
	謝辞	171

本論文で用いる主な略語

第 I 部

- APB:** 2-amino-4-phosphonobutyric acid. 網膜神経系に存在する代謝型グルタミン酸受容体のアゴニスト.
- A/S 比:** スポット光応答に対する円環光応答の振幅比 (annulus/spot).
- DA:** ドーパミン (dopamine).
- GABA:** γ -アミノ酪酸 (gamma aminobutyric acid).
- GC, sGC:** グアニル酸シクラーゼ (guanylate cyclase) および可溶性グアニル酸シクラーゼ (soluble guanylate cyclase).
- Glu:** グルタミン酸 (glutamate).
- H1, H2, H3:** 錐体型水平細胞のサブタイプ. H1 型水平細胞 (L 型, 1 相性水平細胞), H2 型水平細胞 (C 型, R/G 型, 2 相性水平細胞), H3 型水平細胞 (C 型, Y/RB 型, 3 相性水平細胞).
- NO:** 一酸化窒素 (nitric oxide).
- NOS:** NO 合成酵素 (NO synthase).
- PDE:** ホスホジエステラーゼ (phosphodiesterase).
- RHC:** 桿体型水平細胞 (rod driven horizontal cell).
- V-log I 曲線:** 光強度 ($\log I$) の対数と細胞の応答振幅 (V) をプロットした曲線. 光強度-応答振幅曲線.

第 II 部

- BP:** 誤差逆伝播 (backpropagation) 型学習法.
- BPDF:** ON-OFF 2 相性微分型フィルタ (biphasic differential-like filter).
- LMC:** ハエ複眼の神経細胞. large monopolar cell.
- NL:** ノイズレベル (noise level). ノイズ振幅の最大値を意味し, S/N 比の代わりに導入した.
- NN:** ニューラルネットワーク (neural network).
- CSRF:** 中心-周辺拮抗型受容野 (center-surround opponent receptive field).
- STLF:** 線形時空間フィルタ (spatio-temporal linear filter).

第 1 章

生物と視覚環境

—本論文の目的と概要—

1.1 はじめに

人間は五官の中でとりわけ視覚が発達した生物である。そのため周囲に見えるものがすなわち自分をとりまく世界そのものであるように感じ、その差異について考えることはまずない。そして雑誌の口絵でハエやサカナの目を見た世界を見る機会があると「ああ、ありのままに世界を写す目を持って生まれて良かった」と感じる。日常の感覚としてはそれが正常なものであり、世界をありのままに写すと感じられることこそ目が正しく機能している証拠にほかならない。しかしわれわれ人間も含めて生物が持つ視覚系の機能や役割を考えるときは、このような日常の感覚から一步踏み出して考える必要がある。なぜならわれわれの視覚系は決して「世界をありのままに写した網膜イメージを電気信号に変換し、ありのままに脳に送って」いるわけではないからだ。視覚系の意義を正しく理解するためには、「生物にとってものを見るとはどういうことか」についてもっと考える必要がある。

樹枝から枯葉が一葉落ちてカサリと音をたてる。その音を耳にすることで、そこになにかが存在し、なにかが起きたことを知る。聴覚とは空気の疎密波を頼りに自分の体から離れた地点に存在するもの、離れた地点で起きたできごとを知るためのセンサである。視覚も聴覚と同じである。物体が反射する可視光線を受容することで離れた地点にあるものの存在を知り、そこで起きていることを知る。生物にとってなによりも重要なのは、そこにあるのが何なのか、そして何が起きているかを正確に知り、自分の行動決定に役立つ情報を得ることである。たとえばそれが餌なのか天敵なのか、あるいは進路を阻む障害物なのか、こちらに向かっているのか離れつつあるのか。視覚の第一の意義はここにある。鮮明な映像を知覚することは正しく外界の状況を知る助けになるかもしれないが、それ自体が視覚の目的なのではない。

生物にとって視覚が持つ意味を「色」を例にして考えてみよう。「色が見える」ということはけっして単純に理解できる現象ではない。ものの「かたち」は見たときも触ったときも変わらないが（これとても本来は難しい問題をはらんでいる）、色を他の感覚器で確かめることはできない。直接的には、色は光のスペクトル分布についての情報を生物にもたらしめるものである。ただしスペクトル分布の持つ情報すべてではない。スペクトル分布自体は無次元次元を持つが、

人間の視覚系はそれを赤・緑・青という3次元空間に縮退して受け取るからである。それでもなお、色は生物にとって有用な情報をもたらす。照明光のスペクトルが一定の条件下において、物体からの反射光のスペクトル分布はその物体の材質が持つ吸収スペクトルを反映する。同一の材質は固有の反射光スペクトルを持ち、色は不完全ながらもその情報をもたらす。網膜に映った2次元のイメージから3次元空間で起きた外界の状況を再現するとき、色の情報は大きな手がかりになるだろう。なぜならば同一の色を持つものは同一の材質でできたひとかたまりのものと考えられるからである。視覚情報は色のほかにも形や動きなどさまざまな要素がある。生物の視覚神経系が形や色や動きといったそれぞれの視覚要素について情報処理を行うとき、その要素が生物の必要とするどんな情報をもたらすかを考えることが視覚の問題を考える際に重要なことである。

しかし網膜に映った像を頼りに外界の情報を得るということは容易な問題ではない。同じ対象物を見る場合においても、網膜に映る映像は照明の状態などの視覚環境によって左右される。たとえば光源の光強度やスペクトルの変化、媒質のゆらぎや散乱によるノイズなどが網膜像を変える環境要因として存在する。したがってもし生物が対象物についての正しい情報を得たいのであれば、視覚環境に依存する要素をできる限り取り除き、必要な情報のみを抽出する必要がある。生物の視覚初期過程の役割の一つはこのような環境要因の低減であると考えられる。

網膜神経細胞を調べると、その特性はけっして一定のものではなく、絶えず調節され、変化することがわかる。そのもっとも身近な例が明/暗の光順応現象である。光順応とは、照明光の強度変化によって視細胞の応答感度が変化する現象である。すなわち光順応は視細胞の応答感度を変えることで「照明光の強度変化」という視覚環境要因を取り除く働きがある。光順応は光応答感度のみならず、時間特性、空間特性、波長特性などさまざまな変化を同時に生じる。これらの特性変化もまた視覚環境変化に応じて環境要因を取り除く働きがあると考えられる。網膜神経系の特性は明/暗順応の他にも、視野全体にわたる光刺激の時間変化パターンやスペクトル分布パターンによっても生じる。したがって網膜にはさまざまな視覚環境変化に対する緻密な特性調節機構が存在すると考えられる。

では視覚環境に応じた網膜神経系の特性変化はいったいどのようなメカニズムによって生じるのだろうか。どのような細胞間・細胞内の信号伝達経路が存在するのだろうか。またそれはその生物が実際に生きる棲息環境の中でどのような意味を持つのだろうか。本論文はさまざまに変化する視覚環境の中で、生物が自らの視覚神経系の特性をどのように変えて対応させているのか、そのメカニズムや情報の伝達経路はどのようなものなのか、そしてそれが生物にとってどのような意義があるのかについて考えるものである。

1.2 本論文の意義と目的

無数の神経細胞がある空間を充填して存在し、それらが互いに結合してネットワークを作るとき、その空間全体を神経の活動が作る場、すなわち神経場として捉えることができる。網膜もまた神経場であり、ネットワークの活動は光刺激のパターンに対応する。神経場が持つダイナミクスは個々の細胞の入出力特性と相互結合関係によって決まる。このとき、細胞の出入

力特性が変化することで神経場全体のダイナミクスがどのように変化するかは興味深い問題である。実際の神経系にも細胞の入出力特性を変えるモジュレータが存在する。すなわち神経細胞には個々の細胞間の信号伝達経路の他にモジュレーション信号の伝達経路が存在する。このような信号伝達を担う物質をニューロモジュレータという。光順応信号の伝達物質は網膜におけるニューロモジュレータということができるだろう。

網膜神経細胞の特性は光順応によってさまざまな特性変化を示す。しかも個々の特性変化はけっして独立したものではなく互いに密接な関係がある。このことは細胞の応答特性を調節する緻密なメカニズムが存在することをうかがわせる。本論文の目的はこのような細胞の応答特性変化に関わるニューロモジュレータを同定し、そのメカニズムを明らかにすることである。さらにそのメカニズムが生物の視覚情報処理で果たす役割を考えることで、視覚環境と視覚神経特性の間に普遍的な関係を見出すことを試みる。

本論文は電気生理実験によるアプローチと人工ニューラルネットワークを用いた理論面からのアプローチの両方からこの問題に取り組んだ。電気生理実験の対象にしたのは網膜水平細胞である。水平細胞に対してはすでにドーパミンがニューロモジュレータとして働くことがわかっているが、今回はそれに加えて一酸化窒素 (NO) も網膜におけるニューロモジュレータであることを見出した。NO は海馬や大脳、小脳における神経可塑性に関わる重要な物質であるが、網膜においても重要な役割を果たすことが本論文で明らかになった。人工ニューラルネットワークを用いたアプローチでは視覚環境の変化によって視覚神経細胞の最適な時空間特性がどのように変化するかを調べ、視覚環境と細胞の特性の間に普遍的な関係を見出すことを試みた。

1.3 本論文の構成と概要

本論文は第 I 部と第 II 部の二部構成になっている。第 I 部は網膜神経細胞を用いた電気生理実験によるアプローチについて述べ、第 II 部ではニューラルネットワークを用いた理論面からのアプローチについて述べる。

水平細胞の応答特性は刺激光の波長に依存して変化し、その波長依存性はさらに光順応によって変化する。このメカニズムを明らかにするのが第 I 部の目的である。2 章ではまず網膜神経系の構成と各細胞の特性とサブタイプについて概説する。また順応現象や網膜における代謝型グルタミン酸受容体、NO についての過去の研究についてまとめる。3 章は本研究の出発点となったいくつかの過去の研究成果の要約である。コイ網膜の H1 水平細胞 (以下単に H1 と書く) の特性はいくつかの波長に依存した特性を示す。本研究で特に関係する波長依存特性は次の 3 点である。1) 光応答感度の波長依存性。H1 は赤錐体から入力を受けるため、その波長特性は赤錐体のものと類似するが、しかし短波長 (青) 光に対する感度は赤錐体と比べて相対的に低くなり、中～長波長領域にピークを持つ尖った波長特性を持つ。2) 受容野の波長依存性。H1 の受容野サイズは刺激光の波長に依存し、短波長光に対しては狭く、長波長光に対しては広がる。3) シナプス入力の波長依存性。シナプス入力に伴う H1 の膜抵抗変化を調べるため、光刺激によって生じる入力抵抗の変化量を測定した。この“光誘起性入力抵抗変化”の大きさは刺激光の波長に依存することから、反転電位の異なる少なくとも 2 種以上のシナプスが存在することが示唆される。3 章ではさらにこれらのメカニズムに関わるものとして、短波

長感受性細胞からの符号反転性入力存在や代謝型アミノ酸受容体の関与を示唆するデータについても示す。4～6章は本研究の本題であり、上記(1)～(3)の波長依存性について順応および各種薬物の効果を報告する。4章ではH1の波長感度特性について述べる。暗順応時にはH1と赤錐体の波長感度特性が一致したが、明順応時にはH1の短波長光への感度が低下した。したがって短波長感受性細胞からの符号反転性入力は明順応時に活性状態にあり、暗順応時に不活性状態になる。NOドナーはH1の波長感度特性に対して明順応と同じ効果を持ち、一方NO除去剤は暗順応と同じ効果を示した。またDAは明順応と、APBは暗順応と同じ効果を示した。5章は光誘起性入力抵抗変化の波長依存性について調べたものである。光誘起性入力抵抗変化の波長依存性は異なる複数のシナプス入力の存在を示唆するが、この波長依存性は明順応時にのみ存在し、暗順応時には存在しないことが示された。さらにNOドナーは明順応と同じ効果を持ち、NO合成酵素のプロッカーは暗順応と同じ効果を示した。またAPBは暗順応と同じ効果を示した。6章ではH1の受容野の波長依存性について述べる。H1の受容野サイズの波長依存性は明順応時にのみ存在し、暗順応時には刺激光の波長に依存せず常に同じ受容野を持つことが示された。受容野の波長依存性に対してもNO、ドーパミンは明順応と同じ効果を持ち、一方APBは暗順応と同じ効果を示した。7章は第I部の討論である。4～6章で示した実験結果はすべて一貫しており、明順応時に存在するH1の波長依存特性は暗順応によって消失し、また薬物の効果も一貫性があった。これらの結果を元に、H1に存在する刺激光の波長と順応に依存した特性調節のメカニズムと信号伝達経路について検討する。特に新たな網膜内明順応信号としてのNOの役割は重要な知見である。さらにこの特性調節機構がコイという生物にとってどのような意義があるのかを水中の視覚環境を考えながら討論する。

第II部では誤差逆伝播型ニューラルネットを用いて、光刺激に適した形で発現する視覚特性をネットワーク内部に発現させることを試みた。8章では視覚入力のS/N比が変化したときにネットワーク内部に発現する時空間受容野にどのような変化が生じるのかを調べた。その結果得られた受容野の特性変化は、脊椎動物網膜や昆虫複眼というまったく異なるアーキテクチャにも共通して見られるもので、これらの間には共通した視覚情報処理上の原理が存在することを示すものであった。9章は8章の応用課題である。動きのある視覚入力をニューラルネットに与えたところ、大脳視覚野の単純型細胞と類似した時空間受容野がネットワーク内部に発現した。そして視覚初期過程に見られる方向選択性ニューロンの持つべき特性とその計算可能性について検討する。

第 I 部

生理実験によるアプローチ

第2章

網膜神経回路網の概要

2.1 網膜神経系の機能と構造

2.1.1 網膜の基本構造

図 2.1はヒト網膜の断面写真である⁴⁴⁾。写真から見て取れる層状の構造は網膜神経系の持つ明快な階層構造を反映しており、その構造は基本的に脊椎動物すべてに共通である。網膜の第一の機能はレンズによって投影された視覚画像を電気信号に変換し、その情報を中枢へ伝えることにある。しかし光-電気信号変換は網膜神経系の第一層で行われる、ごく初期段階の機能にすぎない。網膜神経系はむしろ視覚信号を実時間で並列的に処理する時空間フィルタと捉えた方が正確だろう。しかもそのフィルタ特性は固定されたものでなく、外界の視覚環境に応じてダイナミックに変化する適応型のフィルタである。発生学的にみれば網膜は脳の一部が分化したものであり、網膜の階層的な情報処理機構や適応的なフィルタリングメカニズムを解明することは、単に一感覚神経系の解明にとどまらず中枢神経系の解明の観点からも重要である⁴⁴⁾。

網膜の層構造は、神経細胞の細胞体が並ぶ顆粒層と樹状突起が伸びて交錯する網状層とが交互に並んでできている(図 2.1)。これら網膜神経細胞の結合関係を模式的に描くと図 2.2のようになる⁴⁴⁾。網膜の外側を上にして(すなわち眼球の中心側を下にして)顕微鏡で見ると、最上部には視細胞の外節部(outer segment)が林立して見える。外節部には視物質があり、ここで光を吸収して電気信号に変換する。外節部の下は外顆粒層(outer nuclear layer: ONL)と呼ばれ、視細胞の細胞体で構成される。その次の外網状層(outer plexiform layer: OPL)では2次ニューロンである水平細胞と双極細胞の樹状突起が視細胞のシナプス終末へと枝を伸ばしている。内顆粒層(inner nuclear layer: INL)は水平細胞と双極細胞、および3次ニューロンであるアマクリン細胞の細胞体から構成されている。内網状層(inner plexiform layer: IPL)では双極細胞の軸索、アマクリン細胞と神経節細胞の樹状突起が交錯し、互いにシナプスを形成している。内網状層の下は神経節細胞層(ganglion cell layer)で、網膜の最終的な出力を担う神経節細胞の細胞体が並んでいる。神経節細胞の軸索は視神経と呼ばれ、網膜の一番内側、視神経層(optic nerve fiber layer: ONFL)を走っている。

光は神経節細胞側から入射し、網膜を通過してから視細胞の外節部で吸収される。視細胞は光刺激によって過分極性のアナログ的な膜電位変化、すなわち graded potential を示し、活

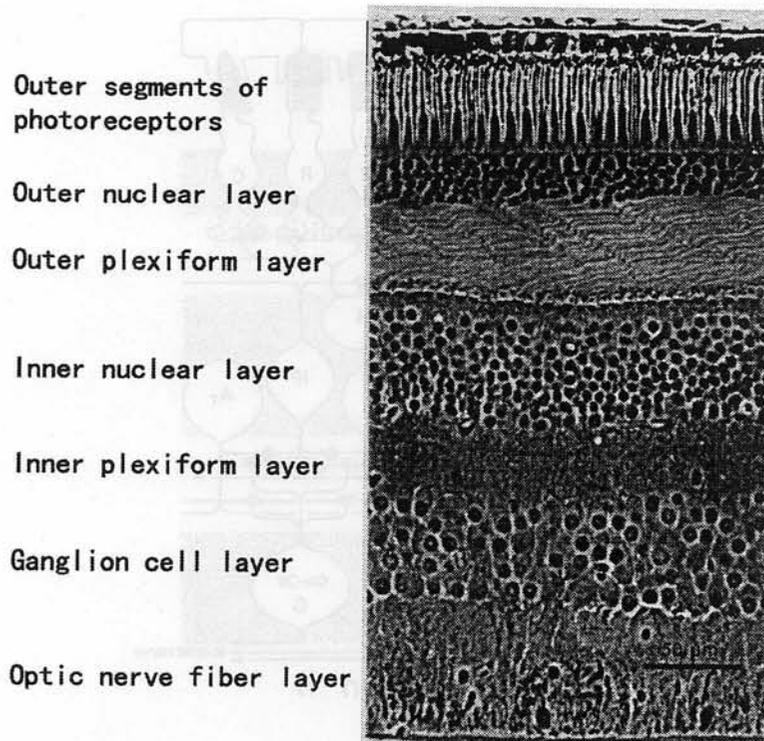


図 2.1: ヒト網膜の断面写真⁴⁴⁾

動電位は発生しない。視細胞の膜電位変化は双極細胞を経て神経節細胞へと伝えられる。双極細胞も視細胞同様に光刺激に対して *graded potential* を示す。網膜の中では神経節細胞のみが活動電位によるパルス密度コーディングを用いている。神経節細胞によって視覚情報は活動電位の発火頻度に置き換えられ、視神経を通過して中枢へと伝えられる。

視細胞—双極細胞—神経節細胞という垂直方向の信号伝達経路のほかに、水平方向およびフィードバックの信号伝達経路が存在する。水平方向の信号伝達は、外網状層では水平細胞が、内網状層ではアマクリン細胞がそれぞれ受け持っている。水平細胞とアマクリン細胞の特徴の一つはギャップ結合と呼ばれる電気シナプスで同種の細胞同士が互いに結合していることである^{18,85,169,183}。この2種の細胞に限らず網膜神経細胞ではギャップ結合による細胞間の結合が広く見られるが^{18,220}、水平細胞とアマクリン細胞の場合はそれが特に顕著で、あたかも網膜全体を覆う巨大な多核細胞（シンシチウム）としてふるまう。そのため樹状突起を越えた広い範囲にわたって信号を伝えることができる。一方、フィードバックの信号伝達を担う細胞は *interplexiform* 細胞 (IP 細胞) である。IP 細胞は内網状層から外網状層へと信号を伝える。IP 細胞は明順応時にドーパミンを放出し、視細胞や水平細胞の特性を調節する^{38,130,214}。また動物の種によっては中枢神経からの遠心性ニューロンの軸索が網膜に伸びていることもある^{193,194}。

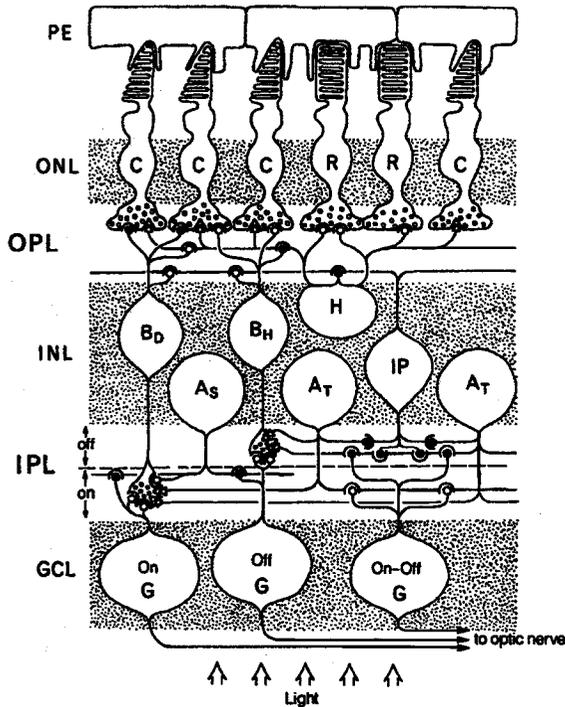


図 2.2: 網膜神経回路の模式図⁴⁴⁾

以上は脊椎動物の網膜神経系が持つ基本的な構造である。この基本構造はすべての脊椎動物で共通だが、実際にはさらに細かい下位構造が存在する。また細胞の種類も細かくサブタイプに分類される。動物種ごとの網膜の違いは分類学上の種の近縁さよりもむしろ生息環境や行動学的な要因に強く影響を受ける。たとえば深海魚や濁水中に生息する魚の網膜には、分類学的な種の違いを越えて多くの共通点が見出される²⁰³⁾。このことは網膜神経系の特性がその生物の生息する視覚環境に対して適応的に形成されていることを示している。

本論文では実験動物としてコイを用いた。コイの網膜は厚さ約 $200\mu\text{m}$ で、その基本的な構造は他の脊椎動物と変わらない。網膜の実験材料としてコイやその近縁のキンギョが古くからよく使われるが、コイ・キンギョを用いる利点として以下の点が挙げられる。

- i) 典型的な脊椎動物網膜の構造を持つ。
- ii) 色覚が発達しており、ヒトと同じく3原色に対応した視細胞や反対色特性を持つ神経細胞が存在する。
- iii) 入手および飼育が容易であり、また変温動物なので実験も容易である。
- iv) 行動実験を行うことも可能である。

- v) 古くからのデータの積み重ねがあり、特に細胞の形態と光応答特性との対応、細胞同士
の結合関係、細胞膜のイオンチャネルなど細かく調べられている。

ヒトの網膜は視野の中央と周辺で細胞の構成や解像度が異なり、視野の中央に中心窩と呼ばれる解像度の高い部位が存在する。一方コイの網膜には中心窩のような明確な構造はしない。コイ網膜にも位置に応じた細胞分布の違いはあるものの、どちらかと言えば均一な構造をしている。

2.1.2 視細胞

光応答特性

視細胞は大別して桿体 (rod) と錐体 (cone) に分けられ、それぞれ暗所視、明所視に関与する。rod, cone のどちらも光刺激に対して過分極応答し、光強度が増すにつれて応答振幅が増大する。すなわち視細胞は graded potential を示す¹⁸⁹⁾。錐体はさらに視物質の吸収スペクトルの違いで分類され、ヒトの場合は3種類に分けられる。コイやキンギョの場合は可視光領域に
応答する3種の錐体のほかに紫外線感受性の錐体 (UV 錐体) があり、計4種類の錐体を持つ^{13,73)}。図 2.3はコイの3種の錐体 (UV 錐体を除く) の光応答と分光応答曲線である。

視細胞の応答振幅は視物質に吸収された光子の数で決まる。すなわち同じ光子数が吸収された時の視細胞の応答は光刺激の波長によらず一定であり、視細胞の波長感度特性は視物質がそれぞれの波長の光子をどれだけ吸収するかで決まる。したがって一つの視細胞の応答を見ただけでは刺激光の色を知ることはできない。また錐体の波長感度曲線とそれぞれの錐体を持つ視物質の吸光度曲線をプロットすると、両者の曲線はよく一致する⁹¹⁾。

もし視細胞の応答振幅が吸収した光子数のみで決まるのであれば、吸収光子数と応答振幅の関係は波長によらず一定になる。このことを univariance であるという。図 2.4は刺激光の波長を一定にして光強度を変えたときの赤錐体の応答振幅をプロットしたものである (この光強度 vs. 応答振幅の曲線を $V\text{-log } I$ 曲線という)。錐体の $V\text{-log } I$ 曲線は刺激光の波長が異なっても曲線が平行移動するだけである。この平行移動の大きさは視物質の吸光度の差に等しい。すなわち錐体の光強度-応答振幅曲線は univariance であると言える¹²⁴⁾。2次ニューロン以降でも事情は同じで、もしあるニューロンが同一種の視細胞のみから入力を受けていれば、その $V\text{-log } I$ 曲線は univariance になる。逆にあるニューロンが univariance に従わなければ、その細胞は波長特性の異なる複数種の視細胞から (直接もしくは間接的に) 入力を受けると考えられる。厳密に言えば視細胞の場合でも univariance に従うのは外節部でのことであり、2次ニューロンからのフィードバックを受けるシナプス終末部では必ずしも univariance であるとは限らない。

視細胞の光応答感度は光順応によって変化する。光順応は視細胞の特性を考える上で重要な要素であるが、他の細胞における順応現象と共に後でまとめて述べる。

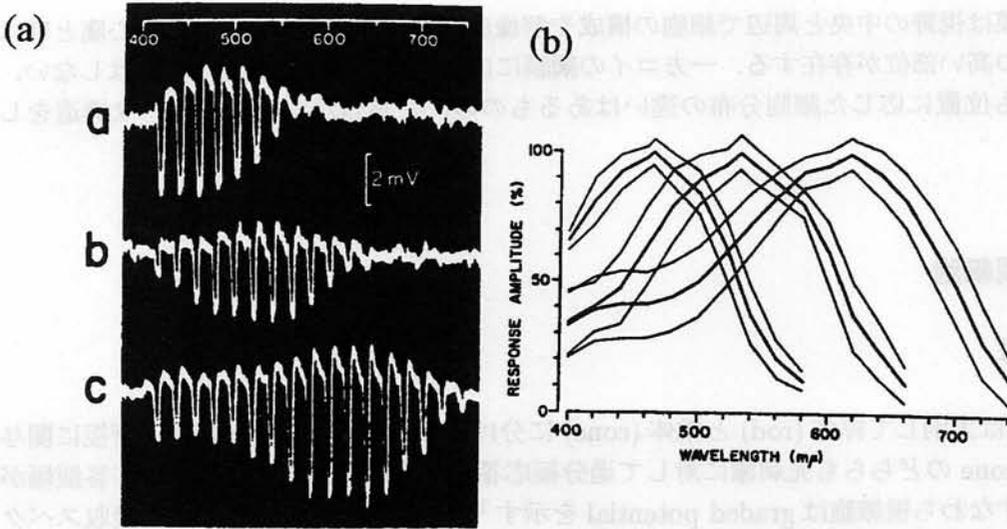


図 2.3: 3 種の錐体視細胞の光応答 (a) と分光応答曲線 (b). a: 青錐体, b: 緑錐体 c: 赤錐体. 189)

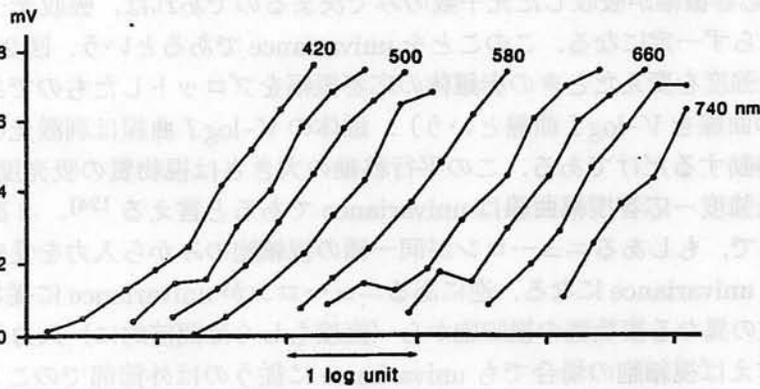


図 2.4: 赤錐体の V-log I 曲線. 刺激光の波長が変わっても曲線が平行移動するだけである⁹¹⁾.

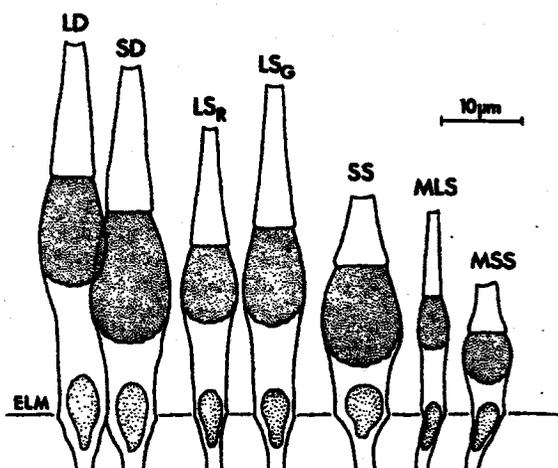


図 2.5: キンギョ網膜の錐体の形態による分類¹⁷³⁾. LD: long member of double cone (red sensitive), SD: short member of double cone (green sensitive), LS: long single cone (LS_R: red sensitive, LS_G: green sensitive), SS: short single cone (blue sensitive), MSL: miniature long single (red sensitive?), MSS: miniature short single (UV sensitive).

光応答と形態による分類

図 2.5はさまざまなキンギョの視細胞の種類を描いたものである¹⁷³⁾. キンギョの視細胞を形態で分類すると1種の桿体と7種の錐体に分けられる^{110,111,173)}.

一方光応答で分類すると、キンギョおよびコイの視細胞は1種の桿体と4種の錐体に分けられる。4種の錐体は620, 530, 450, 360nmの波長に対して最大感度を持ち、それぞれ赤・緑・青・UV錐体と呼ぶ。図 2.3(b)はUV錐体を除く3種の錐体の分光応答曲線である。なお、細胞の波長応答特性を表す方法として分光応答曲線の他に波長感度曲線を用いることも多い。分光応答は一定の光子数を与えたときの細胞の光応答振幅を波長に対してプロットしたものであり、一方波長感度曲線は細胞に一定量の電位変化を生じるのに必要な光子数を波長に対してプロットしたものである。分光応答に比べて波長感度曲線の方が実験上やや手間がかかるが細胞の波長特性をより正確に表現する。

4種の錐体はそれぞれ最大感度波長の色の名前を冠して呼ばれるが、けっしてその色に対してのみ応答するわけではないので注意が必要だ。どの錐体も最大感度波長より短い波長の光に対してはいくらかの応答を示す。たとえば赤錐体は620nmの波長に対して最大感度を持つが、感受性のある波長は可視光領域すべてにわたる。したがって青錐体を刺激するつもりで450nmの短波長光を用いても、実際には赤・緑錐体も同時に刺激することになる。一方で700nmの長波長光に対しては赤錐体のみが刺激される。

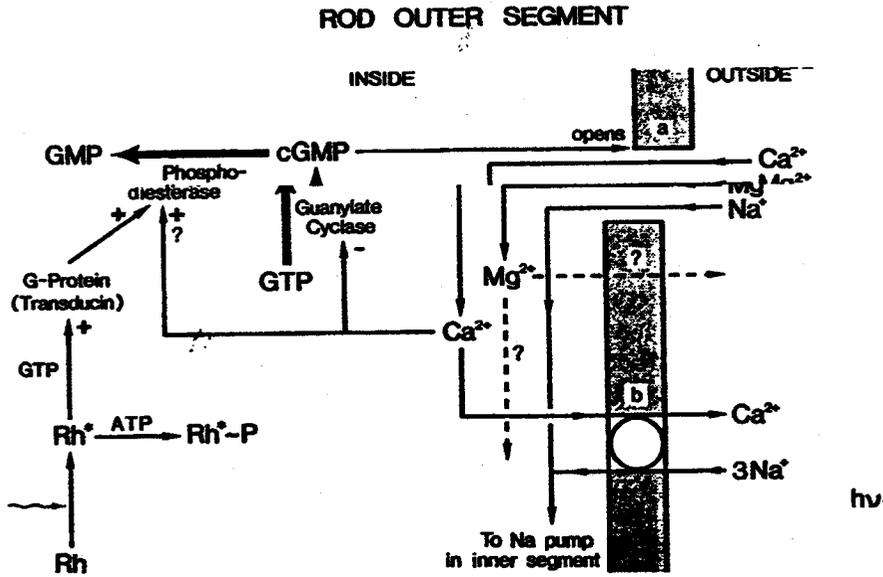


図 2.6: Phototransduction のメカニズム 233)

Phototransduction

視細胞の細胞膜には細胞内の環状 GMP (cGMP) に感受性のある陽イオンチャネル (cGMP-gated チャネル) があり、このチャネルによって膜電位が調節される。暗時には細胞内 cGMP 濃度が高く、cGMP-gated チャネルはオープンして持続的に陽イオン (おもに Na⁺) が流入している。光刺激によって cGMP 濃度を減少すると cGMP-gated チャネルはクローズして陽イオンの流入が止まり、視細胞は過分極する (図 2.6)^{50,233}。

光刺激による細胞内 cGMP 濃度の減少は G タンパクを介したカスケードによって生じる。桿体の視物質はロドプシンと呼ばれ、ビタミン A の誘導体であるレチナールとオプシンからできている。錐体の視物質も類似の物質である。ロドプシン (Rh) が光子を吸収すると 11-cis-レチナールは all-trans-レチナールに変わり、これがロドプシンの構造を変化を引き起こす。その構造変化の過程でメタロドプシン II (Rh*) という中間体が生じ、トランスデュシン (transducin) と呼ばれる G タンパクを活性化する。トランスデュシンはさらにホスホジエステラーゼ (phosphodiesterase: PDE) を活性化する。PDE は cGMP を GMP に分解する酵素で、PDE が活性化することで細胞内の cGMP 濃度が減少し、視細胞が過分極する。一個のロドプシンの活性化は数百の G タンパクを活性化すると言われており、また一個のトランスデュシンの活性化はさらに数百の PDE の活性化を引き起こす。このカスケードによりわずかな光子の吸収が大きな細胞の電気応答を引き起こすことができる^{135,233}。

G タンパク → PDE → cGMP → cGMP-gated チャネルという情報伝達のカスケードは視細胞のみならず広く網膜神経細胞で見られる情報伝達様式である。その代表格は ON 型双極細胞

胞である^{128,161,162,163}). また同様のカスケードは神経節細胞でも見いだされている²). 水平細胞におけるこのカスケードの存在は本論文の主題の一つでもある。

伝達物質とシナプス受容体

視細胞は光刺激のない暗時に伝達物質を持続的に放出する。そして光刺激が視細胞を過分極すると伝達物質の放出が止まる¹⁹). 視細胞が放出する伝達物質はL-グルタミン酸 (Glu) であり、それを受けるのは水平細胞と双極細胞である^{19,77,106,109,145,175,220}). ただしすべての種・細胞で等しく Glu を伝達物質としているかはわからない。たとえばキンギョやコイの錐体は異なる伝達物質を用いている可能性が示唆されている^{107,109}).

錐体のシナプス終末は伝達物質として Glu を放出する一方で、抑制性の伝達物質である γ -アミノ酪酸 (GABA) に対して感受性がある。コイおよびキンギョの錐体が持つ GABA 受容体 GABA_A と同定されている^{31,92,145,218}). 水平細胞は錐体に対してネガティブフィードバックを返しており、GABA はその伝達物質である^{122,121,219}). コイの錐体はさらに D₂ 型のドーパミン受容体を持つ。D₂ 受容体は視細胞の光順応に応じた視細胞の形態変化などに関係する^{27,38,216}).

2.1.3 水平細胞

光応答特性と網膜神経系における機能

水平細胞は第 I 部の主題となる細胞である。

水平細胞は網膜 2 次ニューロンで視細胞から入力を受ける。水平細胞も基本的には光刺激に対して過分極性の graded potential を示すが、視細胞の場合と異なり刺激光の波長に応じて脱分極応答を示すこともある。光刺激の波長に対する応答極性は水平細胞のサブタイプによって異なる。

水平細胞の光応答特性の特色はその広い受容野にある。水平細胞は互いにギャップ結合を介して電氣的に結合しており、シンシチウムを構成する⁸⁵). そのため水平細胞の受容野は樹状突起の範囲 (dendritic field) を越えて広がり、直接結合のない離れた位置の視細胞に光刺激を与えても光応答を示す。このような水平細胞シンシチウムの電氣的特性は 2 次元ケーブルモデルで近似することができ、等価回路モデルを用いた多くの研究がなされている^{97,99,125,196}).

水平細胞のもう一つの特色は反対色特性にある^{174,188}). 反対色特性を持つ水平細胞は刺激光の波長に応じて光応答の極性が反転する (図 2.7)。このような反対色特性を持つ水平細胞は魚類のみならず多くの脊椎動物の網膜で見られる。反対色特性は視細胞から水平細胞へのフィードフォワードと水平細胞から視細胞へのフィードバックの相互作用によって産み出される^{174,121,219}).

水平細胞を特徴づける受容野と反対色特性というこれら 2 つの要素はどちらも光順応によって可塑的に変化する^{34,41,95,138,204,209}). 光順応は網膜神経系の特性を感度のみならず時空間的な特性や波長感度特性などまでもダイナミックに変える。網膜を一種の視覚フィルタとみなせば、光順応現象はフィルタの特性を変化させることに相当する。順応に伴う水平細胞の可塑的な変化は視覚情報処理に果たす順応の役割を考える上で重要な存在である。

水平細胞の出力先は視細胞である。水平細胞は抑制性（すなわち符号反転性）の伝達物質を放出するため、視細胞へは負帰還がかかる^{8,122,159,219}。水平細胞の反対色特性や、後に述べる双極細胞の中心-周辺拮抗型受容野の周辺部はこのフィードバック回路によって作られる^{88,212}。なお動物種によっては水平細胞から双極細胞へのフィードフォワード結合が存在する場合もある²²⁸。

網膜における視覚情報処理の中で水平細胞の担う役割としては、以下の点が挙げられるだろう。

- 視細胞および水平細胞から情報を受ける双極細胞は、中心-周辺拮抗型の受容野を持ち、中心部の明るさと周辺部の明るさの差分を取ることでコントラスト強調などの処理を行う。水平細胞は双極細胞の受容野周辺部の形成に関与する。別の言葉で言えば、水平細胞は視覚画像の局所的な平均照度の計算を行っており、双極細胞は網膜各点の明るさから局所的な平均照度をバイアスとして取り除く働きがあると考えられる。
- 水平細胞は視細胞にフィードバックを返すことで反対色応答特性を形成する。視細胞の波長特性は視物質の光化学的な特性によって決められるが、水平細胞では複数種の視細胞からの入力を統合し、さらにフィードバックによる符号反転を組み合わせることで視覚情報処理上より適した波長特性を実現することができる。
- 光順応によって視細胞-水平細胞間のシナプス結合や水平細胞-水平細胞間のギャップ結合の特性が変わると、水平細胞の空間特性・波長特性等が大きく変化する。水平細胞の順応に伴う特性変化は、ひいては網膜全体の光応答特性を調節すると考えられる。

水平細胞自身は網膜神経系の出力に直接関わるタテ方向の情報伝達経路に属しておらず、どちらかと言えば視細胞や双極細胞の応答特性を形成/調節する立場にある。したがって視覚情報処理の流れの主流に属さないように見える。しかし一方で水平細胞はシナプスやギャップ結合の可塑性を通して応答特性を調整しやすい細胞であり、網膜神経系全体の特性を調節する上で重要な位置を占める細胞といえるだろう。

形態と光応答による分類

魚類の水平細胞は、桿体から入力を受けて暗時に働く桿体型水平細胞と、錐体から入力を受けて明時に働く錐体型水平細胞に大きく分けられる。錐体型水平細胞はどの錐体から主入力を受けるか、反対色特性を持つかどうかなどでさらに細かく分類される。

コイおよびキンギョの場合は、1種類の桿体型水平細胞 (rod-driven horizontal cell, RHC) と3種類の錐体型水平細胞: H1, H2, H3 に分類される (図 2.7)¹⁷⁴。RHC は桿体のみから入力を受け、すべての波長の光刺激に対して過分極応答を示す。また広い受容野を持つことを除けば桿体と良く似た光応答特性を持つ¹⁹¹。H1 は赤錐体から主入力を受け、すべての波長に対して過分極応答を示す。その波長感度曲線は赤錐体のものとよく類似する。H1 は luminosity 型 (L 型)、あるいは単相性 (monophasic) 水平細胞とも呼ばれる (脚注参照)。H2 と H3 は反対色特性を持ち、両方をまとめて chromatic 型 (C 型) 水平細胞とも呼ぶ。H2 は青から緑にか

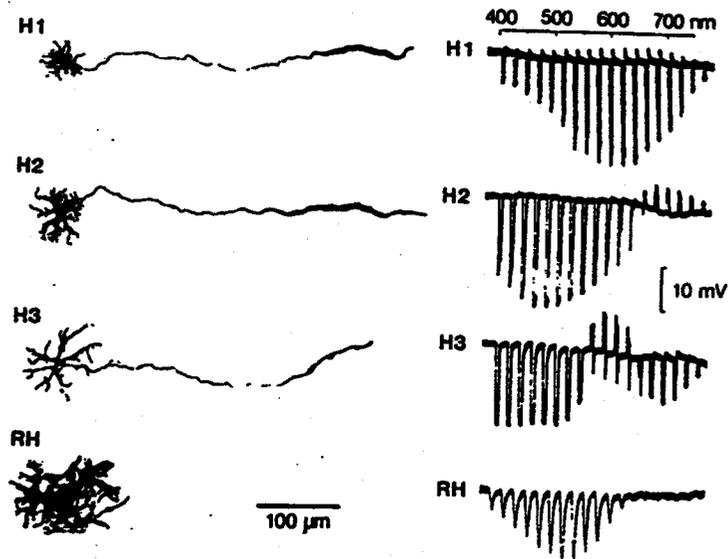


図 2.7: コイ網膜の水平細胞の形態 (左) と対応する分光応答 (右) ⁸⁸⁾

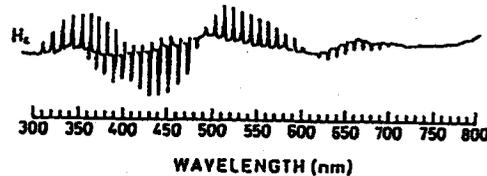


図 2.8: ウグイ網膜の4相性水平細胞 (H4) の分光応答 ⁵¹⁾

けての短波長領域で過分極, 赤色に相当する長波長領域で脱分極応答を示すことから, R/G型あるいは2相性 (biphasic) 水平細胞とも呼ばれる. H3は黄色を中心とした中波長領域で脱分極, 青と赤の短波長・長波長領域で過分極応答を示すことから, Y/RB型あるいは3相性 (triphasic) 水平細胞とも呼ばれる ⁸⁸⁾.

4種の細胞は形態的にも異なる. RHCは軸索を持たず, 他の水平細胞と比べて樹状突起を広く密に伸ばしている. 一方錐体型水平細胞は軸索と大きな軸索終末を持っており, 樹状突起の形状から H1, H2, H3 に分類できる (図 2.7). これら4種の水平細胞は網膜内での位置も異なる. 視細胞側から見ていくと, まず H1, H2, H3 の順で細胞体の層が並び, 続いて RHC の層がある. さらに H1, H2, H3 の軸索終末の層がある ¹⁷⁴⁾. したがって電極を視細胞側から刺

† H1, H2, H3 という区別はもともと形態による分類に基づく. 一方, L型・R/G型, 単相性・2相性水平細胞といった呼び方は波長特性を元にした電気生理による分類である. 双方の呼び方は本来区別されなければならないが, 本論文では H1, H2, H3 という呼び方で統一する.

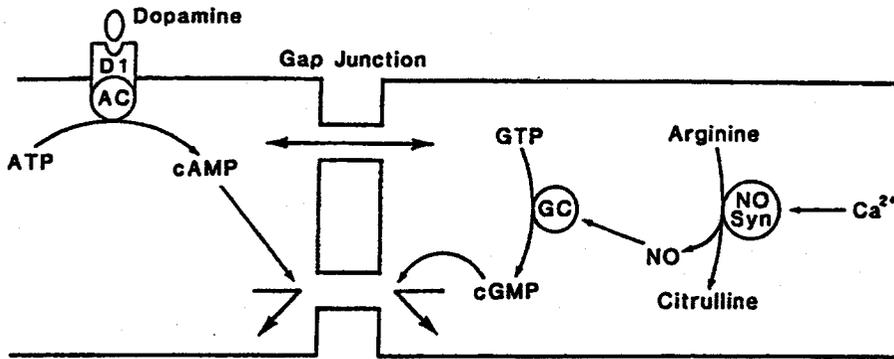


図 2.9: ギャップ結合を調節する細胞内情報伝達経路¹¹⁷⁾. ドーパミン→cAMPによる経路とNO→cGMPによる経路が存在する。

していくと H1, H2, H3 の順で各細胞体の光応答に遭遇し, RHC を間にはさんで再び錐体型視細胞の応答が軸索終末から記録される. このようにきわめて秩序だった構造が存在するため, 記録が取れたときの電極の深さや前後に記録された細胞の種類は細胞を同定する上で重要な要素になる.

H1, H2, H3 はそれぞれ赤・緑・青錐体から主入力を受けると考えられており, したがって UV 錐体を除く 4 種の視細胞 (桿体と赤・緑・青の 3 種の錐体) と 4 種の水平細胞 (RHC, H1, H2, H3) がそれぞれ対応する. コイ同様に UV 錐体を持つウグイではこれらに加えて 4 相性の波長特性を持つ H4 水平細胞が同定されている (図 2.8)^{65,67,68)}. コイやキンギョにも UV 錐体があるためウグイ同様に H4 が存在する可能性があるが, 現在のところはまだ報告されていない.

ギャップ結合と受容野

ギャップ結合は細胞間をつなぐチューブ状のタンパクであり, 小分子はギャップ結合を通過して細胞間を行き来することができる. 細胞の電気活動を担う多くのイオンもギャップ結合を通り抜けるので, ギャップ結合で結ばれた細胞は互いに電氣的に結合する.

網膜ではほとんどすべての型の神経細胞でギャップ結合の存在が確認されているが, 中でも水平細胞が顕著である^{18,85)}. 水平細胞は同じサブタイプの細胞同士が互いにギャップ結合で結び付いてシンシチウムを形成する⁸⁹⁾. コイやキンギョの場合, H1, H2, H3 の 3 種の錐体型水平細胞および桿体型水平細胞はそれぞれ独立したシンシチウムを作っている. また錐体型水平細胞の場合, 細胞体は細胞体同士, そして軸索終末は軸索終末同士でギャップ結合しており, 2 層構造のシンシチウムを形成する²¹⁵⁾. 一つの水平細胞に色素を注入すると, ギャップ結合を通過して周囲の細胞まで染まる. これを dye-coupling といい, ギャップ結合の存在やその強度を調べる一つの手法になっている.

細胞間のギャップ結合の強度はさまざまな化学物質によって調節される. 水平細胞の場合,

ギャップ結合の強度は IP 細胞が放出するドーパミンによって調節される^{28,42,143,184}。水平細胞には D₁ 受容体があり、これがドーパミンを受容する^{28,42}。ドーパミンが D₁ 受容体に結合すると G タンパクが活性化し、G タンパクはさらにアデニル酸シクラーゼを活性化する。その結果細胞内の環状 AMP(cAMP) 濃度が上昇する。この cAMP 濃度上昇によってギャップ結合が遮断される(図 2.9)^{28,117,118,143}。IP 細胞はドーパミンを明順応時に放出するため、水平細胞間の電気結合強度および dye-coupling は暗順応時に強まる。

ギャップ結合は cAMP ばかりでなく、cGMP によっても遮断される²⁸。一酸化窒素(NO)は cGMP を増加する働きがあり、実際 NO ドナーである塩化ニトロプロシッド(SNP)や NO の前駆物質である L-アルギニンが水平細胞のギャップ結合を閉じることが示された^{105,119,120}。その結果、NO-cGMP 系は新たなギャップ結合の調節経路として考えられている。

シナプスと伝達物質・受容体

視細胞は暗時に伝達物質(Glu)を放出し、光刺激によってその放出が減少もしくは停止する^{19,77,106,109,145,175,220}。水平細胞には Glu 受容体があり、Glu と結合することで膜電位は脱分極応答を示す¹⁷⁵。光刺激がないとき、視細胞が持続的に放出する Glu によって水平細胞も持続的な脱分極状態に置かれる。そして光刺激によって視細胞の Glu 放出量が減少すると水平細胞にも過分極性の光応答が生じる(ただしすでに述べたように視細胞と水平細胞の間のフィードバック経路が存在するため、光刺激条件によっては脱分極性の光応答を示すこともある)。

水平細胞の持つ Glu 受容体は AMPA/KA 型である^{101,100,227}。AMPA/KA 型は応答速度の速いチャンネル型の受容体で陽イオンに対して非選択的な透過性があり、反転電位はほぼ 0mV 近辺にある¹⁷⁵。AMPA/KA 型は水平細胞における Glu 受容体の主成分であるが、このほか動物種によっては NMDA 型の受容体を併せ持つものもある^{133,134}。また APB 感受性の代謝型受容体(mGluR6)の存在を示唆する結果も報告されている^{178,129,232}。水平細胞における代謝型受容体の存在は本論文の主題の一部として議論する。

水平細胞が放出する伝達物質は GABA である。GABA は抑制性伝達物質として働き、視細胞へのネガティブフィードバックの信号を担っている^{11,112}。水平細胞の GABA 放出は通常のシナプスと違ってシナプス小胞がなく、Ca²⁺にも依存しない。代わりに水平細胞は Na⁺ とカップルした GABA の uptake transporter を持っている。この transporter は electrogenic であるため、水平細胞が脱分極すると GABA を放出する方向へ働く。これが水平細胞の GABA 放出メカニズムである^{8,159,180}。

水平細胞は GABA を伝達物質として放出するが、同時に GABA_C 受容体も持っており、自分自身も GABA に対して応答する^{31,146,179}。GABA_C は塩素イオン(Cl⁻)に対して透過性のあるチャンネル型の受容体で、通常は抑制性シナプスの受容体として働く。しかし水平細胞の Cl⁻ の平衡電位は暗時の膜電位より高く、そのため水平細胞自身には興奮性の受容体として働く³⁶。したがって GABA は視細胞へはネガティブフィードバック信号を伝える一方で、水平細胞自身へはポジティブフィードバックとして働く。この GABA_C レセプタはオートレセプタとして働くとともに、水平細胞の光応答の時間特性を改善していると考えられる⁸³。また GABA を介した水平細胞同士の直接の情報伝達経路が存在することも予想される¹⁹⁸。

視細胞と水平細胞、双極細胞の三者で作るシナプスの形態は複雑である。水平細胞と双極細胞の樹状突起の先端は視細胞のシナプス終末に陥入してリボンシナプスと呼ばれる特殊な構造を形成する¹⁴⁷⁾。リボンシナプスの狭い空間の中で視細胞からのフィードフォワードおよび水平細胞からのフィードバックの信号が交換される。またリボンシナプスに加えて視細胞シナプス終末の底面でもシナプス結合が見られる。

視細胞のリボンシナプスに陥入した水平細胞の樹状突起の先端には、spinuleと呼ばれる長さ $0.3\mu\text{m}$ ほどの小さな指状の突起構造が見られる。spinuleは明順応時に形成され、暗順応時には消失することから、光順応に応じたシナプス伝達特性の修飾に関与すると考えられている²⁰⁴⁾。spinuleについては、他の光順応現象とまとめて後に解説する。

フィードバックモデル

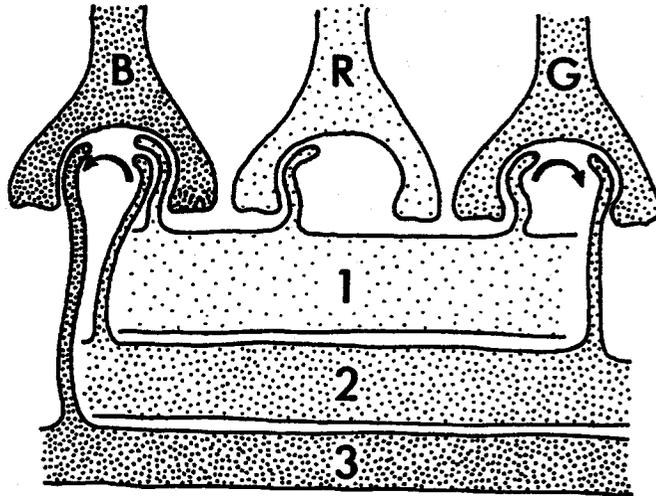
Stellらはリボンシナプスにおける錐体と水平細胞との結合関係を調べ、さらに電気生理による光応答特性と細胞の形態との関係を明らかにした。その結果を元に水平細胞の反対色特性を説明するフィードバックモデルを提唱した(図2.10)¹⁷⁴⁾。Stellのモデルによれば、3種の水平細胞: H1, H2, H3はそれぞれ赤・緑・青錐体から主入力を受ける。たとえばH1は赤錐体から主入力を受けるため赤錐体とほぼ同じ波長特性を持つ; すなわちすべての波長の光に対して過分極応答を示す。H1は緑錐体に符号反転型のフィードバックを返し、緑錐体自身の光応答の差分がH2へと伝えられる。そのためH2は長波長領域で脱分極応答を示す。H2はさらに青錐体へとフィードバックを返し、青錐体自身の光応答との差分によりH3の波長特性が作られる。

Stellのフィードバックモデルは水平細胞の電気生理的な特性を説明する明快なものであり、外網状層のネットワークを理解する上でもっとも基本的なモデルとなった。その後GABAを介したフィードバック経路の存在が明らかになり、モデルを支持するデータが積み重ねられた^{122,121)}。ただしStellのモデルはあくまでも定性的なものであり、定量的な解析結果は必ずしもモデルから予想されるものと厳密な一致をみない。そこでより正確な外網状層ネットワークの記述を試みる研究がなされてきた。本節の最後ではStellのフィードバックモデルで説明できないいくつかの問題をとりあげる。

外網状層ネットワークのより正確な記述という問題について特に精力的に取り組んでいるのはKamermansのグループである^{81,82,198,199)}。彼は生理実験と計算機シミュレーションにもとづき、すべてのタイプの錐体がすべてのタイプの水平細胞と結合するモデルを提案した⁸¹⁾。ただしそれはStellのモデルを否定するものではなく、モデルをより詳細に修正するものであった。Stellのモデルはあくまでも錐体と水平細胞のネットワークを近似的に描いたものであり、実際にはマイナーな結合関係が省かれていると考えられる。したがって外網状層ネットワークの基本的な骨格を描いた定性的モデルとしては現在でもStellのモデルがよく用いられている。

Stellのフィードバックモデルに修正を加える提案は今でも多くなされている。たとえば緑や青錐体からH1への入力経路の存在^{94,226,231)}や異なるサブタイプの水平細胞間の相互作用^{84,198)}などさまざまな経路が提案されている。しかし現段階でははっきりした結論が出ていないものが多い。このような作業は一見すると重箱の隅をつつきかねない瑣末な問題を扱っているように思えるが、次の2点において重要な未解決の問題が残されている。第1の点は順応の

(a)



(b)

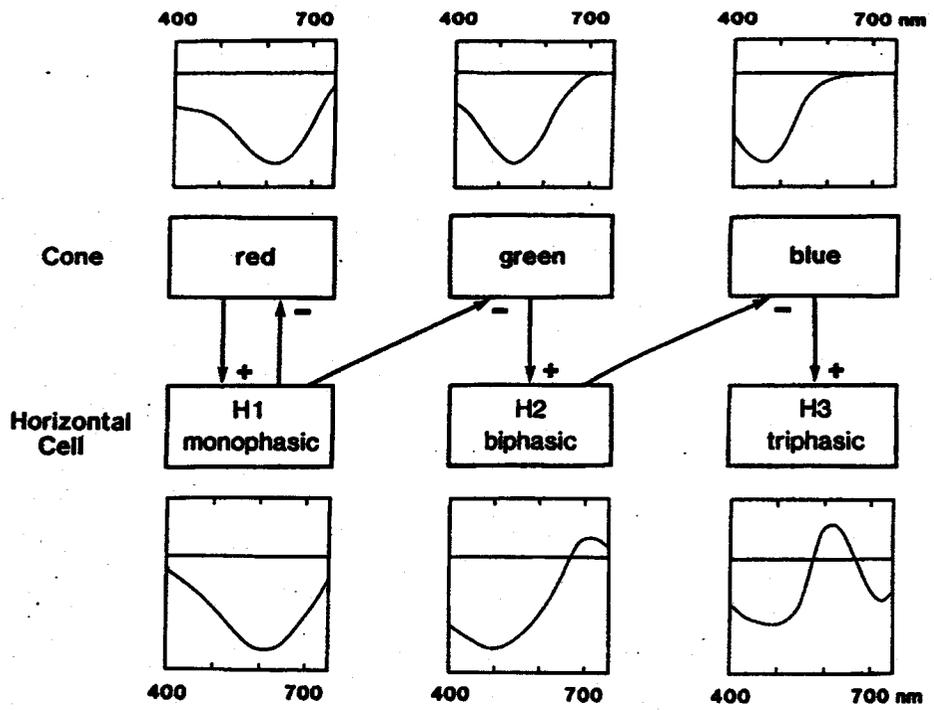


図 2.10: (a) Stell のフィードバックモデル¹⁷⁴⁾ とそれにもとづく反対色生成メカニズム⁸⁸⁾

問題である。順応については後にまとめて取り上げるが、水平細胞の光応答特性は順応によって細かく調節されており、たとえば水平細胞の持つ反対色特性も順応状態によって大きく変化する^{40,35)}。水平細胞の波長特性変化は錐体—水平細胞間のシナプス結合が可塑的に変化する事で生じると考えられるが、これが Stell のモデルの枠組みの範囲で説明可能なのか、あるいは新たなメカニズム（未知の情報伝達経路）の導入が必要なかが重要な問題点となる。第2の点は受容野、すなわち空間特性の問題である。受容野については次の項目で詳しく述べるが、網膜神経細胞の空間特性は刺激光の波長や順応状態に応じて変化する。網膜は視覚画像を扱う組織——単なる平均的な明るさの検出器ではなく、明るさの空間分布を検出する組織——であるから、この問題は網膜の機能を考えるうえでも重要である。Stell のモデルは空間的に一様な光刺激に対する細胞の波長特性を説明する上では有用であるが、刺激光の波長に応じた細胞の空間特性を考えた場合はけして満足いく説明を与えない。Kamermans らも常に波長特性と空間応答特性との関係の上で水平細胞と錐体のネットワークを明らかにしようと試みている。本論文はこれら二つの問題点を踏まえた上で外網状層ネットワークの可塑性を明らかにしようとするものである。

水平細胞の受容野

水平細胞は同じサブタイプの細胞同士でギャップ結合を形成しており、そのため dendritic field を越えた広い受容野を持つ。明順応状態では IP 細胞が放出するドーパミンがギャップ結合を遮断するため、明順応時の受容野は暗順応時と比べて狭くなる^{42,138,165,184)}。水平細胞の受容野の大きさがどのように調節されるかは網膜における視覚情報処理にも密接に関わると考えられるため、多くの電気生理的な測定やモデルによる解析がなされてきた。

水平細胞の持つ広い受容野はギャップ結合を電気抵抗とみなした等価回路モデルで説明できる(図 2.11)。空間連続なモデルの場合、水平細胞シンシチウムを一枚の電導シートとみなした 2 次元ケーブルモデルを適用する^{97,99,125)}。電導シートは細胞膜という被覆で挟まれており、細胞膜の特性は通常 RC 特性で近似する。もし細胞膜の特性が空間的に均一ならば、水平細胞シンシチウムはいわゆるケーブル方程式（熱拡散方程式）で記述され、時空間的な電位分布を解析的に求めることができる。たとえばスリット光に対する水平細胞の膜電位分布は指数関数で減衰し、スポット（小さな円形）光に対する電位分布はベッセル関数に従う^{78,97)}。スリット光の場合にせよスポット光の場合にせよ、光刺激に対する応答がどれくらい減衰せずに伝わるかはケーブル方程式における空間定数 λ で与えられる。 λ はシンシチウム内の抵抗（単位長さあたりの抵抗） r_i と細胞膜の抵抗（単位面積あたりの抵抗） r_m で決まり、 $\lambda = \sqrt{r_m/r_i}$ で与えられる。この空間定数 λ が受容野の大きさを表す指標になる。

一方、離散的なモデルの場合は水平細胞ひとつひとつをノードとみなし、電気抵抗（ギャップ結合）を介して正方もしくは六方にノード間を結合したネットワークで表現する^{229,230,81,84,196)}。これはケーブル方程式を用いた連続モデルを離散近似したものと等価である。この場合も細胞膜は膜容量を持つ RC 回路で近似されるが、モデルの目的によってはイオンチャネルなどの電気的特性を適宜盛り込んでより詳細なモデルを作る場合もある^{81,84)}。特に膜やシナプスの非線形な特性も考慮する場合は解析的に解くことが不可能になるため、このような離散モデルで

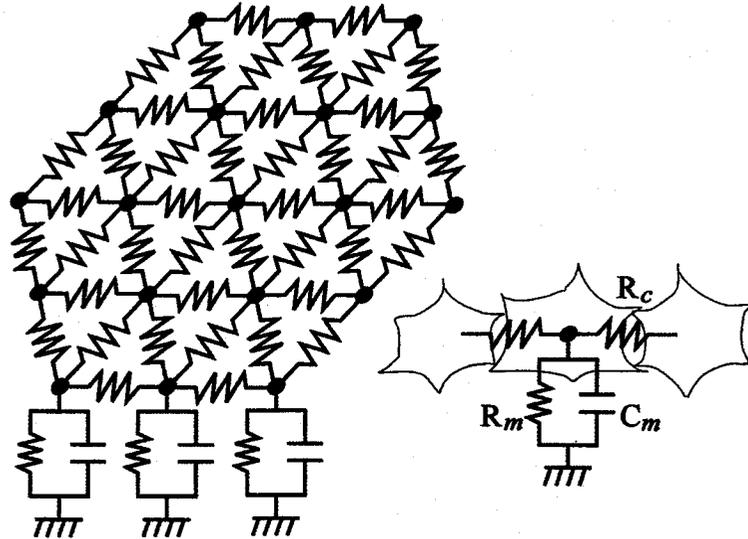


図 2.11: 水平細胞の2次元ケーブルモデル。離散モデルでは1細胞を1ノードとして、細胞同士が電気シナプス R_c でカップルしたものを考える。またこの図では細胞の膜特性を膜抵抗 R_m と膜容量 C_m で表現しているが、必要に応じて詳細に記述することも多い。連続モデルでは水平細胞シンシチウム全体を2次元ケーブルとして取り扱う。

シミュレーションすることが多い。離散モデルの場合も距離定数 λ に相当するパラメータを考えることは可能で、細胞体同士のカップリング抵抗を R_c 、細胞体1個あたりの膜抵抗を R_m とすれば、 $\lambda' = \sqrt{R_m/R_c} \propto \lambda$ が受容野サイズを決める定数になる。(この λ' も広い意味での距離定数とみなせる)。ドーパミンは水平細胞間のギャップ結合を閉じて受容野を狭くする効果があるが、これは細胞間のカップリング抵抗 R_c が増大して λ' が小さくなったものと理解することができる。

ケーブルモデルは基本的に線形モデルであるが、光刺激に対する水平細胞の電気的な応答特性をかなりよく説明しうる。たとえばスリット光に対する水平細胞の応答振幅は、記録位置からスリット位置までの距離に対してほぼ指数関数的に減少する^{99,125}。またコイなど魚類の錐体型水平細胞は細胞体と軸索終末の二ヶ所で互いにギャップ結合するため、二つの2次元ケーブルが並行するモデルで記述されるが、この場合のスリット光に対する応答もモデルと電気生理実験の結果が一致し、細胞の応答振幅はスリットの位置に対して二つの指数関数の和として表される²²¹。

しかし水平細胞の空間応答特性のすべてがケーブルモデルで説明できるわけではない。たとえばスリット光に対する水平細胞の応答振幅はスリット位置が離れるに連れて指数関数で減衰するものの、そのときの減衰のしかたは刺激光の光強度に依存し、光刺激が強くなるほど受容野全体の距離定数が大きくなったように観察される⁹⁹。よくある説明として、光刺激が大きいほどシナプスのイオンチャンネルが閉じて細胞の膜抵抗 R_m が増大し、 λ' が大きくなるため

と言われる。たしかに R_m が増大すれば距離定数 λ' も増大して受容野も広がるが、シナプス入力によって R_m が増大するのはスリット光の直下（もしくはその近傍）のみのごく狭い領域だけである。しかし距離定数の増大はスリット光の当たっていない部分で観察される。したがって光刺激による R_m の増大だけでは距離定数の変化を十分に説明できない。さらに水平細胞の受容野は刺激光の波長にも依存するが、これも単純なケーブルモデルだけでは説明が難しい。このように光刺激の強度や波長に対する受容野サイズの変化を考えはじめると単純なケーブルモデルだけでは説明できなくなる。

現実の水平細胞はいくつかサブタイプに分かれ、視細胞との間にフィードバックを介した複雑なネットワークを形成する。水平細胞のあるサブタイプの光応答は視細胞を介して間接的に別のサブタイプの水平細胞へと伝えられる。したがって水平細胞の受容野はサブタイプ間の相互作用も考えなければ正確には記述できないだろう。またシナプス受容体を始めとする細胞膜の特性もけっして線形ではない。したがって光刺激の強度や波長に対する受容野の依存性を説明するには単純なケーブル特性のみならずもっと多くの要素を考慮しなければならない。その一方で考慮すべき要素が増えれば増えるほどモデルが複雑化し、水平細胞の光応答特性を決める本質が何なのかを見失いやすく、実験による立証も困難になるというジレンマがある。

水平細胞の波長特性は Stell のフィードバックモデルで、空間特性（受容野）はケーブルモデルでおのおの独立に説明されている。どちらのモデルも定性的な理解としては妥当と思われるが、両者とも水平細胞のごく基本的な特性を説明しうるにすぎない。波長特性と空間特性の間の相互関係を説明しうる統一されたモデルについては、構築の試みはあるもののしかし現時点では未解決の問題が多く残されている。次節では水平細胞に関する未解決の問題をいくつか取り上げる。

水平細胞に関する未解決問題

水平細胞の応答特性は、空間特性についてはケーブルモデル、波長特性についてはフィードバックモデルで一応の説明がつく。しかし実際にはこの二つのモデルで説明できない現象が存在する。H1 に関わるものだけを挙げると以下のようなものがある。

- 受容野の大きさは光強度と波長に依存する。光強度が大きくなるほど受容野は大きくなる。また赤（長波長）よりも青（短波長）の光刺激に対して受容野は狭くなる^{99,103,182}。
- H1 の光強度と応答振幅の関係は univariance ではない。すなわち光強度-応答振幅曲線は波長に依存する (図 2.12)²²⁵。
- 混合色光刺激に対する非線形な応答特性。赤と緑の光刺激を同時に与えると、それぞれの色を単独で与えた場合の和と比べて大きな光応答が H1 で観察される^{94,226}。

もし H1 が赤錐体のみから入力を受けるならば、H1 は univariance に従い、また受容野の大きさも波長に依存しないはずである。したがって H1 へは直接もしくは間接的に短波長感受性錐体からの入力があると考えられる。またその入力は赤錐体からの入力となんらかの非線形な相互作用があると考えられる。さらに短波長感受性錐体と赤錐体とでは H1 へのメカニズム自体が異なるのではないかという報告もある。

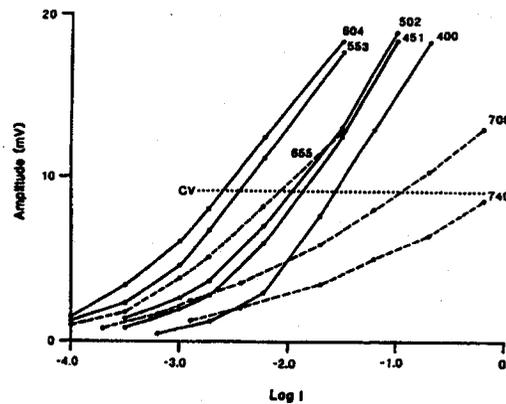


図 2.12: H1 水平細胞の V - $\log I$ 曲線。各曲線の数字は刺激光の波長。H1 は univariance に従わず、長波長側と短波長側で曲線の傾きが異なる。225)

- 強い赤色背景光で赤錐体の光応答を飽和させ、その状態で短波長の光刺激を与えると、通常とは符号が逆の、脱分極性の光応答が H1 で観察される¹⁸¹⁾。
- 光刺激による H1 の入力抵抗変化（おそらくシナプスのチャネル開閉）が長波長と短波長とで異なる（詳細は 3 章）²³¹⁾。
- 青錐体の伝達物質は Glu ではないかもしれない^{107,109)}。

上記の現象に対する説明として、H2, H3 から赤錐体もしくは H1 への情報伝達経路が存在し、そのため H1 と H2, H3 の間の非線形な相互作用が存在するとする説がある⁸¹⁾。また短波長感受性錐体から H1 への特殊なシナプス入力があり、それが赤錐体入力との間に非線形な相互作用を起こすとも考えられる。いずれにせよ短波長に感受性を持つシナプス入力为非線形な相互作用を起こすと考えられるが、その経路やメカニズムは未解明の問題である。

2.1.4 双極細胞

光応答特性

双極細胞は外網状層から内網状層へ信号を伝える細胞である。双極細胞も光刺激に対して graded potential を示し、その極性は光刺激に応じて過分極・脱分極のどちらも示す。受容野中心へのスポット光刺激に対して脱分極応答を示す ON 型 (ON-center 型) と、過分極応答を示す OFF 型 (OFF-center 型) の二種に大別される⁸⁶⁾。双極細胞は光刺激に対して持続的に応答するが、光刺激の立ち上がり・立ち下がり時に一過性の応答も示す。

双極細胞は中心-周辺拮抗型の受容野を持ち、受容野の中心部と周辺部とでは光刺激に対する応答の極性が反転する。すなわち ON 型双極細胞では、中心部への光刺激に対して脱分極、周辺部の光刺激に対して過分極応答を示し、一方 OFF 型では極性がちょうど ON 型と正

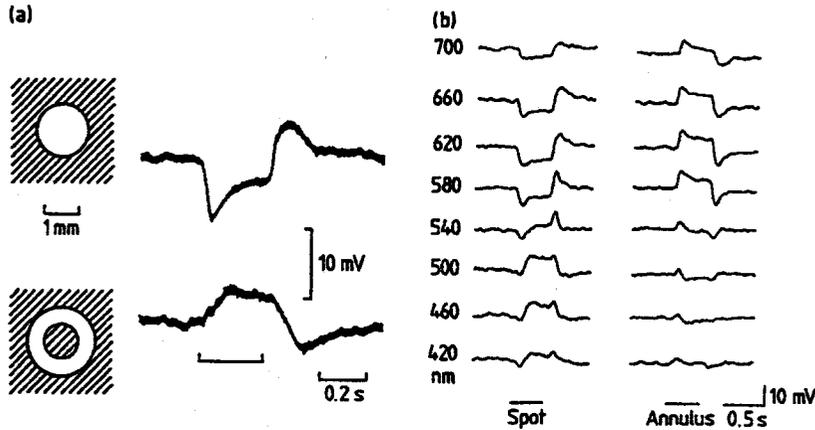


図 2.13: 双極細胞の光応答特性. (a) OFF 型双極細胞の中心-周辺拮抗型の応答. (b) 二重色対立型受容野を持つ双極細胞の光応答. ³⁹⁾

反対になる (図 2.13(a)). 双極細胞の周辺受容野は水平細胞に由来すると考えられるが、魚類の場合は水平細胞から双極細胞への直接の入力は見つかっておらず、おそらく視細胞へのネガティブフィードバックを介して双極細胞に伝えられると思われる。中心-周辺拮抗型の受容野は生物の視覚系で広く見られる普遍的な空間特性で、コントラスト強調や情報量圧縮の役割があると考えられる。

錐体から入力を受ける双極細胞の中には水平細胞と同様に反対色特性を持つものが存在する。その中には光刺激の位置による極性変化と波長による極性変化の両方の特徴を持つ double-opponent-type と呼ばれる双極細胞もある ⁹⁰⁾(図 2.13(a)).

ON 経路と OFF 経路

双極細胞は内網状層に軸索を伸ばし、神経節細胞およびアマクリン細胞と結合する。内網状層は大きく 2 層に分けられ、外側 (視細胞側) をサブラミナ a, 内側 (神経節細胞側) をサブラミナ b と呼ぶ。ON 型と OFF 型の双極細胞では軸索終末の投射先が明確に異なり、ON 型はサブラミナ b, OFF 型はサブラミナ a に投射する。同様に神経節細胞やアマクリン細胞の ON 型はサブラミナ b, OFF 型はサブラミナ a に樹状突起を伸ばす。このように ON 経路と OFF 経路は外網状層で明確に分かれて存在する ⁴⁸⁾。

光応答と形態による分類

形態的に見ると双極細胞は大きく二つのグループに分けられる。ひとつは大きな細胞体を持ち、桿体から主入力を受けるタイプであり、もうひとつは小さな細胞体で錐体から主入力を受けるタイプである。それぞれのタイプはさらに軸索の投射先から、サブラミナ a に投射する

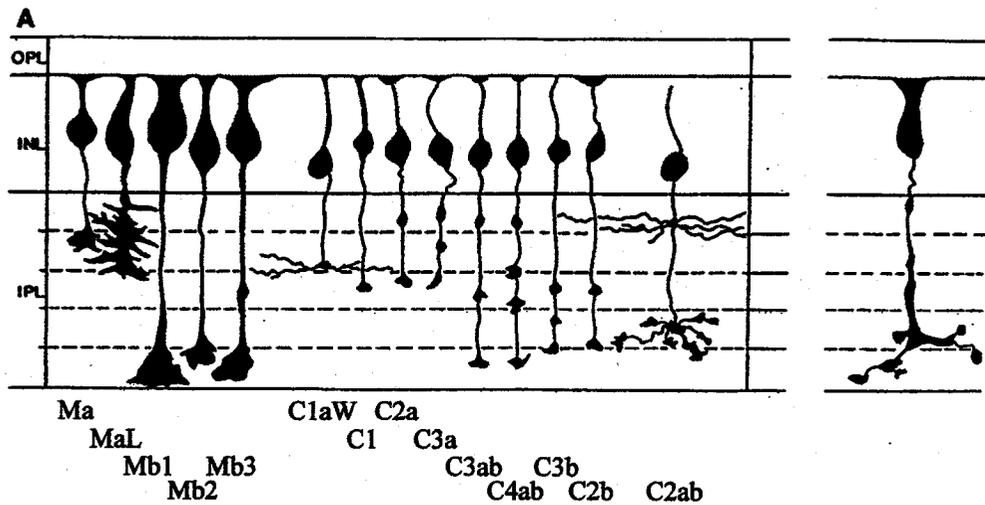


図 2.14: キンギョ網膜の双極細胞の形態による分類¹⁶⁰⁾. 右端は lobulated Mb.

タイプ (OFF 型) とサブミナ b に投射するタイプ (ON 型) に分けられる¹⁶⁰⁾.

哺乳類の場合、桿体のみから入力を受ける桿体型双極細胞と、錐体のみから入力を受ける錐体型双極細胞に分けられる。錐体型は ON 型と OFF 型の両方そろって存在するが、桿体型の場合は ON 型のみ存在する²⁰⁵⁾。哺乳類以外の場合、錐体のみから入力を受ける C 型 (cone input 型) と桿体と錐体の両方から入力を受ける M 型 (mixed input 型) に分けられる。C 型と M 型はさらに軸索の投射先から Ca, Cb, Ma, Mb のように分類される。Sherry と Yazulla はキンギョ網膜の双極細胞を形態により分類したが、彼らの分類によれば 6 種類の M 型と 9 種類の C 型に分けられる (図 2.14)¹⁶⁰⁾。

Saito らはコイ網膜の M 型双極細胞を形態と光応答の双方から調べ、ON 型と OFF 型双極細胞をそれぞれさらに I 型と II 型に分けた。I 型の双極細胞は光刺激を与えた時の一過性応答が大きく、一方 II 型は持続性成分の強い応答を示す。また Saito らによれば I 型の方が桿体入力の比率が高い^{150,153,152,154)}。

C 型双極細胞は波長特性をもとに細かく分類することができる。まず波長によって応答極性が変わらない明度型と、極性が反転する色対比型に分けられる。色対比型双極細胞は B/R 型, R/G 型, R/G/B 型の 3 種類に分類され、それぞれ ON 型と OFF 型が存在する。また双極細胞の受容野構造が刺激光の波長によってどう変化するかで分類することもできる。色対比型双極細胞の場合、どの波長に対しても中心-周辺拮抗型の受容野が存在して波長に応じて中心・周辺それぞれの応答極性が完全に入れ代わってしまう double-opponent 型と、波長に応じて中心-周辺拮抗型受容野が消失してしまう型に分けられる。新保らによれば 3 種類の色対比型双極細胞のうち R/B 型が double-opponent 型に相当し、R/G 型と R/G/B 型は後者のタイプになるという^{166,167)}。

シナプスと伝達物質・レセプタ

視細胞から双極細胞への伝達物質はグルタミン酸 (Glu) である。OFF 型双極細胞へのシナプスは符号保存型であり、ON 型双極細胞へのシナプスは符号反転型である。したがって同じ Glu に対して ON 型と OFF 型とでは正反対の応答を示す。

OFF 型双極細胞の Glu 受容体は水平細胞と同じ AMPA/KA 型と考えられており、これは伝達物質によって陽イオンチャンネルが脱分極がオープンする通常の興奮性シナプスである⁵⁶⁾。一方 ON 型双極細胞は APB 感受性の代謝型 Glu 受容体を持つ^{128,224)}。これは通常の抑制性シナプスと大きく異なり、伝達物質の存在しないときに陽イオンチャンネルが開いて持続的な脱分極状態を生じる。伝達物質はこのチャンネルを閉じることにより細胞を過分極させる¹²⁸⁾。

双極細胞が放出する伝達物質も Glu である¹⁷⁷⁾。双極細胞の出力は神経節細胞およびアマクリン細胞に伝えられる。双極細胞の軸索終末では Glu を放出するとともに、GABA 受容体が存在してアマクリン細胞からのフィードバックを受ける^{93,113,176)}。双極細胞—アマクリン細胞—神経節細胞の三者の結合様式は、視細胞—水平細胞—双極細胞の結合とよく類似する。

双極細胞も水平細胞と同様にギャップ結合を介して互いに電気的に結合している^{62,151)}。しかしその結合は水平細胞と比べると弱い。双極細胞のギャップ結合も受容野の形成に関与すると考えられるが、その機能についてはよくわかっていない。

2.1.5 アマクリン細胞

光応答特性と機能

アマクリン細胞は網膜 3 次ニューロンで双極細胞より入力を受ける。アマクリン細胞は多様なサブタイプを持ち、光に対する応答はサブタイプごとに大きく異なる。アマクリン細胞の光応答を大別すると、光刺激に対して持続応答を示す *sustained* 型と、光刺激の開始および終了時に一過性応答を示す *transient* 型に分けられる。また *sustained* 型は光刺激に対する応答極性から ON 型と OFF 型にさらに分けられる。しかし実際には一過性の応答と持続性の応答の双方を持ち合わせるものもあり、けっして単純に分類されるわけではない。図 2.15 は代表的なアマクリン細胞の光応答の例である。

アマクリン細胞は内網状層において水平方向の情報伝達を担う。アマクリン細胞は互いに強くギャップ結合をしているため、広い受容野を持つ^{18,123,183,185)}。双極細胞のように中心—周辺拮抗型の受容野を持つものもあるし、受容野全体で符号が変わらないものもある¹⁸⁵⁾。

transient 型アマクリン細胞の示す一過性の光応答はアマクリン細胞特有のものである。*transient* 型アマクリン細胞は光刺激の変化時に強く反応することから、視覚画像中の動き検出などに関わると想像される。特にウサギの *starburst* アマクリン細胞は運動方向選択性を持つ神経節細胞の光応答形成に関与すると考えられている^{5,140)}。またカメ網膜ではアマクリン細胞の中にも運動方向に選択的に応答するものが存在する³⁾。

機能がはっきりとわかっているアマクリン細胞として、哺乳類網膜の AII アマクリン細胞がある。哺乳類網膜の錐体型双極細胞には、それぞれ対応する ON 型と OFF 型の神経節細胞が存在してシナプス結合している。しかし桿体型双極細胞にはシナプス結合すべき神経節細胞が存在しない。AII アマクリン細胞は桿体型双極細胞から入力を受け、その応答をギャップ

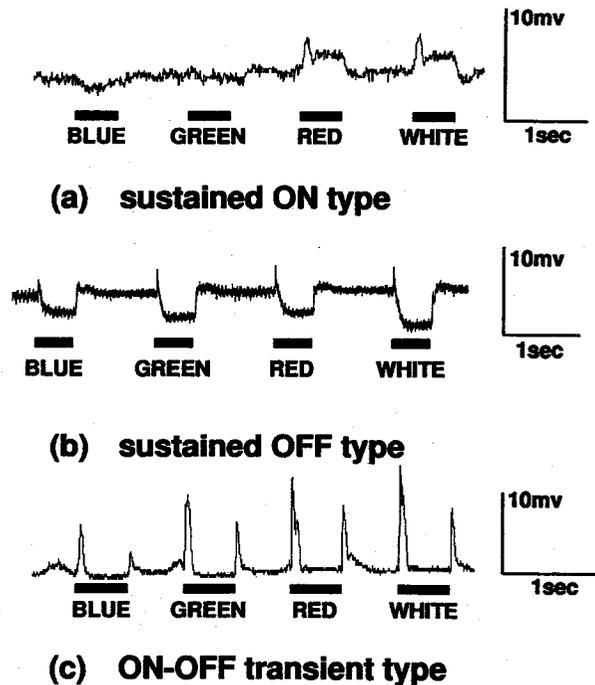


図 2.15: アマクリン細胞の代表的な光応答例

結合を介して錐体 ON 型双極細胞へと伝える。そして同時にグリシン性の抑制性シナプスを介して錐体 OFF 型双極細胞へも伝える。すなわち AII アマクリン細胞は桿体系と錐体系の信号伝達経路を取り持つ働きがある (図 2.22)^{49,205}。

光応答と形態による分類

アマクリン細胞の分類は研究者によってまちまちで未解決の問題である。コイ網膜においては Teranishi らが形態と電気生理の双方から分類し、両者の対応関係を調べている。彼らによればコイ網膜のアマクリン細胞は形態的に 8 種類に分類され、一方電気生理的には 4 種類に分けられる。電気生理による 4 種の分類はすなわち、sustained ON (center-ON) 型と sustained OFF (center-OFF) 型、および transient 型の fast type (fast ON-OFF 型) と slow type (slow ON-OFF 型) である (カッコ内は Teranishi らの分類名)¹⁸⁵。

アマクリン細胞は軸索を持たず、細胞体と放射状に伸びる樹状突起のみを持つ。sustained ON 型はサブラミナ b, sustained OFF 型はサブラミナ a に樹状突起を伸ばす。一方 transient 型はサブラミナ a, b の双方に樹状突起を伸ばす¹⁸⁵。

シナプスと伝達物質・レセプタ

アマクリン細胞は軸索を持たないため、入力および出力は樹状突起の各点で局所的に行われると考えられる。アマクリン細胞は双極細胞から入力を受け、神経節細胞へのフィードフォワードおよび双極細胞へのフィードバックを行う。

アマクリン細胞の放出する伝達物質もさまざまである。主要なものは抑制性の伝達物質である GABA とグリシンである。またアセチルコリン性の細胞もあるが、この場合は GABA も同時に持つ。アセチルコリン性の代表例はウサギの starburst アマクリン細胞である。そのほかドーパミンやセロトニンを放出するものも見いだされている¹⁴⁵⁾。

2.1.6 Interplexiform 細胞

Interplexiform (IP) 細胞は内網状層から外網状層へのフィードバックを担う細胞である。IP 細胞は主としてアマクリン細胞から入力を受けるが、双極細胞からも入力を受ける。そして水平細胞や錐体のシナプスがある外網状層へ軸索を伸ばし、ドーパミンを放出する^{45,66,71,168)}。ドーパミンは視細胞や水平細胞の光応答特性を変える働きがあり、したがってドーパミンは光刺激の信号を伝える神経伝達物質というよりはむしろ神経調節物質 (neuromodulator) と考えられる。

ドーパミンによって生じる視細胞や水平細胞の変化は光順応による変化と類似しているため、IP 細胞のドーパミン放出と光順応との関係が重要な問題であった。これについては暗順応時に放出するという説と明順応時に放出するという説があって互いに対立したが、現在は明順応時に放出すると広く考えられている^{38,130,214)}。

なお魚類網膜ではグリシン性の IP 細胞も見いだされているが、この細胞の機能等についてはよくわかっていない¹⁰⁸⁾。

2.1.7 神経節細胞

神経節細胞は網膜の出力神経である。網膜から中枢へ伸びる視神経は神経節細胞の軸索である。魚類の場合、視神経は視蓋へ投射する。神経節細胞はスパイクを出し、光刺激に応じてスパイク頻度が変化する。神経節細胞を光応答特性で大別すると、光刺激によってスパイク頻度が上昇する ON 型、減少する OFF 型、そして光刺激の開始と終了直後に一過性にスパイク頻度が上昇する ON-OFF 型に分けられる (図 2.16)²⁰²⁾。ON 型と OFF 型はそれぞれサブミナ b と a に樹状突起を伸ばし、ON-OFF 型はサブミナ a と b の双方に樹状突起を伸ばす⁷⁴⁾。

多くの神経節細胞は中心-周辺拮抗型の受容野を持つが、必ずしもすべての細胞が持つわけではない。またコイやキンギョなどの魚類網膜では色対比型の神経節細胞も存在し、双極細胞のように double-opponent 型も存在する²⁴⁾。コイは多彩な色対比型双極細胞を持つため、神経節細胞もおそらく波長特性に応じて多くの種類に分類されると思われるが、まだ十分には調べられていない。

神経節細胞にはさまざまな光応答特性を持つものが見られる。たとえば光刺激の運動方向に特異的に応答する方向選択性の神経節細胞は多くの動物種に存在する。特にウサギやカメの方向選択性細胞については詳しく調べられてきた^{4,5,10)}。網膜神経節細胞で見られる方向選択

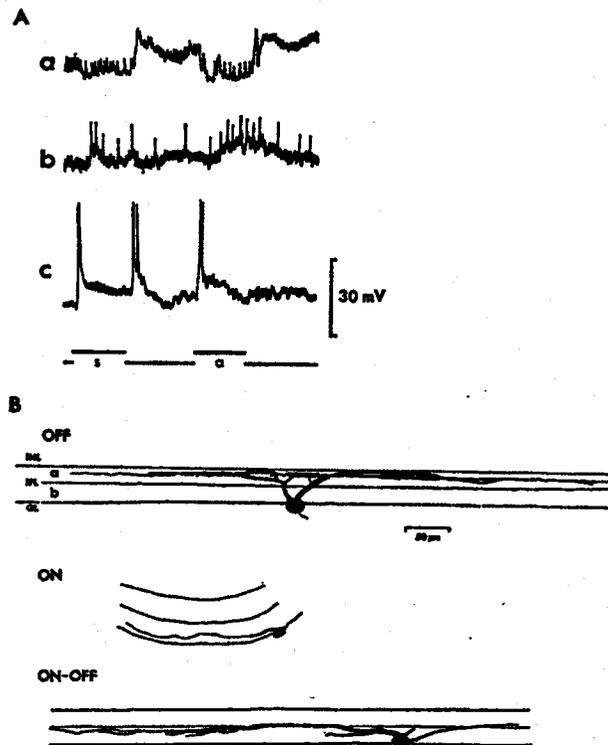


図 2.16: コイ網膜の神経節細胞の光応答例. (A) スポット (s)・円環 (a) 光刺激に対する OFF 型 (a), ON 型 (b), ON-OFF 型 (c) 神経節細胞の応答. (B) 同じ細胞の形態. OFF 型の樹状突起は内網状層の a 層に伸びており, ON 型は b 層, ON-OFF 型は a, b 層の両方に樹状突起を伸ばしている. ⁸⁷⁾

性はきわめて非線形な特性を持っており, 霊長類やネコなどの 1 次視覚野で見られる方向選択性細胞とは大きく特性が異なる. なおコイやキンギョの網膜では方向選択性の神経節細胞は報告されていない.

神経節細胞についての注目すべき最近の話題として細胞間の同期発火現象がある ^{115,131)}. Singer らによれば, ネコの神経節細胞は互いに同期してスパイクを出しており, さらにその同期性は視覚刺激の文脈に依存するという ¹³¹⁾. 今まで神経節細胞は視覚信号をパルス密度に符号化して中枢へ伝送すると単純に考えられてきたが, 細胞間の同期性を考えることでより多くの情報を伝えている可能性がある. 同期発火現象は網膜における情報処理を考える上でも今後重要な問題点になるだろう.

2.2 光順応現象

2.2.1 光順応現象とメカニズム

われわれが活動する視覚環境の中で、網膜に入る光刺激は 10^{10} 倍を越える大きな範囲で変化されると言われる。このような視覚環境の変化に対応するため、網膜は光順応機構を持ち、その時々々の視覚環境に応じて細胞の光応答特性が変化する。光順応機構により網膜神経系の特性は常に視覚情報処理に適した状態に調節されると考えられる。よく知られているのが順応に伴う視細胞の感度変化だが、他にも多くの順応に伴う変化が見られる。例えば空間応答特性や時間応答特性、波長特性までもがダイナミックにコントロールされる。網膜内にはこれらの順応調節機構が並列的に存在する。網膜には中枢神経系で見られる学習や記憶などの高次情報処理機構に関わる可塑的現象は見られないものの、順応現象は広い意味においての神経ネットワークの可塑的な調節機構である。したがってその可塑性メカニズムや信号伝達様式を解明することは単に網膜という一感覚神経系にとどまらない重要性がある。

光順応現象を解明し理解する際には次の3点が重要であろう。1) 現象の理解。さまざまな光刺激や視覚環境によってどのような順応に伴う現象が生じるのか。2) メカニズムの理解。いったいどのような機構によってその順応現象が生じるのか。3) 情報伝達経路の理解。その光順応機構に対してどんなメッセンジャーがどのような経路で順応情報を伝えているのか。また他の順応調節機構とどのような相互関係にあるのか。

本節では光順応に伴って網膜で見られる主な現象を紹介し、そのメカニズムおよび情報伝達経路について概説する。

phototransduction の感度変化

視細胞の感度は光順応によって大きく変化する。視細胞の phototransduction は図 2.6 の機構によって生じる。光刺激は cGMP 分解酵素である PDE を活性化し、cGMP-gated チャネルを閉じて細胞を過分極させる。一方暗時には細胞内 cGMP 濃度が高く、cGMP-gated チャネルを通して Na^+ および Ca^{2+} が持続的に流入し、細胞は脱分極した状態に維持される。暗状態が続くと細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇し、これがグアニル酸シクラーゼなどの phototransduction に関わる酵素の活性を変える。このようなメカニズムによって光刺激に対する視細胞の感度が調節されると考えられる^{135,233}。

Retinomotor movement

魚類など下等脊椎動物の視細胞は、順応に応じて形態が変化する。この現象は retinomotor movement と呼ばれる。暗順応状態では錐体の myoid が長く伸び、桿体では逆に myoid が短くなる。すなわち桿体が網膜の内側、錐体が外側に配置される。光刺激は網膜の神経節細胞側から入射するため、内側にある桿体の方が光を受容しやすくなる。一方明順応時には桿体の myoid が長く、錐体の myoid が短くなって錐体の方が内側に来る。またこのとき rod は網膜の外側にある色素上皮に隠れて強い光から保護される¹⁶(図 2.17)。

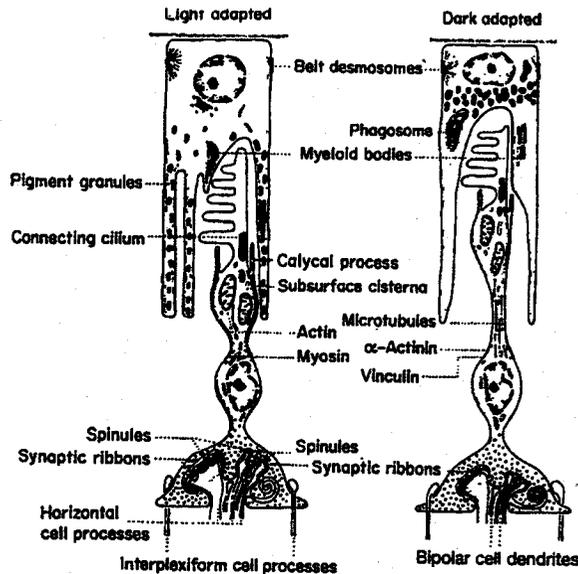


図 2.17: 順応に伴って視細胞に生じる形態変化。錐体は明順応によって短くなり、暗順応時に長くなる。桿体は逆に明順応時に長くなる。色素上皮細胞の色素は明順応時に視細胞側に集まり、強い光刺激から桿体を保護する。シナプス終末ではリボンシナプスの形態が変化し、明順応時には水平細胞の process に spinule が形成される。203)

Retinomotor movement は IP 細胞が明順応時に放出するドーパミンによって生じる。視細胞には D_2 レセプタがあり、ドーパミンによってアデニル酸シクラーゼが不活性化して細胞内 cAMP 濃度が減少する。この細胞内 cAMP 濃度の変化が retinomotor movement を引き起こす(214)。

リボンシナプスの形態変化

水平細胞・双極細胞の樹状突起は視細胞のシナプス終末に陥入し、リボンシナプスと呼ばれる特殊な構造を形成している。リボンシナプスのシナプス前膜には多数のシナプス小胞をつけたシナプスリボン (synaptic ribbon) と呼ばれるシート状の構造がある。また水平細胞の樹状突起終末からは spinule と呼ばれる指状の突起が出ており、これが視細胞側に入り込む。

リボンシナプスでは順応に伴って形態的な変化を示すことが知られる。まず視細胞側のシナプスリボンであるが、魚類の錐体の場合では昼間にその数が多くなり夜間に減少もしくは消失する。このシナプスリボンの変化は Ca^{2+} によって調節される²⁰¹⁾。一方水平細胞側の spinule は明順応時に形成し、暗順応時に消失する。この spinule の形成・消失を引き起こすものとして、ドーパミンや細胞内 Ca^{2+} 、一酸化窒素 (NO) などが候補に挙げられている^{58,210,208)}。リボンシナプスにおけるこれらの形態変化はシナプスの可塑的变化に関わると考えられており、

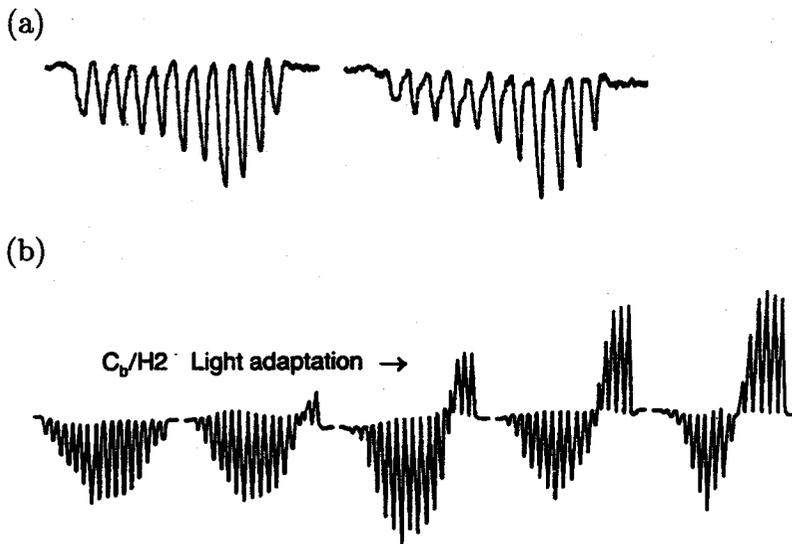


図 2.18: 順応に伴う分光応答の変化. 順応光によって左の状態から右の状態へ移行する. (a) H1 水平細胞⁴⁰⁾ (b) H2 水平細胞²⁰⁴⁾.

特に spinule は水平細胞から視細胞へのフィードバック特性や後に述べる水平細胞の波長特性の変化に関わると考えられる^{34,204)}.

ギャップ結合の変化

水平細胞間のギャップ結合強度は順応によって調節される. それに伴い水平細胞の受容野すなわち空間特性も変化する. IP 細胞が明順応時に放出するドーパミンは, 水平細胞のギャップ結合を閉じて受容野を狭くする¹⁸⁴⁾. 水平細胞には D_1 レセプタがあり, ドーパミンによって細胞内 cAMP 濃度が上昇して (視細胞の D_2 レセプタとは逆の効果がある) ギャップ結合が閉じる (図 2.9)^{28,42,118,143)}. なおギャップ結合は cAMP ばかりでなく cGMP によっても閉じる²⁸⁾. 一酸化窒素 (NO) は細胞内 cGMP 濃度を上昇させるため, NO もまた順応信号として水平細胞のギャップ結合を調節する可能性が示唆されている^{105,119,120)}.

シナプス受容体の特性変化

水平細胞は AMPA/KA 型の Glu 受容体を持つ. ドーパミンはこの受容体の感度を上昇させる効果がある. 水平細胞の Glu 受容体は伝達物質を持続的に与えると脱感作が生じて感度が低下するが, ドーパミンはそれを抑える働きがある⁹⁶⁾. したがって視細胞から水平細胞へのシナプス特性も順応によって調節される.

水平細胞の波長感度特性の変化

水平細胞の波長感度特性も順応によって変化する。コイ・キンギョの場合は H1, H2, H3 の 3 種類の錐体型水平細胞があるが、H1 は明順応時に短波長光への感度が長波長光と比べて相対的に低くなる⁴⁰⁾。色対比型の H2 の場合はさらに劇的な変化を示す。明順応時に存在する反対色特性が暗順応時には消失してすべての波長に対して過分極応答を示す (図 2.18)³⁴⁾。

Stell のフィードバックモデルによれば、H2 の反対色応答は H1 から緑錐体へのフィードバックによって形成される。したがって反対色特性の消失はフィードバック経路の不活性化を意味する。暗順応時にはリボンシナプスにおける spinule が消失することから、spinule がフィードバック経路の活性に関与すると考えられる³⁴⁾。

2.2.2 順応情報メッセンジャー

このように網膜内ではさまざまな順応現象が見られる。これら順応現象を引き起こすメッセンジャーや順応情報の伝達経路もさまざまである。細胞内メッセンジャーとしては Ca^{2+} および cAMP, cGMP が挙げられる。また細胞間メッセンジャーとしては IP 細胞から放出されるドーパミンが明順応情報を担う物質としてほぼ確立されている。しかし順応にはまだ未解明の点が多い。たとえば光刺激のパターン (持続光や明滅光) を変えるとそれによって引き起こされる順応現象も異なってくる⁶¹⁾。たとえば明滅光はドーパミン依存性の明順応を生じるが、持続光ではドーパミン非依存の順応変化が生じる^{9,43)}。またドーパミン経路をブロックした状態でも順応に伴う細胞の特性変化が見られる^{9,35)}。これらのことからおそらくドーパミン以外によって仲介される順応メカニズムが存在すると考えられる。

NO は明順応と同様の効果をもたらす物質として近年取り上げられている。NO がはたして明順応信号なのか今後の研究を待たねばならないが、網膜のさまざまな部位で明順応と類似した NO の効果が報告されている^{58,105,116,119,120)}。

2.3 代謝型グルタミン酸受容体と一酸化窒素

2.3.1 網膜における代謝型グルタミン酸受容体

シナプス受容体は大別してイオンチャネルを開けて膜電位変化を生じるチャネル型と、G タンパクを活性化して細胞内セカンドメッセンジャーに効果を及ぼす代謝型に分けられる。網膜神経細胞の中で代謝型シナプスが中心的な役割を果たすのは視細胞 - ON 型双極細胞間のシナプスである。ON 型双極細胞は代謝型 Glu 受容体 (mGluR) を持つ。この受容体は伝達物質によって陽イオンチャネルをクローズする。暗時に視細胞から放出される Glu は光刺激によって減少するが、ON 型双極細胞は Glu の減少によってチャネルがオープンして脱分極を生じる。すなわち ON 型双極細胞は mGluR によって視細胞と符号反転の光応答を示す。

図 2.19(a) は ON 型双極細胞の細胞内情報伝達経路を描いたものである。視細胞からの伝達物質 Glu が受容体と結合すると G タンパクが活性化し、さらに PDE が活性化する。PDE は細胞内 cGMP 濃度を下げ、細胞膜にある cGMP-gated チャネルを閉じる。cGMP-gated チャネルは陽イオンに透過性を持ち、反転電位はほぼ 0mV 付近にある。したがってチャネルが閉じることで膜電位は過分極する。光刺激は視細胞からのグルタミン酸放出を止め、G タンパク

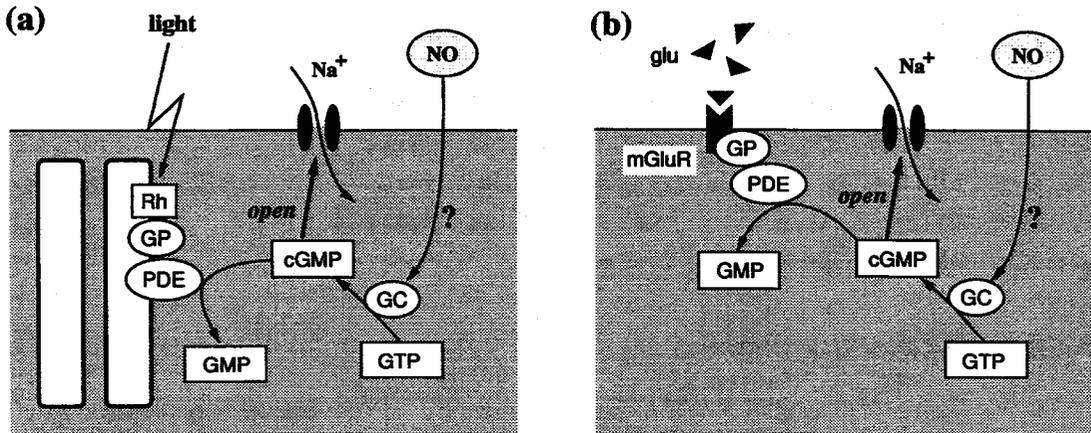


図 2.19: (a) 視細胞の phototransduction メカニズム. (b) APB 受容体を介した ON 型双極細胞の細胞内情報伝達経路.

および PDE を不活性化する. それに伴い細胞内 cGMP 濃度が上昇して脱分極性の膜電位応答を生じる (128,161,163).

この細胞内メカニズムは視細胞における phototransduction と酷似する (図 2.19(b)). 両者の間で異なるのは G タンパクの活性化をロドプシンが引き起こすか mGluR が引き起こすかという点だけである. 視細胞と ON 型双極細胞とでは G タンパクの種類も類似しており, どちらも百日咳毒素およびコレラ毒素の双方に感受性がある (162).

ON 型双極細胞の mGluR は L-APB (L-2-amino-4-phosphonobutyrate, L-AP4) をアゴニストに持つ. したがって APB を網膜に与えると ON 型双極細胞の脱分極性の光応答が抑制される (128,224). 網膜からクローニングされた mGluR タンパクは mGluR6 と呼ばれ, 同様に L-APB に感受性を持つ (126). 本稿では網膜における APB 感受性の mGluR を APB 受容体と呼ぶことにする. APB 受容体は ON 型双極細胞の他に神経節細胞²⁾でも見いだされている.

コイおよびキンギョによる電気生理実験では, APB が錐体型水平細胞の光応答にも影響を及ぼすことが示されている. APB は水平細胞の膜電位を過分極させ, 受容野を広くする働きがある (41,63,129,178,227). これらの報告から水平細胞にも APB 受容体が存在すると示唆されるが, その存在と作用メカニズムは明らかでない.

2.3.2 網膜における一酸化窒素の効果

神経伝達物質としての一酸化窒素

神経伝達物質としての一酸化窒素 (NO) の発見はごく新しい. NO は不対電子を持つフリーラジカルで極めて高い反応性を持つ不安定な気体である. 生体内で NO は水溶性の気体として存在しており, 細胞膜を通過して拡散することができる. そのため NO は細胞内の代謝系に直

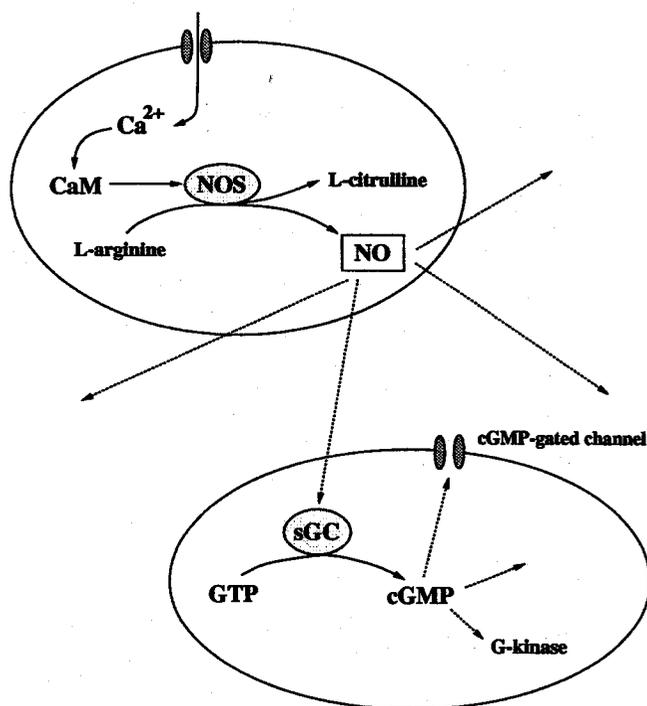


図 2.20: NO による信号伝達経路.

接作用することができ、特別な受容体を必要としない。また生体内で NO はすみやかに酸化されて消滅するため、他の伝達物質のような分解・回収のためのメカニズムも必要としない。このように NO は他の神経伝達物質と異なるユニークな特徴を持つ^{14,22,171}。

NO は L-アルギニンから NO 合成酵素 (NOS) によって作られ、その際に副産物として L-シトルリンが作られる。NOS は大別して 3 種類に分けられるが、神経系では神経型 (nNOS) と血管内皮型 (eNOS) が機能している。nNOS も eNOS もカルモジュリンを介して細胞内 Ca^{2+} によって活性化する。したがってイオンチャネルからの Ca^{2+} 流入や細胞内バッファからの Ca^{2+} 放出が NO 生成のトリガーになる。生成された NO は拡散によって広がり、ヘムを持つ酵素に結合してその活性を変える。NO のターゲットとして神経系で特に重要なのは可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC) である。sGC は cGMP 合成酵素であり、NO は sGC を活性化して細胞内 cGMP 濃度を上昇する (図 2.20)^{47,187,136}。

神経伝達物質としての NO の重要性は中枢神経系における可塑性への関与が明らかになるにつれて認められるようになった。図 2.21 は NO を逆行性伝達物質とする海馬シナプスにおける長期増強 (LTP) のモデルである⁵⁵。LTP が生じるとシナプス前膜からの伝達物質 (グルタミン酸) が増大するが、それにはシナプス後細胞への Ca^{2+} 流入が不可欠である。したがって何かの逆行性伝達物質が存在し、シナプス後細胞における Ca^{2+} 濃度上昇をシナプス前細胞に伝えると考えられていた。NO はまさにその逆行性伝達物質の有力な候補と目された。海馬

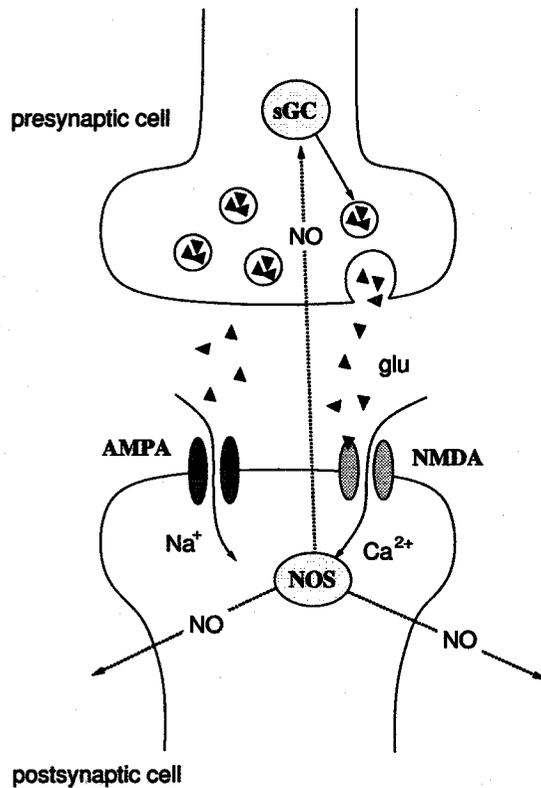


図 2.21: NO を逆行性伝達物質とする LTP のモデル.

LTP のほか、大脳皮質における LTP や小脳における長期抑圧 (LTD) との関与も示され、NO は脳の高次機能に密接に関わる物質と考えられるようになった^{75,76)}。

その後の中枢神経系における NO 研究はやや混沌としている。初期に示された明快かつ単純な筋書きには必ずしも従わないことがわかってきたのである。NO がなんらかの重要な役割を果たしているには違いないものの、そのメカニズムについてはまだ不明な点も多い。混乱のひとつの理由としてシナプスの可塑性という現象自体を単純に捉えすぎたということが考えられる。中枢神経系における NO の機能の解明は今もなお重要なテーマである^{75,76)}。

網膜における NOS の所在

NOS は網膜神経系にも多く存在する。したがって NO が網膜での視覚情報処理になんらかの役割を果たすと考えられる。NOS は網膜内のほぼすべての神経細胞 (視細胞・水平細胞・双極細胞・アマクリン細胞・神経節細胞) およびグリア細胞 (ミュラー細胞) で見出されているが^{12,32,57,137,142,200,207)}、ただし NOS の分布は動物種によって異なり、ひとつの動物種の網膜細胞すべてに NOS が存在するというわけではない。

魚類網膜における NOS の局在もいくつかの研究で調べられている。Weiler と Kewitz は NADPH ジアホラーゼを NOS のマーカーとしてコイ網膜における NOS の局在を調べた²⁰⁷⁾。彼らの結果によれば、NOS は錐体の外節部、水平細胞と神経節細胞が強くラベルされた。また内顆粒層では ON 型双極細胞のサブタイプがラベルされた。水平細胞では特に H1 水平細胞の細胞体がラベルされており、ほかのサブタイプや軸索終末はラベルされなかった。Djamgoz らのグループも同じく NADPH ジアホラーゼでコイ網膜における NOS の局在を調べた³²⁾。彼らの結果によれば、視細胞の内節部の ellipsoid が強くラベルされた。また水平細胞の細胞体もラベルされたが、軸索終末はラベルされなかった。このほか（おそらく）rod 型双極細胞、アマクリン細胞、神経節細胞、ミュラー細胞がラベルされた。両者の結果に相違点が生じた理由は不明だが、以下の点は両者に共通する結果である。すなわちコイの外網膜において NOS は視細胞と水平細胞に存在し、しかも水平細胞では細胞体に限って NOS が存在する。これら両者の共通点については信頼できる結果と思われる。

光応答特性に対する NO の効果

NO は sGC を活性化して細胞内 cGMP 濃度を上昇させるため、cGMP を細胞内メッセンジャーとする視細胞の phototransduction や ON 型双極細胞の APB 受容体の特性を変えると考えられる。Schmidt らのグループは単離した桿体視細胞を用いて、NO が桿体の光応答特性を変えることを示した^{132,158,192)}。Kurenny らも桿体のイオンチャネル特性が NO によって変化することを示した⁹⁸⁾。また Savchenko らは NO は視細胞の外節部のみならずシナプス部にも効果があることを示した¹⁵⁷⁾。

Shiells と Falk は NO が ON 型双極細胞の光応答特性を変えることを示した¹⁶⁴⁾。Ahmad らは APB 受容体を持つ神経節細胞の特性が NO によって修飾を受けることを示した²⁾。以上のことから NO は網膜における視覚情報処理においてなんらかの役割を果たしていると考えられる。ただし NO がこれらの細胞で生じる特性変化が視覚情報処理上で果たす機能的な意義はよくわかっていない。

水平細胞においては NO が細胞内 cGMP 濃度を上昇させてギャップ結合を切断する働きがあることが示された^{105,119,120)}。すなわち水平細胞のギャップ結合および受容野に対して NO はドーパミンや明順応と同様の効果を持つ。また双極細胞においても NO がギャップ結合を閉じることが示された¹⁵⁵⁾。

McMahon と Ponomareva は水平細胞のシナプス特性が NO によって明順応と同じ変化を生じることを示した¹¹⁴⁾。Greenstreet らはリボンシナプスにおける水平細胞の spinule が NO によって形成されることを示した⁵⁸⁾。これらの結果は NO が水平細胞に対して明順応信号として光応答特性を変える働きがあることを示唆している。

3 次ニューロンであるアマクリン細胞においては興味深い仮説が提案されている。哺乳類の網膜には、桿体系の情報を錐体系へ伝える AII アマクリン細胞がある。AII アマクリン細胞は桿体型双極細胞からシナプス入力を受け、錐体系の ON 型双極細胞とギャップ結合を介して情報を伝えている (図 2.22)。暗順応時にはこのギャップ結合を介して桿体系の情報が錐体型視細胞を経由して神経節細胞へと伝わる。一方明順応時には NO がギャップ結合を閉じ、桿体系

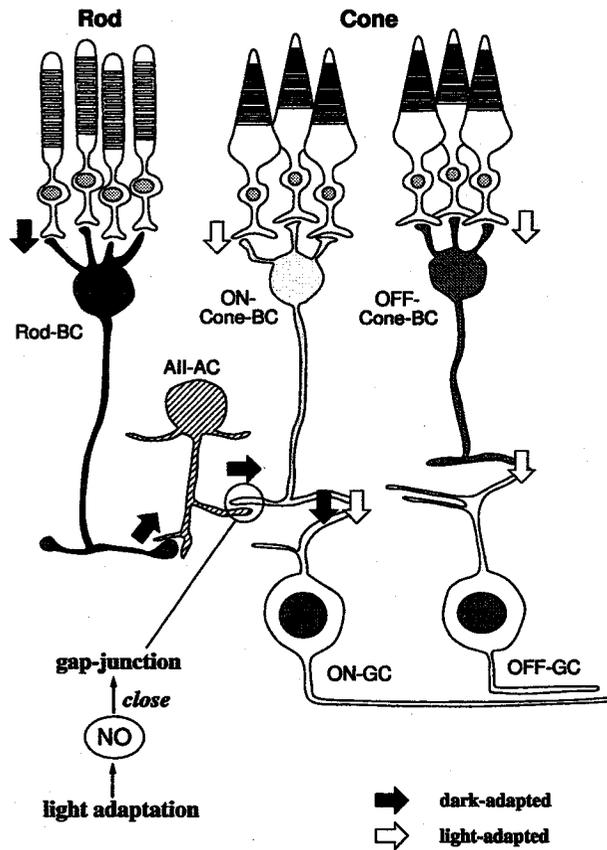


図 2.22: AIIアマクリン細胞による桿体系—錐体系のスイッチング仮説

から錐体系への情報経路を遮断するというものである¹¹⁶⁾。

以上の知見はNOがどれも明順応信号として働くことを示唆するが、しかしNOが実際に明順応時に放出されることを直接示した研究はまだ少ない。NOSの活性が光順応や概日リズムによって調節されるという報告が若干存在する程度で、詳しいことはまだ分かっていない^{156,234)}。

もしNOが明順応信号ならば、網膜内にはドーパミンとNOという異なる信号が存在することになる。両者は独立した順応メッセンジャーとして並立しているのか、あるいは一方が他方の生成を促す直列の関係なのかはわかっていない。ただしNOがドーパミンの放出を抑えるという結果は報告されている^{15,33)}。

レチノトピー形成への関与

網膜の神経節細胞は軸索(視神経)を長く伸ばし、中枢(外側膝状体、視蓋)へと投射する。視神経の投射には一定の規則があり、網膜における位置関係や機能に応じて規則だった結

合を形成する。これをレチノトピーという。発生の初期段階では視神経終末が広く枝分かれして無秩序にシナプスを形成するが、レチノトピーの形成に伴って不要なシナプスは削除され、機能単位に分かれた層状構造を形成する。

フェレットの場合、網膜から外側膝状体への視神経投射は生後1週間で左右それぞれの目からの投射が分離して層構造を形成する。そして生後3~4週になると光刺激に対してON応答を示すラミナとOFF応答を示すラミナに分離する。このときON/OFFそれぞれのラミナにはON/OFF型神経節細胞からの視神経が投射する。すなわち生後1週の時点ではON/OFF型神経節細胞からの軸索終末が混じりあって無秩序にシナプスを形成していたのが、週齢3~4週の間に必要な経路だけを残して他のシナプスは消滅するのである²⁰⁾。

このON/OFFラミナの形成にはLTP同様に逆行性伝達物質の問題が存在する。なぜなら視神経の不要な側枝が消えるためにはシナプス後細胞のNMDA型グルタミン酸受容体の活性化が必要となるからである。実際、外側膝状体のNMDA受容体をブロックするとON/OFFラミナの形成が阻害される。したがって何らかのメッセンジャーがシナプス後細胞から前細胞(すなわち視神経)に情報を伝えていることになる。NOはこの逆行性伝達物質であることが突き止められた。NOSを阻害するとラミナの形成も阻害されることが示され、またラミナの形成時にNOS活性が高まることがわかったのである^{20,21)}。同様の結果はヒヨコのレチノトピーでも見出されている^{213,217)}。

2.4 第I部の目的と概要

本論文第I部の目的は、外網膜、特に錐体型水平細胞における光応答特性の調節機構を明らかにすることである。直接の目標としては、電気生理的な手法でNOおよびAPB受容体を介した特性調節機構が水平細胞に存在することを示し、そのメカニズムを明らかにすることである。

今まで多くの研究者が外網膜の情報伝達経路を詳細に記述しようと試みてきた。だが詳細な記述を試みれば試みるほど、網膜に存在する単なるディティールの記述に陥りやすい。本論文は単にNOやAPB受容体を介した網膜神経回路の調節機構の存在を示すのみならず、順応や色情報処理の観点からその機能的意義を明らかにすることを目指すものである。

第I部の構成は以下の通りである。3章では水平細胞に対するドーパミンおよびAPBの効果を示す。この章は本研究の出発点となった実験結果の概説である。4章から本題に入り、水平細胞(おもにH1)に及ぼすNOと順応の効果を明らかにする。4章ではH1およびH2の波長特性が順応及びNOによって受ける影響について述べ、NOが明順応と同じ効果を持つことを示す。5章ではH1の入力抵抗を測定し、光刺激に対する膜抵抗変化(すなわちイオンチャネルの開閉)を調べ、短波長感受性のシナプス入力があること、そしてそれが順応とNOによってコントロールされることを示す。6章は受容野の測定実験である。H1の受容野には波長依存性があることを示し、NOや順応が受容野の波長依存性に及ぼす効果について述べる。7章では以上の実験結果について総括し、全体的な討論を行う。

第 3 章

H1 水平細胞における波長依存現象と 短波長性入力存在

3.1 はじめに

コイ網膜は色情報処理に関する神経系を極めてよく発達させている。錐体は UV 錐体を含めて 4 種類あり、また錐体型水平細胞も 3 種類存在する。3 種の錐体型水平細胞は、(1) すべての波長の光刺激に対して過分極応答を示す H1, (2) 赤/緑の反対色応答を示す H2, (3) 赤青/黄の反対色応答を示す H3 に分けられる。これら 3 種の錐体型水平細胞の波長応答特性は錐体から水平細胞へのフィードフォワードおよび水平細胞から錐体へのフィードバックで作られる。そのため錐体と水平細胞の各サブタイプ間でどのようなシナプス結合がなされているかは外網膜における重要な問題であり、多くの研究がなされてきた。

H1 は赤錐体から主入力を受けるため、H1 の波長特性はおおむね赤錐体のものと一致する。しかし両者の波長感度曲線は厳密な一致をみない。また H1 の光刺激強度と応答振幅の関係は univariance に従わないことや、刺激光の波長によって受容野の大きさが異なることが知られている^{103,182,225}。また長波長と短波長の光刺激を同時に与えた場合に非線形な相互作用が生じる^{94,226}。以上のことから、H1 へは直接あるいは間接的に短波長感受性錐体からの入力が存在すると考えられる。しかしどのような信号伝達経路が存在し、どのようなメカニズムで上記のような刺激光の波長に依存した現象が生じるかは未解決の問題である。

ON 型双極細胞で APB 感受性のグルタミン酸受容体が見出され、しかもそれが伝達物質によってイオンチャネルが閉じる「抵抗増大型」シナプスであったこと、そして視細胞の phototransduction と極めて類似した細胞内情報伝達経路を持っていたことは網膜の研究においてひとつのニュースであった^{128,161,162,163}。APB 受容体が網膜における視覚情報処理で果たす役割を解明する流れの中で、APB は水平細胞の光応答に対しても効果があることが見出された^{41,63,129,178,227}。

本章では短波長感受性錐体から H1 への（直接もしくは間接の）シナプス入力が存在し、そのシナプスはおそらく APB 受容体を持つことを示す過去の実験結果を紹介する。H1 の主入力は赤錐体であり、しかも赤錐体はすべての波長に対して応答を示すことから短波長感受性錐体から H1 への入力は常に赤錐体からの入力に埋もれて直接観測することができない。そこで

赤錐体と短波長感受性錐体からの入力をいかに分離するかが実験上のポイントとなる。本章では以下の実験について紹介する。

- i) 背景光による短波長成分の分離。長波長領域の光刺激に対しては赤錐体のみが応答を示す。そこで強い長波長の背景光を与えて赤錐体の応答を飽和させ、その状況下で短波長の光刺激を与えることで短波長感受性錐体からの入力成分を直接観察する。
- ii) 入力抵抗測定実験。光刺激は錐体からの伝達物質放出を減少させ、それに伴い水平細胞はシナプスチャネルが閉じて過分極する。そのため水平細胞の膜抵抗は光刺激によって増大する。もし同じ膜電位変化に対して異なる入力抵抗変化を細胞が示しうるならば、そこには少なくとも2種類以上の反転電位の異なるシナプスが存在することになる。
- iii) 受容野の波長依存性。H1の受容野の大きさが波長によって異なり、短波長(青)に対して狭く、長波長(赤)に対して広がることを示す。赤錐体からの単一の入力ではこのような波長に依存した受容野サイズの変化は生じない。
- iv) APBがH1の膜電位に及ぼす効果。APBの投与によってH1の静止電位(暗時の電位)および光応答に生じる効果を調べる。

3.2 実験方法

実験方法の概略は以下の通りである。実験動物として通常のコイあるいはミラーコイ(ドイツコイ)を用いた。網膜を取り出すに先立ち、約10~20分暗順応させた。これはretinomotor movementにより網膜が剥離しやすくなるため、網膜を摘出する上で必要な処置である。眼球を取り出して二つに切り、網膜を取り出す。取り出した網膜は視細胞側を上にしてチェンバーにセットし、リンゲル液で灌流した。

標準リンゲル液(Normal-Ringer)の成分は以下の通り。NaCl: 102mM, NaHCO₃: 28mM, KCl: 2.6mM, CaCl₂: 1mM, MgCl₂: 1mM, glucose: 5mM。この溶液をO₂:95%, CO₂:5%の混合ガスでバブリングし、pHを7.6に維持した。ドーパミン(DA)を投与するときはNormal-Ringerに5~10 μ MのDAと還元剤として5倍の濃度のアスコルビン酸を加えた(DA-Ringer)。APB-RingerはNormal-RingerもしくはDA-Ringerに1mMのD,L-APBを加えたものである。

光刺激の光源としてハロゲンランプを用い、干渉フィルタを通して単波長光にした後、網膜に照射した。またスポット(spot)や環状(annulus)の光刺激も可能である。細胞の膜電位はガラス微小電極法で記録した。ガラス電極は3M KClで充填し、その際の電極抵抗は50~150 M Ω であった。

細胞の入力抵抗測定はブリッジバランス法を用いた。水平細胞は互いにギャップ結合でつながっているため、入力抵抗を測定する際はリンゲル液としてDA-Ringerを用いてあらかじめギャップ結合を閉じた。微小電極から1.0~1.5nAの電流を注入し、微小電極アンプのブリッジ回路を用いて抵抗変化を測定した。

なお本章の目的は本論文の先駆けになったいくつかの実験結果を概説することにあるため、ここでは個々の実験に関する詳しい説明を割愛する。したがってそれぞれの実験の方法および結果についての詳細な情報に関しては文献を参照されたい^{37,222,223,231,232}。

3.3 実験結果

3.3.1 赤色背景光による短波長成分の分離

700nm 前後の長波長光は赤錐体のみが感受性を持ち、他の錐体は応答しない。したがって強い長波長光を背景光として用いることで赤錐体の応答を飽和させることができる。Tauchiらは intact のコイ網膜を用いて、赤 (655nm) 背景光下で緑 (502nm) の光で刺激すると H1 が脱分極応答を示すことを見出した¹⁸¹。Yamada および筆者らは同様の実験を単離網膜で行った。その結果、Tauchi らと同様に短波長光に対する脱分極応答が赤背景光下で観察された (図 3.1)²²²。

3.3.2 光誘起性入力抵抗変化の波長依存性

光刺激は視細胞からの伝達物質を減少させ、水平細胞のシナプスチャネルを閉じる。した

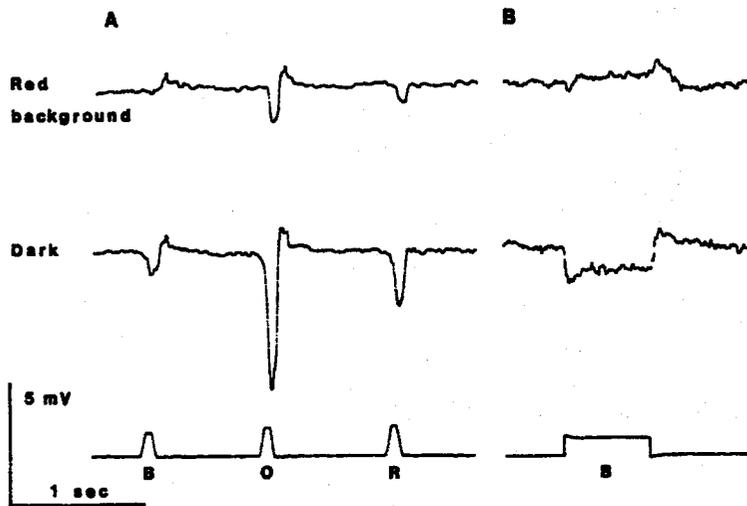


図 3.1: 赤背景光下における H1 の短波長刺激に対する脱分極応答。(A) 単離した網膜を等光子量の青 (B: 460nm), 橙 (O: 599nm), 赤 (R: 688nm) の短波長光で刺激した。背景光がない時 (下段) はすべての波長に対して H1 は過分極応答を示すが、赤背景光を与えると (上段) 青光刺激に対して脱分極応答を示した。なお背景光は 650nm 以上の波長に透過性のある cut-off filter を用いて生成した。(B) 光刺激の持続時間を長くした場合 (650msec)。²²²

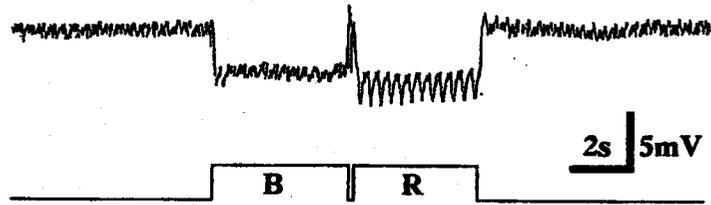


図 3.2: H1 水平細胞の光誘起性入力抵抗変化. 入力抵抗変化は光刺激の波長に依存し, 赤光刺激 (674nm) に対して大きく, 青光刺激 (460nm) に対して小さな変化量を示す. 注入電流は -1.0nA で 1mV 負方向への電位変化が入力抵抗 $1\text{M}\Omega$ の増大を示す. ⁵²⁾

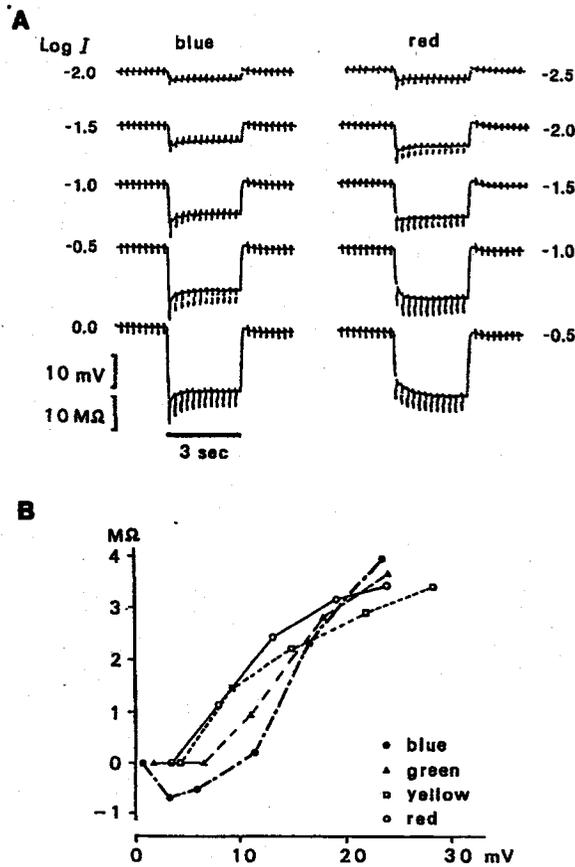


図 3.3: 光誘起性入力抵抗変化の波長依存性. (A) 青 (460nm)・赤 (694nm) の光刺激強度を変えたときの入力抵抗変化. 電流は -1.2nA . (B) 光誘起性入力抵抗変化の膜電位および刺激波長に対する依存性. 青光刺激に対して負の抵抗変化 (すなわち抵抗減少) を示した. ²²²⁾

がって水平細胞の入力抵抗は光刺激によって増大する（ここでは“光誘起性入力抵抗変化”と呼ぶ）。もし水平細胞が単一のシナプスメカニズムしか持たないのであれば、刺激光の波長に依らず常に応答振幅と入力抵抗変化の間には一定の関係が存在する。図 3.2 は青・赤の 2 種類の波長に対する光誘起性入力抵抗変化を測定した記録例である。水平細胞の応答振幅は青・赤ともに等しいにも関わらず入力抵抗変化には違いが生じ、赤の場合により多く増大した⁵²⁾。

Yasui らはさまざまな波長および光強度を用いて光誘起性入力抵抗変化を測定した(図 3.3)²³¹⁾。光誘起性入力抵抗変化は赤光刺激に対して常に増加を示したのに対し、青光刺激に対しては入力抵抗変化も少なく、また光強度が弱いときは負の変化（すなわち入力抵抗の減少）を示した(図 3.3)。なお以上の実験はギャップ結合を閉じるために DA-Ringer 下で行った。

3.3.3 受容野の波長依存性

H1 水平細胞の受容野は波長依存性を持ち、長波長光刺激に対する受容野は短波長に対する受容野よりも広いことが知られている^{81,82,103,182)}。図 3.4 は spot/annulus 刺激を用いて H1 受容野の波長依存性を示したものである。spot 応答に対して annulus 応答が大きいほど受容野が広いことを意味する。すなわち応答振幅の annulus-spot 比 (A/S 比) が大きいほど受容野が広い。A/S 比は一貫して赤光刺激の方が青光刺激より大きかった。すなわち赤光刺激に対する受容野 (赤受容野) は青光刺激に対する受容野 (青受容野) よりも広いことになる。H1 受

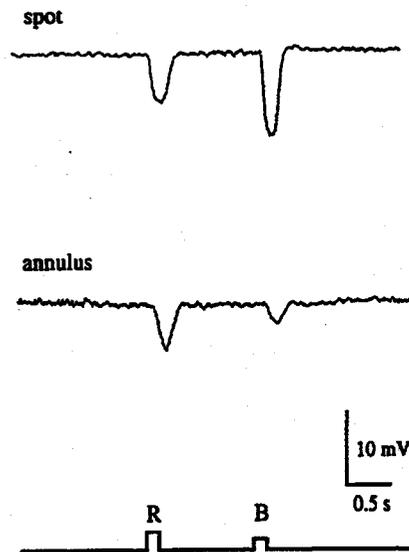


図 3.4: H1 水平細胞受容野の波長依存性. spot/annulus 刺激に対する応答例. 赤 (700nm) に対する応答振幅の annulus/spot 比 (A/S 比) は 1.19 ± 0.04 , 青 (460nm) に対する A/S 比は 0.63 ± 0.03 であった (31 細胞, means \pm standard error). したがって赤光刺激に対する受容野は青光刺激に対するものよりも有意に大きい ($P < 0.01$).

容野サイズの波長依存性はスリットを用いた光刺激でも確認され、ここでも赤受容野は青受容野よりも広がった。

3.3.4 ドーパミンおよび APB の効果

ドーパミンの効果

H1 水平細胞の膜電位および光応答に及ぼす $5\mu\text{M}$ ドーパミン (DA) の効果を調べた。図 3.5 は代表的な記録例である。DA によって H1 の暗時の静止電位は $9 \pm 1\text{mV}$ (mean \pm standard error; $n = 12$) 脱分極した。DA の投与を止めると H1 の膜電位は徐々に戻り始めたが、しかし DA の効果は長く残り (数十 min)、同一の細胞で十分な回復を確認することはできなかった。

実験の期間を通して赤 (688nm) と青 (460)nm の光刺激を網膜全体に与えた。両者の光強度は等光子数になるように合わせた ($4.4 \times 10^5 \text{ quanta}/\mu\text{m}^2/\text{sec}$)。図 3.5 では、赤光刺激に対する応答 (赤応答) は DA によって 4.9mV から 5.5mV へと増大したが、青応答は 3.1mV から 2.7mV へと逆に減少した。平均すると DA によって赤応答は 43% 増大し、一方青応答はわずか 5% の増大とほとんど効果が見られなかった (表 3.1)。

APB の効果

H1 水平細胞に対する APB の効果を調べた。APB は 1mM の濃度で用いたが、 $50\mu\text{M}$ で

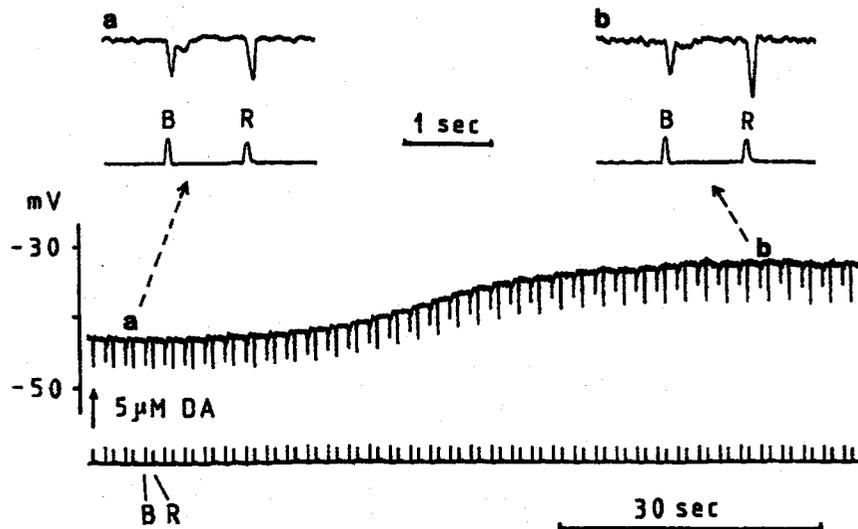


図 3.5: H1 水平細胞に対する $5\mu\text{M}$ ドーパミン (DA) の効果。テスト光として青 (B: 460nm) と赤 (R: 688nm) の一様光を交互に与えた。DA は H1 の静止電位を脱分極させ、赤応答を増大させた²²²⁾。

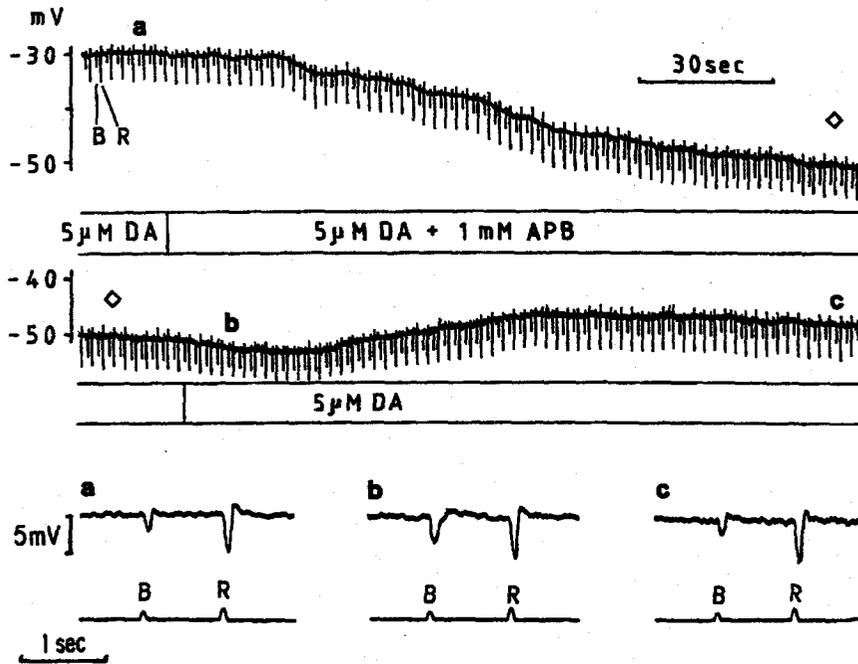


図 3.6: 5 μM DA 存在下での 1 mM APB の H1 水平細胞への効果. APB は H1 の静止電位を過分極させ, また青 (460nm) に対する光応答を増大させた²²²⁾.

表 3.1: H1 水平細胞に対するドーパミン (DA) および APB の効果. 青 (460nm)・赤 (688nm) の光応答振幅の変化率および静止膜電位変化値.

	光応答変化率 (%)		膜電位 変化 (mV)	細胞数
	blue	red		
5 μM DA	5 \pm 8	43 \pm 10	9 \pm 1	12
1 mM APB + 5 μM DA	73 \pm 23	-23 \pm 13	-17 \pm 4	5

も同様の効果が観察された。まず APB を単独で与えたところ、H1 の膜電位は大きく過分極 (control から比べて約 -30mV) し、光応答が消失した。APB の同様の効果は Nawy からもキンギョ網膜で確認している¹²⁹⁾。また Nawy らは APB が RHC に対して効果がないことを報告している。

APB は ON 型双極細胞を強く刺激するため、間接的に IP 細胞からの DA 放出に影響を及ぼすと考えられる。したがって APB が H1 に及ぼす効果は、H1 に対する直接的な効果と IP 細胞を介した間接的な効果の両方が考えられる。そこで IP 細胞からの間接効果を取り除くため、 $5\mu\text{M}$ の DA を常に灌流した状態で APB を投与する実験を行った。図 3.6 はその代表的な記録例である。APB は H1 の暗時の静止電位を過分極させたが ($-17 \pm 4\text{mV}$) 光応答は消失しなかった。また青光応答が増大したのに対して赤応答は逆に減少した。5 細胞の平均を見ると、青応答は $73 \pm 23\%$ の増大、赤応答は $23 \pm 13\%$ の減少であった (表 3.1)。

3.4 討論

以上に紹介した実験結果はどれも H1 に短波長性の入力が存在することを示している。それぞれの実験結果についてどのような解釈が可能であるか、以下に検討してみたい。

3.4.1 赤色背景光による短波長成分の分離

強い赤色背景光で赤錐体応答が飽和した状態で、H1 は青 (460nm) の光刺激に対して脱分極性の応答を示した。赤錐体が完全に飽和しているのであれば、この脱分極応答は赤錐体以外の錐体、もしくは H2, H3 の錐体型水平細胞に由来すると考えられる。ただしこれらの細胞はすべて 460nm の短波長光に対して過分極の応答を示すことから、H1 への入力経路のどこかに符号反転性のシナプスが存在することになる。

赤背景光下で H1 は橙色 (599nm) の光刺激に過分極応答を示した。これは緑錐体由来の応答であろう。なぜならばこの波長に感受性を持つのは赤錐体と緑錐体のみだからである。また UV 錐体は感度が短波長側に偏りすぎているため、H1 への符号反転型の短波長性入力の源は青錐体か、あるいは H2 (もしくは H3) からのものと考えられる。

視細胞の放出する伝達物質はグルタミン酸 (Glu) であり、水平細胞の Glu 受容体は AMPA/KA 型である。AMPA/KA 型の Glu 受容体を持つシナプスは興奮性の符号保存型シナプスである。もし H1 の短波長性入力が青錐体からの直接入力によるならば、それは AMPA/KA 型以外の Glu 受容体かもしくはまったく異なる伝達物質を用いているはずである。

一方、H1 の符号反転型の短波長性入力が H2 からのものであるとすれば、おそらく視細胞へのフィードバック経路を介していると考えられる。水平細胞の放出する伝達物質は GABA であり、これは視細胞に対して抑制性シナプス、すなわち符号反転型の信号伝達経路を形成する。なお H1 自身も GABA_C 受容体を持つため水平細胞—水平細胞間の直接の入力経路が存在することも考えられる。しかし水平細胞の Cl⁻ の反転電位は暗時の静止電位より高いところにあるため、GABA は符号保存型のシナプスとして働く。さらに H1 の GABA transporter も electrogenic であるが、これも細胞外の GABA 濃度上昇に対して脱分極を引き起こすため

信号の符号は保存される。したがって H2 から H1 への入力は視細胞へのフィードバックを介した間接的なものしか候補に残らない。

以上のことから次の二つの可能性が最終的に残る。

- (1) 青錐体の出力が符号反転性のシナプスを介して H1 へ直接入力される。この場合、H1 へのシナプスは抑制性（符号反転型）シナプスでなければいけない。
- (2) H2 もしくは H3 の応答がいずれかの錐体にネガティブフィードバックされ、その結果が H1 へフィードフォワードされる。フィードバック経路は GABA (GABA_A) 受容体を介し、フィードフォワードは通常の Glu (AMPA/KA) 受容体を介する。

この実験の結果のみではこれら二つの仮説のどちらが正しいのか区別することができない。

3.4.2 光誘起性入力抵抗変化の波長依存性

視細胞は暗時に伝達物質を放出し、光刺激によって放出量が減少する。したがって水平細胞のシナプスチャネルは暗時に開いており、光刺激によって閉じる。そのため水平細胞の膜抵抗は光刺激によって増大する。もし水平細胞に1種類のシナプス受容体しかない場合、細胞の膜電位はオープンしているシナプスチャネルの数で一意的に決まる；すなわち細胞の膜電位と入力抵抗はひとつの関数として一義的に決まる。もし同一の膜電位に対して異なる入力抵抗値を取りうるならば複数種類のシナプス受容体が存在すると考えられる。この原理は神経細胞間のネットワークの複雑さとは無関係で、たとえば細胞間にフィードバック結合がある場合でも同じ原理が成立する。

H1 における光誘起性入力抵抗変化を測定した結果、刺激光の波長依存性が確認された。すなわち同じ膜電位変化を生じる光刺激であっても、波長に応じて入力抵抗の変化が異なることが明らかになった。このことから、H1 には複数のシナプス受容体が存在すると考えられる。

赤 (694nm) 光刺激に対して、H1 の光応答振幅が大きくなるにつれて入力抵抗変化も大きくなった。694nm の波長では赤錐体のみが感受性を持つ。また赤錐体は H1 の主入力であることから、この波長に対する光誘起性入力抵抗変化はほぼ赤錐体からのシナプス入力によって引き起こされたと考えられる。赤錐体から H1 へのシナプスは AMPA/KA 型の Glu 受容体を介している。AMPA/KA 型の Glu 受容体は通常のイオンチャネル型興奮性シナプスであり、光応答振幅と入力抵抗変化の間の比例関係は理論的に見ても矛盾がない。

一方青 (460nm) 光刺激に対しても光誘起性入力抵抗変化は応答振幅の増大とともに増加したが、しかしその値は赤光刺激の場合より小さく、また応答振幅が小さいところでは入力抵抗が減少（すなわち変化値が負になる）した。460nm の光刺激に対してはすべての視細胞が感受性を持ったため、依然として赤錐体からの入力が主たる入力元であることには違いない。しかし赤錐体入力とは別の短波長性入力があり、その短波長性入力が H1 の入力抵抗を減少させると考えられる。

では短波長に感受性があり、しかも光刺激に対して H1 の入力抵抗を減少させるようなシナプス入力としてはどのようなものが考えうるだろうか。まず H2/H3 から赤錐体を經由して H1 へ入るようなフィードバック経路は除外される。なぜなら光誘起性入力抵抗変化の原理か

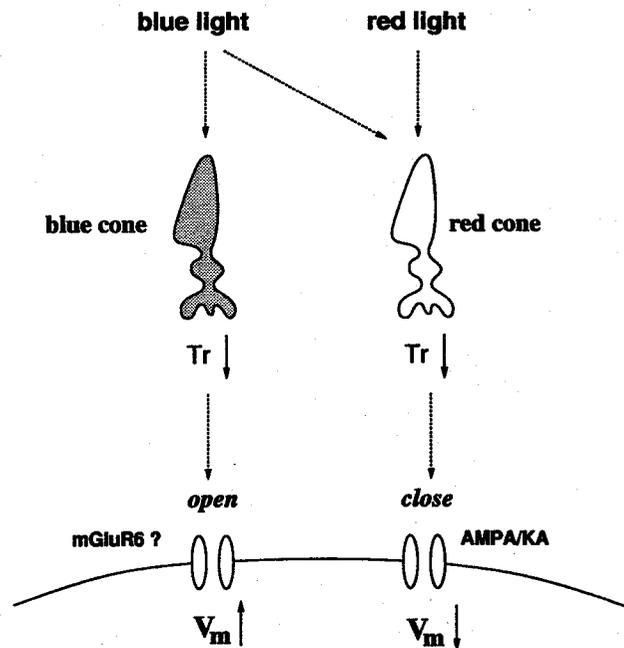


図 3.7: 青錐体から H1 への符号反転型・チャネルクローズ型の代謝型シナプスの存在を仮定した作業仮説. 光刺激によって赤錐体からの伝達物質 (Tr) は減少し, 水平細胞のシナプスチャネルがクローズする. 一方青錐体からの伝達物質も光刺激によって減少するが, 水平細胞のシナプスチャネルは伝達物質減少に対して逆にオープンする. 青錐体から水平細胞へのシナプスとしては ON 型双極細胞と同じ APB 受容体が候補である.

ら考えて, 短波長成分の入力は独立したシナプスメカニズムを H1 自身に持っていると考えられるからである. また H2/H3 から GABA を介した H1 への直接入力経路も考えられない. なぜなら H2/H3 は 460nm の光刺激に対して過分極応答を示すため, 光刺激は H2/H3 の GABA 放出を減少させ, H1 の GABA_C 受容体の Cl⁻ チャネルを閉じる (すなわち抵抗増加) させるためである.

どの錐体および水平細胞のサブタイプも青光刺激に対して過分極応答を示し, 同時に伝達物質放出量が減少する. したがって H1 の短波長性入力がどの細胞からのものであっても, そのシナプス入力は伝達物質の増加に対してチャネルが閉じるようなものでなければ説明がつかない. すなわち通常のチャネル型シナプス受容体ではなく代謝型のシナプス受容体であると考えられる. また H1 が赤色背景光下で脱分極性の光応答を示すことから, それは符号反転型 (抑制性) のものと考えられる. 図 3.7 はこれらの現象を説明するもっともシンプルなモデルである. すなわち青錐体から H1 への入力は符号反転型の代謝型シナプス受容体が存在するというものである. なお本モデルにおける青錐体を他の短波長感受性細胞 (たとえば H2 等) を考えても理論上はかまわない. しかし形態的な結合関係や同定されている伝達物質等から考えて青

錐体をもっとも自然であろう。

ON型双極細胞が持つ APB 受容体は図 3.7 のモデルにうまく当てはまる。したがって青錐体から H1 へのシナプスが ON型双極細胞と同じ APB 受容体であると仮定すると H1 の脱分極性応答や光刺激による入力抵抗の減少などがうまく説明つく。

3.4.3 受容野の波長依存性

H1 の受容野は刺激光の波長に依存し、長波長のときに大きく、短波長のときに小さくなった。この現象も赤錐体からのみの入力では説明がつかない。受容野の波長依存性を説明するひとつのモデルは、H2/H3 から錐体へのフィードバックを考えるものである。たとえば H2 は短波長光に対して過分極応答を示す。H2 は互いにギャップ結合で結ばれて広い受容野を持つため、H2 からのネガティブフィードバックは錐体の応答を広い範囲にわたって抑制する。その結果 H1 にも受容野周辺部に対して抑制がかかり、見かけ上受容野が狭くなる。この抑制は刺激光が短波長光のときにのみ働くため、長波長光と短波長光とで受容野の大きさが変化して見える。

受容野の波長依存性は図 3.7 のモデルでも説明できる。ケーブル方程式によれば、受容野の大きさを決める距離定数 λ は水平細胞の膜抵抗 R_m とギャップ結合による細胞間抵抗 R_c によって決まり、 $\lambda \propto \sqrt{R_m/R_c}$ で表される。光誘起性入力抵抗変化の測定実験の結果に従えば、 R_m は長波長光に対して大きく短波長光に対して小さくなる。したがって λ も長波長に対して大きくなると説明できる。

3.4.4 ドーパミンおよび APB の効果

ドーパミン (DA) によって H1 は暗時の静止電位が脱分極した。また DA によって赤応答の振幅が増大したが、青応答はほとんど変化しなかった。Knapp と Dowling は DA が水平細胞の Glu 受容体の感受性を高めることを示した⁹⁶⁾。DA は AMPA/KA 受容体の脱感作を抑えることで感度を上げると考えられる。視細胞は暗時に Glu を放出しつづけているため、DA が H1 の静止電位を脱分極させた理由はこの効果であると考えられる。また赤応答の増大も同じ理由で説明できる。一方青応答が変化を受けなかったことについては現在のところうまく説明できない。しかし明順応状態になると青応答の感度が赤応答に対して相対的に下がることから、DA を与えることでより明順応状態に移行したのではないかと考えられる。

APB を単独で与えると、H1 の膜電位はほぼ -60mV まで過分極して光応答が消失した。しかし DA を常に与えている状態では少しの過分極が見られるのみだった。この原因はわからないが、次のような説明が可能だろう。持続的な APB の投与は ON型双極細胞にとって持続的な暗闇状態を意味する。すなわち APB は ON型双極細胞を過分極させ、それが IP 細胞の活動を抑えて DA 放出が減少する。その結果 AMPA/KA 受容体に脱感作が生じ、膜電位は過分極して光応答も小さくなる。DA を APB と併せて与えることで IP 細胞を介したフィードバックの効果を抑えることができ、APB が H1 に直接与える効果を観察することが可能になった。

DA の存在下で APB は H1 の膜電位を少し過分極させ、また青応答の振幅を大きく増大させた。DA を持続的に与えていることから、これらの効果は ON型双極細胞と IP 細胞を介し

たフィードバックの効果ではなく、H1 への直接の効果と考えられる。もし H1 に ON 型双極細胞と同じ APB 受容体が存在するならば、APB はや H1 を過分極させるはずである。また APB は H1 は符号反転型の短波長性入力を抑えてしまうため、青応答振幅が増大するはずである。これらの予想は実験結果と一致する。したがって本実験結果は H1 に APB 受容体を介した青錐体からのシナプス入力が存在することを示唆するものと言える。

3.5 まとめ

H1 水平細胞には次のような波長依存性の現象が存在する。

- 光誘起性入力抵抗変化の波長依存性。長波長の光刺激に対しては、H1 の膜電位変化量とほぼ比例して細胞の入力抵抗が増大する。しかし短波長光に対する入力抵抗の増大量は長波長光の場合より小さく、場合によっては入力抵抗の減少すら見られた。光誘起性入力抵抗変化の波長依存性は H1 に少なくとも 2 種以上の異なるシナプスメカニズムが存在することを示しており、そのうちの一つは短波長成分の情報伝達を担っている。
- 受容野の波長依存性。長波長光に対する H1 の受容野は短波長光に対するものよりも小さい。

また H1 について次の現象が見られた。

- 赤色背景光下で短波長光に対して脱分極性の光応答が観察された。
- DA の存在下での APB 投与は H1 に過分極を生じ、同時に青応答を増大させた。

以上の現象すべてを説明しうるモデルとして、ON 型双極細胞と同じ APB 受容体を介した短波長性の入力を持つ作業仮説 (図 3.7) が考えられる。

もし H1 が APB 受容体を持つならば、cGMP をメッセンジャーとする細胞内メカニズムが存在することになる。細胞内 cGMP 系に関わる物質は数多くあるが、その一つが一酸化窒素 (NO) である。次章以降では図 3.7 を作業仮説として念頭におきつつ、NO が H1 に及ぼす効果を述べる。

第 4 章

水平細胞の波長特性に及ぼす順応と NO の効果

4.1 はじめに

錐体型水平細胞の波長特性と順応による変化

コイやキンギョをはじめとする teleost はさまざまな波長特性を持つ錐体型水平細胞を発達させている。錐体型水平細胞は波長感度の異なる錐体から情報を受け取り、反対色特性などの新たな波長特性を生成する。したがって水平細胞の波長特性がどのように生成されているか、またそれが視覚環境に応じてどのように調節されているかは網膜における色情報処理の観点から見ても重要である。

錐体型水平細胞の波長特性は大別して L 型と C 型に分けられる。L 型は光刺激の平均的な明るさに応答する細胞であり、どの波長の光刺激に対してもまんべんなく応答を示す。コイ網膜では H1 が L 型である。一方 C 型は反対色特性を持ち、短波長領域と長波長領域で応答極性が反転する R/G 型 (H2)、中波長領域と短・長波長領域とで極性が反転する B/Y/R 型 (H3) がある。これらの波長特性は固定されたものではなく、順応に応じて変化することが知られる^{35,40,34}。

H1 はどの波長の光刺激に対しても過分極応答を示す。この波長特性は赤錐体に由来しており、赤錐体もまた H1 同様にすべての波長に感受性を持っている。しかし他の錐体から H1 への副次的な入力も存在する。また錐体型水平細胞から錐体へのフィードバックも存在するため、H2/H3 から H1 への間接的な入力も存在すると考えられる。前章で述べたように H1 は刺激光の波長に依存した応答特性を持っているが、これは緑/青錐体からの直接的、もしくは H2/H3 からの間接的な入力によって作られると考えられる。

H1 は赤錐体を主入力とするため、当然のことながら H1 の波長感度特性は赤錐体のものとよく類似する。しかし正確に測定すると赤錐体と H1 の間に若干の違いが存在する³⁰。この波長感度特性のズレは、赤錐体以外の細胞からの H1 への入力を反映していると考えられる。また H1 の波長特性は順応状態にも依存し、明順応状態では暗順応状態と比べて青応答が相対的に抑えられる^{35,40}。このことはすなわち、H1 への複数入力の強度バランスが順応状態に変化することを意味する。

H2 の波長特性は H1 以上に劇的な変化を示す。明順応状態において H2 は短波長領域で過分極、長波長領域で脱分極の光応答を示すが、暗順応するに連れて過分極応答を示す波長領域が増え、最後には全波長領域で過分極応答を示すようになる³⁴⁾。H2 の 2 相性の波長特性は H1 から錐体への負帰還によって形成される。したがって H2 の波長特性変化は水平細胞から錐体へのフィードバック経路の変化によって生じると考えられ、また暗順応状態ではこのフィードバック経路が不活性化すると考えられる。視細胞のリボンシナプスに陥入する水平細胞の樹状突起先端には spinule という指状の構造が存在する。spinule は明順応によって形成し、暗順応によって消失する。それに合わせて H2 の波長特性が変化するため、spinule は水平細胞から錐体へのフィードバックの活性に関わる構造物と考えられる²⁰⁴⁾。

H1 への短波長性入力と一酸化窒素

一酸化窒素 (NO) は気体性の伝達物質であり、従来のシナプス伝達物質とはまったく異なる性質を持つ。NO は NO 合成酵素 (NOS) により合成され、可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC) を活性化して細胞内 cGMP 濃度を上昇する。網膜における NOS の存在はさまざまな動物で確かめられており、コイやキンギョの外網膜においても NOS が視細胞と水平細胞の細胞体に存在することが確認された^{32,200,207)}。また NO は水平細胞の細胞内 cGMP 濃度を上げ、その結果ギャップ結合を閉じることが示されている^{119,120)}。これらの結果から、コイの外網膜において NO が生成されており、また水平細胞が NO に感受性を持つものと考えられる。

NO が網膜内に存在することは示されたが、しかし NO がどのような情報を担っているのか、どのような機能的役割があるのかはわかっていない。しかし NO が水平細胞のギャップ結合を調節することから順応に関わる信号として働く可能性が考えられる。本章では NO が水平細胞の波長特性に及ぼす効果について述べるが、特に順応と類似した効果を持つかどうかを焦点になる。

前章では H1 におけるさまざまな波長依存特性を挙げた。またその説明の一つとして、H1 において APB 受容体が青錐体からの入力を介するという仮説を示した。APB 受容体は cGMP を 2 次メッセンジャーとする代謝型受容体であり、NO もまた sGC を活性化して細胞内 cGMP 濃度を変えることから、APB 受容体と NO の間になんらかの関係があることも考えられる。

本章の概要

以上をふまえ、本章では順応や NO が水平細胞の波長特性に与える影響を調べ、それを通じて水平細胞を中心とした外網膜ネットワークの結合関係とその特性を明らかにすることを試みる。また DA や APB が水平細胞に与える効果とも比較する。ここでは以下の点について述べる。

- 標準リンゲル液下での H1 の波長感度特性と順応による変化。
- H1 の波長特性に対する NO の効果。
- H1 の波長特性に対する DA, APB の効果。

- H2 の波長特性に対する NO の効果.

4.2 実験方法

網膜試料

実験動物として体重が約 200 ~ 300g のコイ (*Cyprinus carpio*) を用いた。コイは通常の昼夜サイクルの光環境下で飼育した。手術に先立ってコイを一時暗闇中に置く。これは視細胞の retinomotor movement により網膜を剥離しやすくするためであり、網膜を摘出する上で必要な処理である。このとき、暗闇中に置く時間は実験の目的によって変えた。明順応状態の網膜で実験する場合は約 10 分にし、暗順応状態で実験する場合は 2 時間 (あるいはそれ以上) にした。本章では前者を「明順応網膜」、後者を「暗順応網膜」と呼ぶことにする。

コイは pith した後に眼球を摘出し、眼球を二つに切って網膜を取り出した。これらの手術は暗い赤色灯の下で行う。取り出した網膜は視細胞側を上にしてチェンバーに置き、標準リンゲル液 (Normal-Ringer) で灌流した。

記録方法

記録は微小電極法で行った。3M KCl を注入したガラス電極を用い、その抵抗はリンゲル液に対して 40 ~ 200 M Ω であった。電極は網膜の視細胞側から刺入し、水平細胞の細胞体から記録を取った。記録は微小電極記録用アンプ (日本光電, MEZ-8201) で増幅し、DAT もしくはパソコン (NEC, PC-9801BX) で記録した。パソコンで記録した場合は A/D コンバータ (GA-1280A, I/O データ: 12bit) を用い、サンプリング周波数は 500Hz にした。

本実験ではすべて水平細胞の細胞体から記録した。細胞の同定方法は (1) 細胞の光応答特性 (応答波形と波長特性), (2) 網膜表面から細胞までの距離 (通常 90 ~ 140 μ m), (3) 前後に記録された他の細胞の種類, の 3 点で判定した。また網膜の順応状態は手術前に暗闇中に置く時間でコントロールしたが、実験の途中でも順応状態に変化が生じていないか以下の 2 点について確認を行った。(1) H2 の波長特性 (明順応状態では赤色光に対する脱分極応答が大きく、暗順応で過分極応答に転じる), (2) 桿体型水平細胞の応答がとれる頻度 (明順応状態では記録されない)。

リンゲル液

網膜は通常、以下の組成を持つ標準リンゲル液 (Normal-Ringer) で灌流した。NaCl: 102mM, NaHCO₃: 28mM, CaCl₂: 1mM, MgCl₂: 1mM, KCl: 2.6mM, glucose: 5mM. この溶液に O₂: 95%, CO₂: 5% のガスを通して pH=7.6 に合わせた。また実験に応じて以下の薬物を標準リンゲル液に加えた。

DA-Ringer: 5 μ M ドーパミンと 25 μ M のアスコルビン酸 (Sigma Ltd) を標準リンゲル液に加えた。

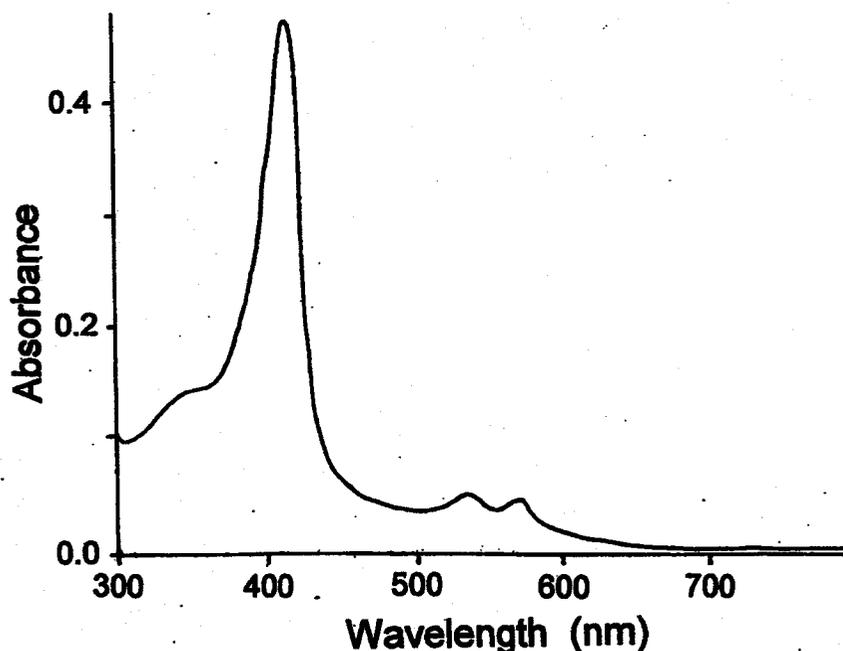


図 4.1: Hb-Ringer の波長吸収曲線.

APB-Ringer: APB (2-amino-4-phosphonobutyrate) 1mM を DA-Ringer に加えた。APB は D,L-APB あるいは L-APB である (Sigma Ltd, Tocris)。

NO donor 溶液: NO donor として以下のものを用いた。(1) Sodium Nitroprusside (SNP: Sigma Ltd). (2) S-nitrosoglutathione (SNOG: The Wellcome Foundation Ltd). (3) S-Nitroso-N-acetyl-DL-penicillamine (SNAP: Dojindo). (±)-(E)-Ethyl-2-[(E)-hydroxyimino]-5-nitro-3-hexeneamide (NOR 3: Dojindo). 濃度は $200\mu\text{M}$ ~ 1mM で用いた。なお SNAP や NOR 3 は水にほとんど溶けないため、DMSO もしくはエタノールで溶解した後、リンゲル液に加えた。

NO scavenger 溶液: NO scavenger として以下のものを用いた。(1) ヘモグロビン (Hb: Sigma Ltd). 濃度は $5 \sim 10\mu\text{M}$ 。(2) sodium 2-(4-Carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl 3-oxide (sodium carboxy-PTIO: Dojindo). 濃度は $30 \sim 100\mu\text{M}$ である。このうち Hb は濃い赤色を持つため短波長の光刺激が吸収される。図 4.1 は Hb 溶液の吸光度曲線である。Hb 溶液は 407nm に吸収ピークを持つが、420nm で急激に吸光度が落ち、450nm 以上の光については十分な強度で網膜を刺激することができる。

なお薬物を混ぜたリンゲル液を本文中では 'DA-Ringer', 'SNP-Ringer' のように記述する。

表 4.1: 本実験で用いた二つの装置のパラメータ.

	光強度 (非減衰時) (quanta/sec/ μm^2)	干渉フィルタの波長 (nm)
A (H1 測定用)	5.8×10^5	421, 460, 487, 505, 517, 533, 564, 599, 617, 643, 688
B (H2 測定用)	3.3×10^6	460, 500, 540, 580, 620, 640, 660, 680, 700, 720

光刺激

光刺激はハロゲンランプを光源にして網膜の視細胞側から照射した。ハロゲンランプからの光はレンズを通して平行光線にした後、干渉フィルタを用いて単波長光 (半値幅 10nm) にする。干渉フィルタの波長は可視光線 420 ~ 720nm のなかから 10 もしくは 11 波長を選び、ホイール上にフィルタをセットした。このホイールを回転することでフラッシュ状の単波長光をつぎつぎと照射することができる (これを rotating wheel と呼ぶ)。フラッシュの持続時間は約 0.25sec, フラッシュとフラッシュの間隔は約 0.75sec である。各波長の光強度はほぼ等光量子数になるように合わせた (なお装置 A の 421nm 刺激についてのみ等光量子数ではなく、他波長の 54% の光量子数である)。また光強度は ND フィルタを用いて調節した。

用いた実験装置は 2 セットあり、若干パラメータが異なっている (表 4.1)。装置 A は H1 の波長感度測定に用い、短波長側の感度変化を詳しく見られるように干渉フィルタの波長を選んだ。装置 B は H2 の波長感度測定に用い、長波長側の感度変化を詳しく見られるように波長を選んだ。なお光強度は減衰していない状態を 0 log とし、ND フィルタによる減衰率を相対的な対数強度で記述する。

波長応答特性と波長感度特性の測定

光刺激の強度を一定 (すなわち等光量子数 I) の条件下で、各波長に対する細胞の応答振幅をプロットしたものが波長応答特性 $V(\lambda, I)$ である。波長応答特性をさまざまな光強度 I_0, I_1, \dots, I_n で記録すると、 $V(\lambda, I_i)$ が得られ、それぞれの波長における光強度-応答振幅曲線 (V -log I 曲線) が得られる。これは横軸に光強度の対数 log I , 縦軸に応答振幅 $V(\lambda, I)$ をプロットしたものである。ここで規準応答電位 (criterion voltage: V_c) を決め、 $V(\lambda, I_c) = V_c$ となる光強度 $I_c(\lambda)$ を各波長について求める。このとき、細胞の波長感度特性 $S(\lambda)$ は $S(\lambda) = -\log I_c(\lambda)$ で与えられる。もし細胞の光応答が univariance ならば $S(\lambda)$ は V_c に依存せず一定である。しかし univariance でない場合は $S(\lambda)$ が V_c によって変化する。光応答特性がなるべく線形に近いところで測定することを考えれば、 V_c はなるべく小さい値の方が望ましい。ここでは V_c を 1mV に設定した。H1 の場合、 $S(\lambda)$ は 643nm の波長に対して最大値を示した (装置 A の場合)。そこで $S(\lambda)$ は 643nm の感度で規格化して比較した ($\tilde{S}(\lambda)$)。したがって $\tilde{S}(643\text{nm})$ の値は常に 0 になる。本章ではこの $\tilde{S}(\lambda)$ を波長感度曲線としてグラフに示す。

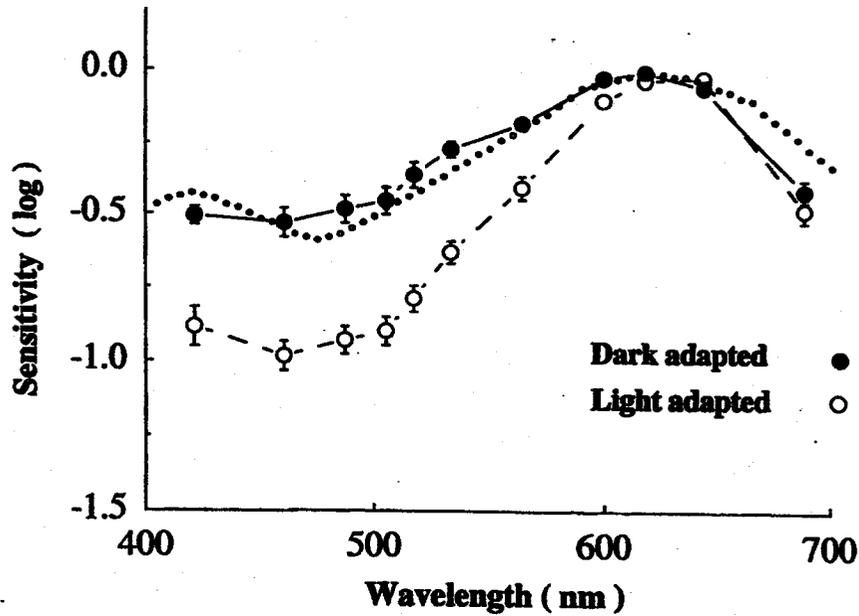


図 4.2: H1 の波長感度曲線. 最大感度を示す 643nm で規格化している. ●: 暗順応時 ($n = 14$), ○: 明順応時 ($n = 8$). 点線は赤錐体視物質の吸光度曲線⁶⁴⁾.

4.3 実験結果

4.3.1 光順応に伴う H1 感度曲線の変化

図 4.2 は明順応状態および暗順応状態で測定した H1 の波長感度曲線である. また赤錐体視物質の吸光度曲線も併せて示した (図中の点線)⁶⁴⁾. ただし感度曲線はどれも 643nm の値で規格化している. 暗順応時の H1 はすべての波長に対して感度の差があまりなく, フラットな特性を示した. また暗順応時の波長感度曲線は赤錐体視物質の吸光度曲線ときわめてよく一致した. 一方明順応時の H1 は短波長光に対する感度が相対的に低下し, 特に青光刺激に対して大きく感度が低下した. その結果波長感度曲線は暗順応の場合と比べて 640nm あたりにピークを持つ「尖った」波長特性を示した.

4.3.2 NO donor の H1 波長特性に対する効果

NO donor はリンゲル液中で NO を発生する. H1 の波長特性に対する NO donor の効果を 200 μ M SNP と 250 μ M SNOG で調べたところ (図 4.3), SNP および SNOG によって青色光 (460nm) に対する応答は抑えられ, いっぽう赤色光 (688nm) に対する応答は増大した.

暗順応網膜では SNP によって青応答が $7 \pm 7\%$ 減少し ($n = 6$), SNOG では $11 \pm 6\%$ 減少した ($n = 12$). 一方赤応答は SNP によって $19 \pm 11\%$, SNOG によって $16 \pm 8\%$ 増大した. 明

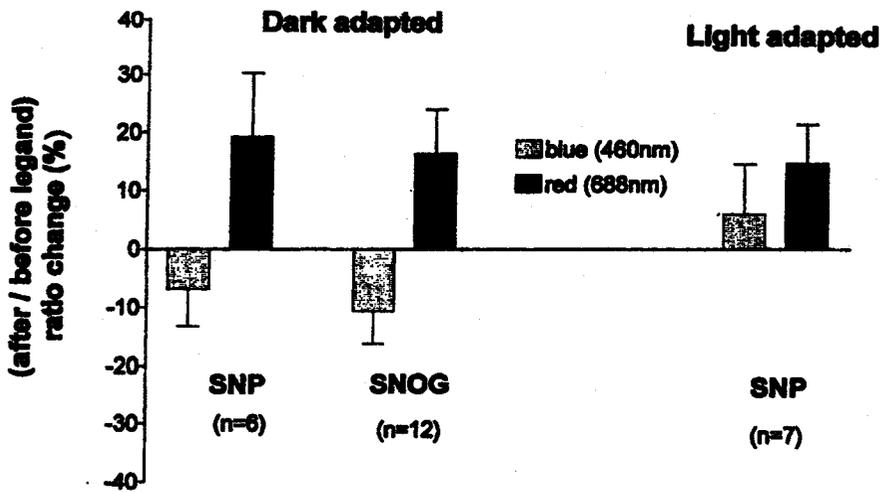


図 4.3: NO donor による H1 応答振幅の変化率.

順応網膜の場合は青応答・赤応答それぞれ $6 \pm 9\%$ と $15 \pm 7\%$ ずつ増大した. どの場合でも赤応答が相対的に大きく, 青応答が相対的に小さくなるような振幅変化が生じた. しかし暗順応の場合の方が明順応の場合よりはっきりと NO donor の効果が見られた.

図 4.4は SNP(a) および SNOG(b) による波長感度曲線の変化を示したものである. どちらも control は暗順応状態であり, 感度曲線は比較的なだらかな波形になっている. NO donor は短波長領域の感度を (長波長領域と比べて相対的に) 大きく抑制し, 感度曲線を明順応状態と同じ「尖った」状態へ変えた.

4.3.3 NO scavenger の H1 波長特性に対する効果

NO donor とは逆に組織内の NO を除去する NO scavenger が H1 の波長特性に及ぼす影響を調べた. NO scavenger としてヘモグロビン (Hb) および塩化 Carboxy-PTIO を用いた (図 4.5). 結果は NO donor の場合と逆で, 青応答が大きく増大した. またこの効果は明順応網膜で顕著に見られた.

明順応網膜において, Hb は青応答を $33 \pm 10\%$, 赤応答を $12 \pm 7\%$ 増大した ($n = 10$). Carboxy-PTIO も同様に青応答を $20 \pm 8\%$ 増大させたが, 赤応答は $-4 \pm 7\%$ とほとんど変化しなかった ($n = 5$). 暗順応網膜に対して Hb は青応答を $3 \pm 10\%$, 赤応答を $11 \pm 7\%$ とわずかに増加させたのみだった ($n = 11$).

図 4.6は Hb-Ringer による明順応 H1 の波長感度曲線の変化である. Hb によって感度曲線は短波長領域で感度が相対的に増し, 暗順応の方向へ変化した. なお 421nm の波長のみ Hb による感度上昇が見られないが, これは Hb-Ringer が 400nm 近傍の光を吸収するため (図 4.1), 網膜に達する光量が減少したためである.

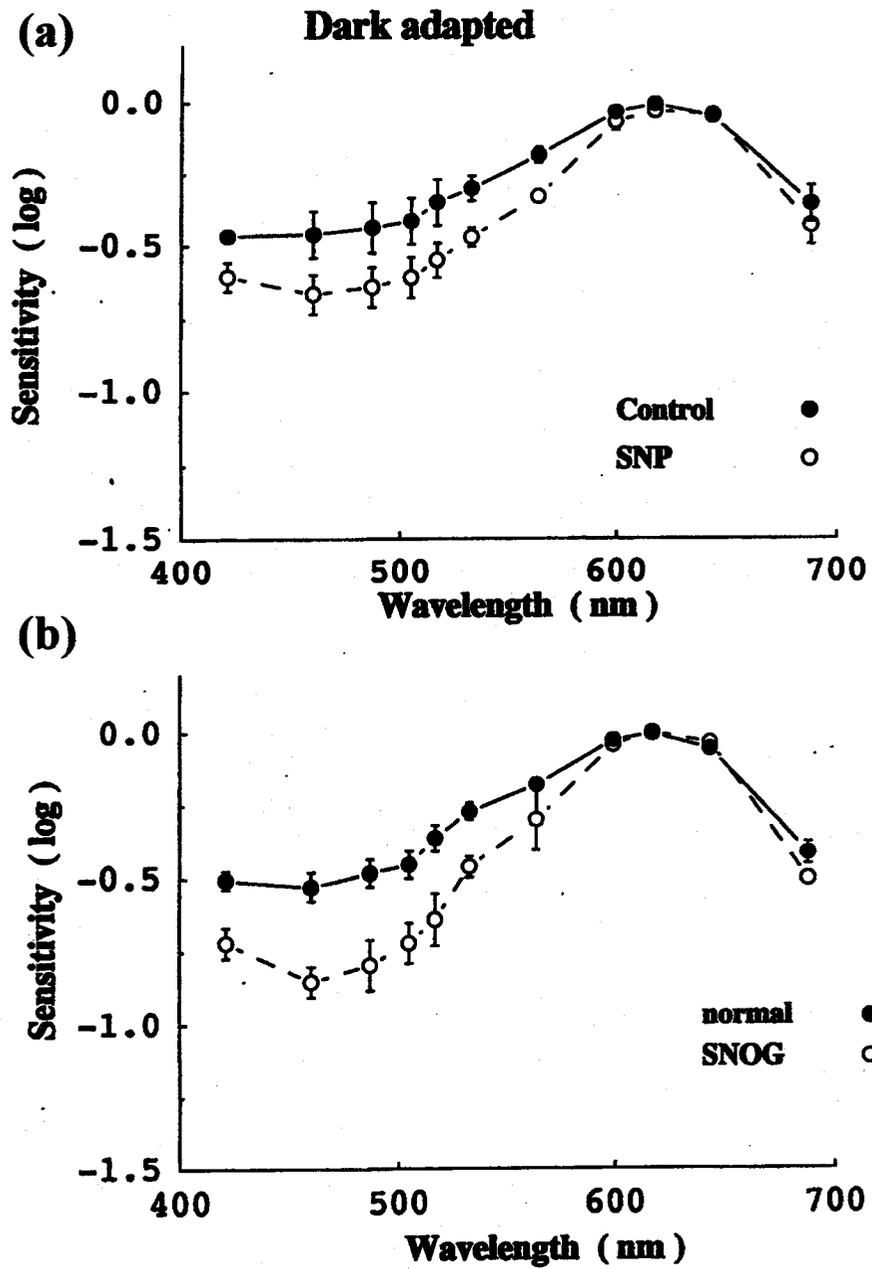


図 44: NO donor による暗順応 H1 の波長感度曲線の変化. (a) Control ($n = 6$) と SNP ($n = 4$). (b) Control ($n = 14$) と SNOG ($n = 2$).

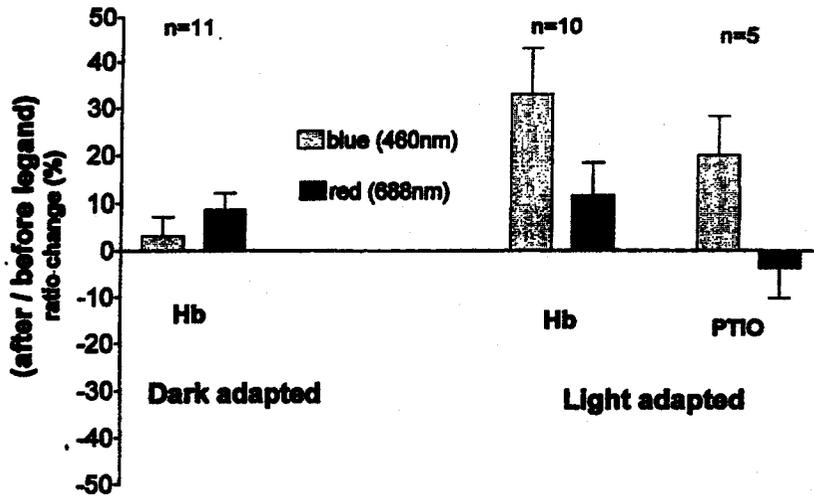


図 4.5: NO scavenger による H1 応答振幅の変化率.

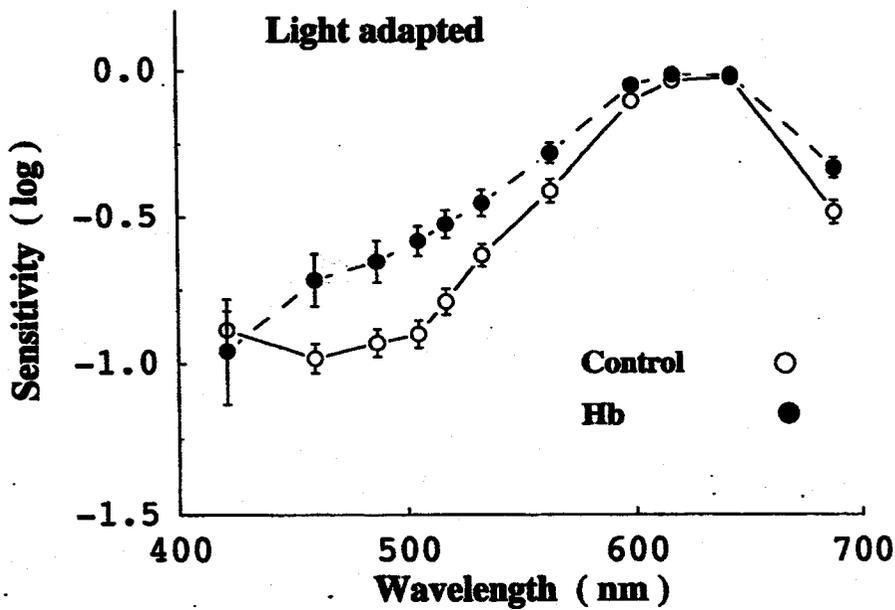


図 4.6: Hb による明順応 H1 の波長感度曲線の変化. Control ($n = 8$), Hb ($n = 5$).

4.3.4 DA, APB の H1 波長特性に対する効果

H1 への DA, APB の効果はすでに前章で述べたとおりだが、波長感度曲線は測定しておらず、また厳密な順応条件のコントロールも行わなかった。そこで順応条件をコントロールした状態で DA および APB が H1 の波長特性に及ぼす影響を調べた。

図 4.7 は $5\mu\text{M}$ DA による H1 の波長感度曲線の変化である。暗順応時 (a) の H1 に対して DA は短波長領域の感度を相対的に下げ、明順応と似た感度曲線に変えた。しかし明順応状態 (b) の H1 に対してはあまり効果が見られなかった。

図 4.8 は APB による H1 応答振幅の変化率である (この実験では $5\mu\text{M}$ DA が常に存在している。DA のみを Control とし、リンゲル液を DA+APB に変えたときの効果を見ている)。 1mM D,L-APB によって青応答は増大し、一方赤応答は少し減少した (Blue: $+20 \pm 8\%$, Red: $-11 \pm 5\%$, $n = 4$)。 $500\mu\text{M}$ L-APB の効果も同様に青応答が増大したが、赤応答はほとんど変わらず、D,L-APB で見られたような赤応答の減少は見られなかった (Blue: $+19 \pm 12\%$, Red: $4 \pm 7\%$, $n=5$)。 L-APB は代謝型グルタミン酸受容体である mGluR6 のアゴニストであるが、D-APB は他のグルタミン酸受容体の弱いアンタゴニストとして働く¹⁷⁾。 D,L-APB で見られた赤応答の減少は、D-APB が H1 の AMPA/KA 受容体を弱く抑制したためと考えられる。 L-APB は赤応答の振幅に変化を生じなかったが、これは L-APB が APB 受容体にのみ作用したためだろう。

図 4.9 は D,L-APB が明順応 H1 の波長感度曲線に対する効果である。 Control において波長感度曲線は明順応と DA によって短波長領域の感度が抑えられた「尖った」形をしている。 D,L-APB は短波長領域の感度を相対的に増し、DA が存在するにも関わらず波長感度曲線を暗順応と似た形状に変えた。

4.3.5 H2 波長特性に対する NO の効果

H2 は赤/緑の反対色特性を示す細胞で、その波長特性は順応に応じて大きく変化する。 H2 の分光応答に対する NO の効果を調べた¹²⁷⁾。

図 4.10 は塩化 Carboxy-PTIO (NO scavenger: $100\mu\text{M}$) を明順応網膜に与えたときの H2 の分光応答変化である。 Carboxy-PTIO によって長波長側の脱分極応答が相対的に小さくなり、またニュートラルポイント (光応答の符号が反転する光刺激の波長) も長波長側にシフトした。

図 4.11 は Carboxy-PTIO の効果の時間変化を見たものである。 H2 の分光特性を示す値として青応答 (460nm) に対する赤応答 (620nm) の比 (R/B 比) を縦軸に取った。 Carboxy-PTIO によって 620nm に対する光応答が脱分極から過分極に変わり、それに伴って R/B 比は正から負に反転した。 Carboxy-PTIO の投与を中止すると R/B 比は徐々に回復の方向へ向かい、赤応答の極性も再び脱分極に戻った。 このような H2 の分光応答変化は暗順応の効果と類似しており、H1 に対する NO scavenger の効果とも一貫性があった。

図 4.12 は SNAP (NO donor: 1mM) を与えたときの H2 の分光応答変化である。 Control の時点で H2 の応答はやや暗順応がかっていたが、SNAP によって長波長側の脱分極応答が大きくなり、ニュートラルポイントが短波長側にシフトした。

図 4.13 は SNAP の効果の時間変化を見たものである。 SNAP によって R/B 比が上昇し、

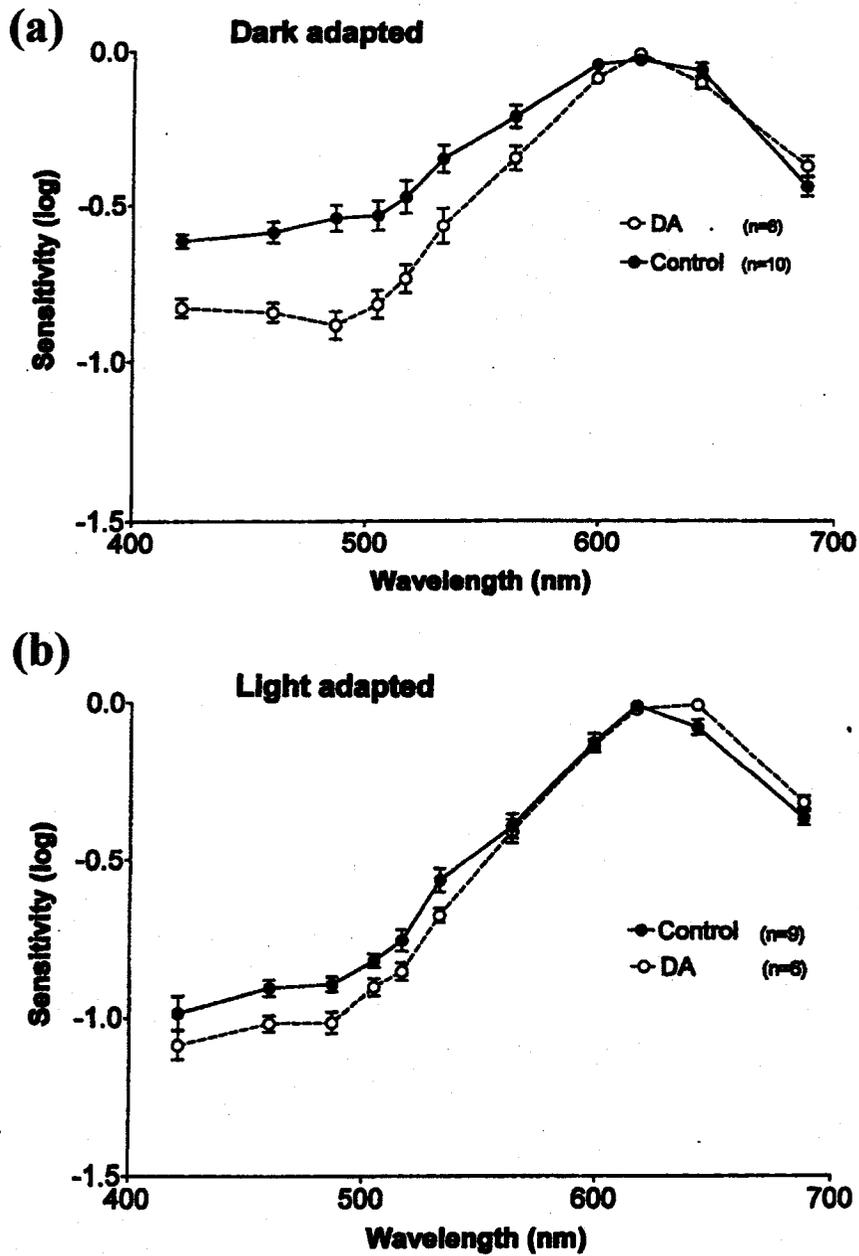


図 4.7: ドーパミン (DA) による H1 の波長感度曲線の変化. (a) 暗順応網膜に対する効果 (b) 明順応網膜に対する効果.

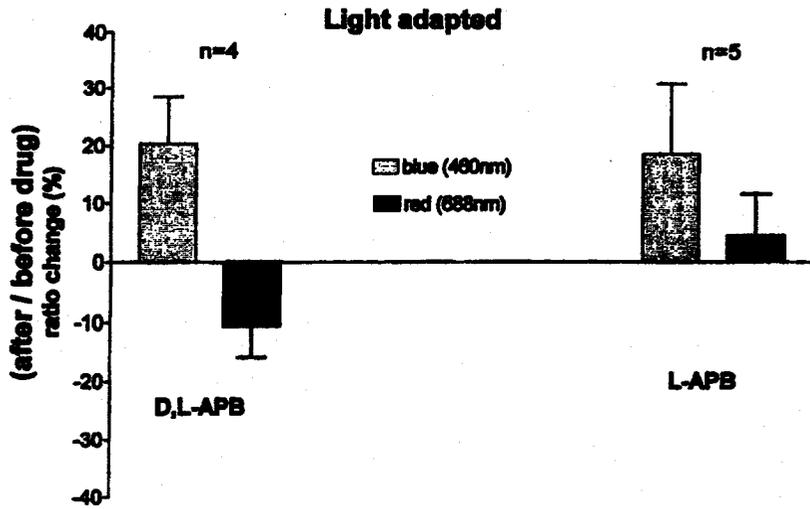


図 4.8: APB による H1 の応答振幅の変化率.

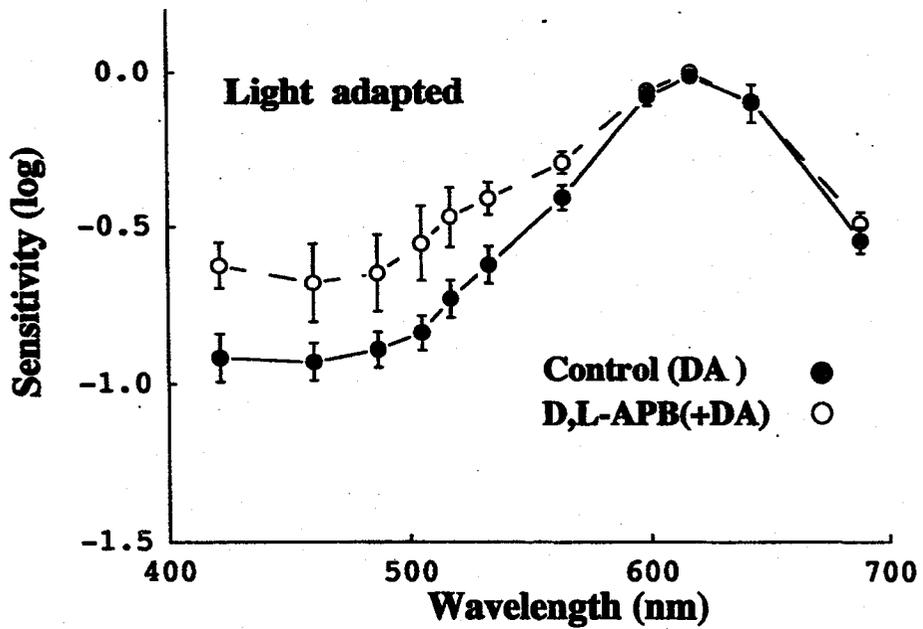


図 4.9: D,L-APB による H1 波長感度曲線の変化. 明順応網膜を用い, 常に $5\mu\text{M}$ DA が存在する (Control: $n = 7$, APB: $n = 3$).

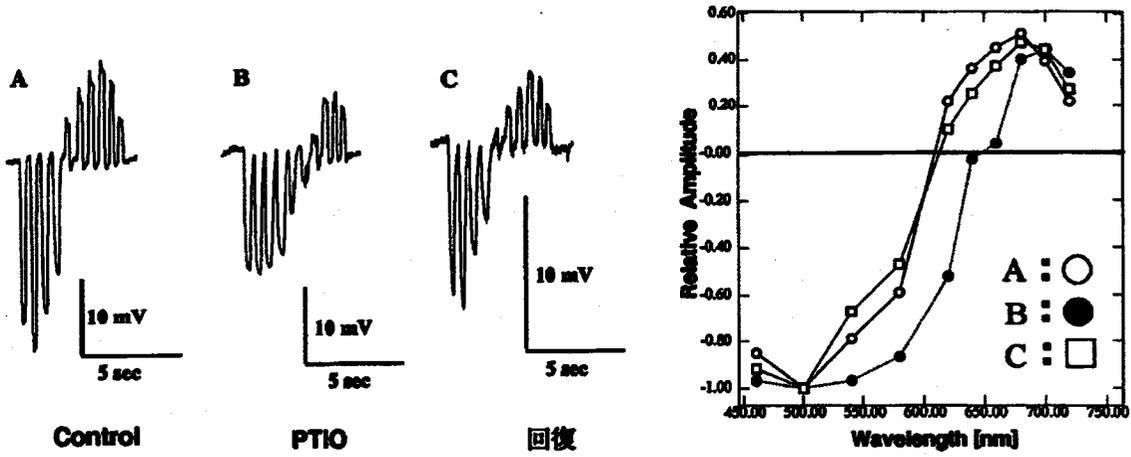


図 4.10: Carboxy-PTIO (100 μ M) による H2 分光応答の変化. 記録波形 (左) および分光応答曲線 (右: 500nm で規格化). A: Control, B: Carboxy-PTIO, C: Recovery¹²⁷⁾.

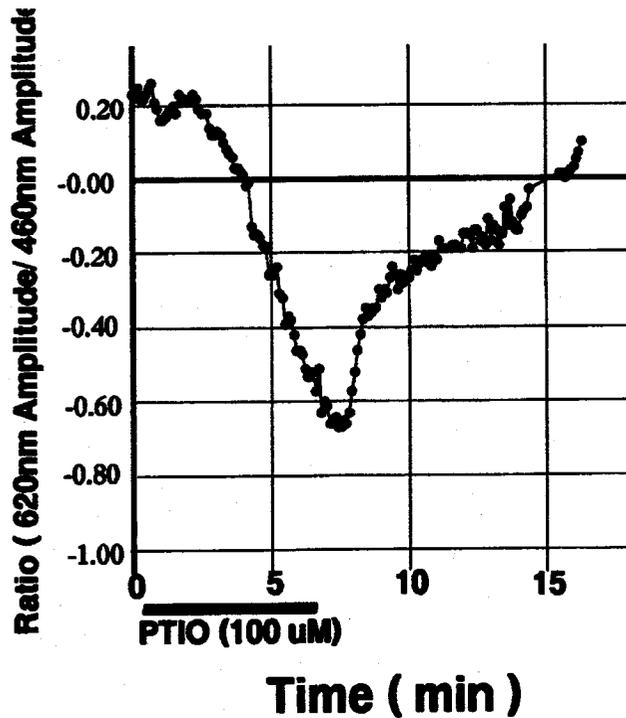


図 4.11: H2 の応答振幅比 Red(620nm)/Blue(460nm) の Carboxy-PTIO による時間変化¹²⁷⁾.

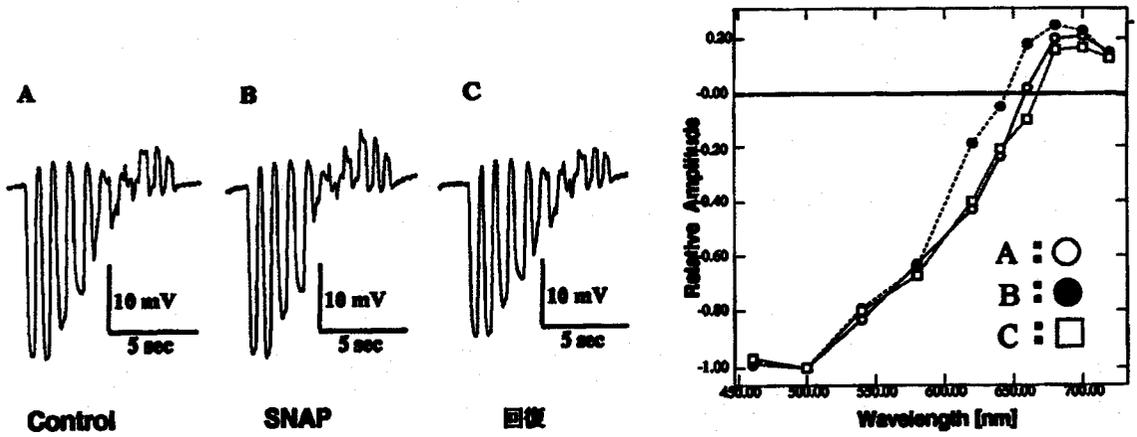


図 4.12: SNAP (1mM) による H2 分光応答の変化. 記録波形 (左) および分光応答曲線 (右: 500nm で規格化). A: Control, B: SNAP, C: Recovery ¹²⁷.

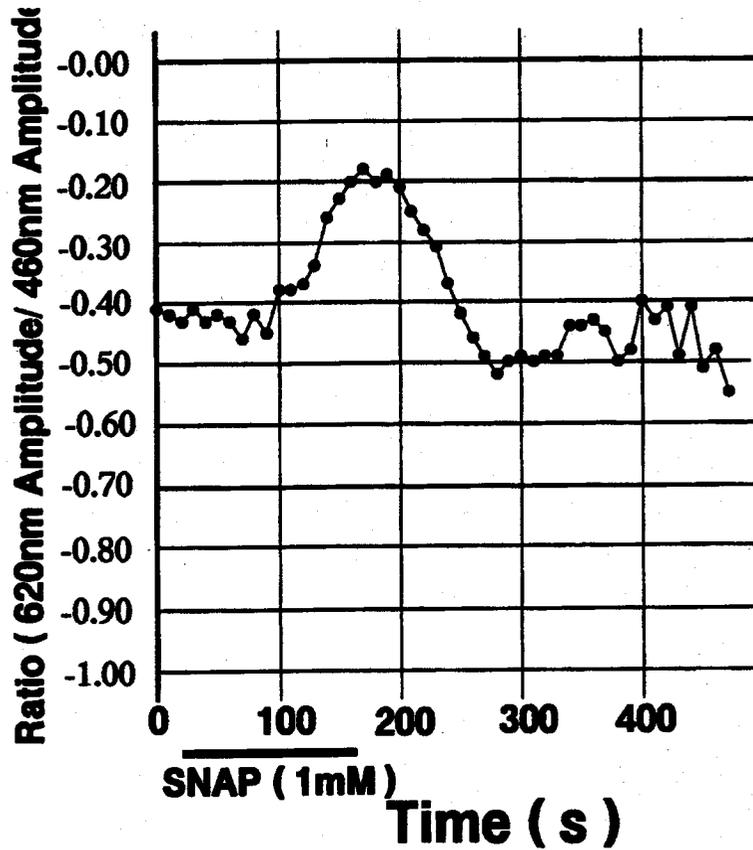


図 4.13: H2 の応答振幅比 Red(620nm)/Blue(460nm) の SNAP による時間変化 ¹²⁷.

投与の中止に伴い R/B 比は再び元の値に戻った。SNAP の H2 分光応答に対するこのような変化は明順応による効果と類似している。同様の結果は NOR 3 を用いても得られた。

4.4 討論

4.4.1 順応の H1 波長特性に対する効果

暗順応状態において、H1 の波長感度曲線は赤錐体視物質の吸光度曲線と一致した。このことから暗順応状態で H1 は赤錐体からの入力のみを受け、他の入力成分は不活性化しているものと考えられる。一方明順応状態では短波長領域での感度が相対的に下がり、620nm 近傍にピークを持つ「尖った」曲線へと変化し、赤錐体視物質の吸光度曲線と一致しなくなった。このずれはなんらかの短波長成分の入力が存在しなければ説明できない。したがって H1 への短波長成分の入力は明順応によって活性化するものと考えられる。

もし暗順応時に H1 への入力が赤錐体からのみならば、H1 の $V\text{-log } I$ 曲線は univariance になるはずである。図 4.14 は 460nm と 688nm の光刺激に対する応答を Hill プロットしたものである。暗順応時にはどちらの直線も平行になり、univariance になる (a)。しかし明順応時に両者は平行線にならず、univariance に従わない (b)。また 460nm の Hill プロットは 1 本の直線で描けず、複数の入力が存在することを示唆する。しかしこの状況は NO scavenger である Hb によって変化する。明順応網膜に Hb を投与すると Hill プロットは平行線に変わり、暗順応状態と同じく univariance になる。以上のことから次の 3 点が言えるだろう。i) 明順応時の青応答は複数の入力が合成されている。ii) 暗順応時には短波長性入力が不活性化して赤錐体からの単一入力状態になる。iii) NO は明順応時の短波長入力活性化に関わっている。

短波長性入力は H1 の短波長領域の感度を低下させる。したがってこの入力成分は符号反転型の抑制性入力である。この入力の可能性は二つ考えられ、ひとつは青錐体からの符号反転型シナプスを介しての直接入力、もうひとつは H2 からのフィードバックを介した間接入力である。順応に伴う波長感度曲線の変化領域はかなり広いから、信号源となる細胞の候補から UV 錐体は除外されるだろう。また 3 相性の H3 も除外される。残る可能性は青/緑錐体か H2 水平細胞である。順応に伴う感度減少は短波長ほど大きくなるため、緑錐体よりは青錐体の方に可能性があると思われる。そこで当面の作業仮説として、H1 への短波長性入力を青錐体からの直接入力と H2 からの間接入力を候補として考える。

以下、明/暗順応に応じた H1 波長感度曲線の変化を指標に、NO をはじめとする薬物の効果を考える。

4.4.2 NO の H1 波長特性に対する効果

NO 関連の薬物を 4 種類用いたが、NO の効果は一貫して明順応と同じものであった。すなわち SNP, SNOG の NO donor は H1 波長感度曲線を明順応と同じ方向へ変化させ、逆に NO scavenger である Hb, Carboxy-PTIO は暗順応と同じ方向へ変えた。

NO scavenger は網膜が自発的に放出する NO を吸収する。NO scavenger によって H1 が暗順応状態へ移行したということは、すなわち網膜内で NO が生産され、それが H1 の波長特

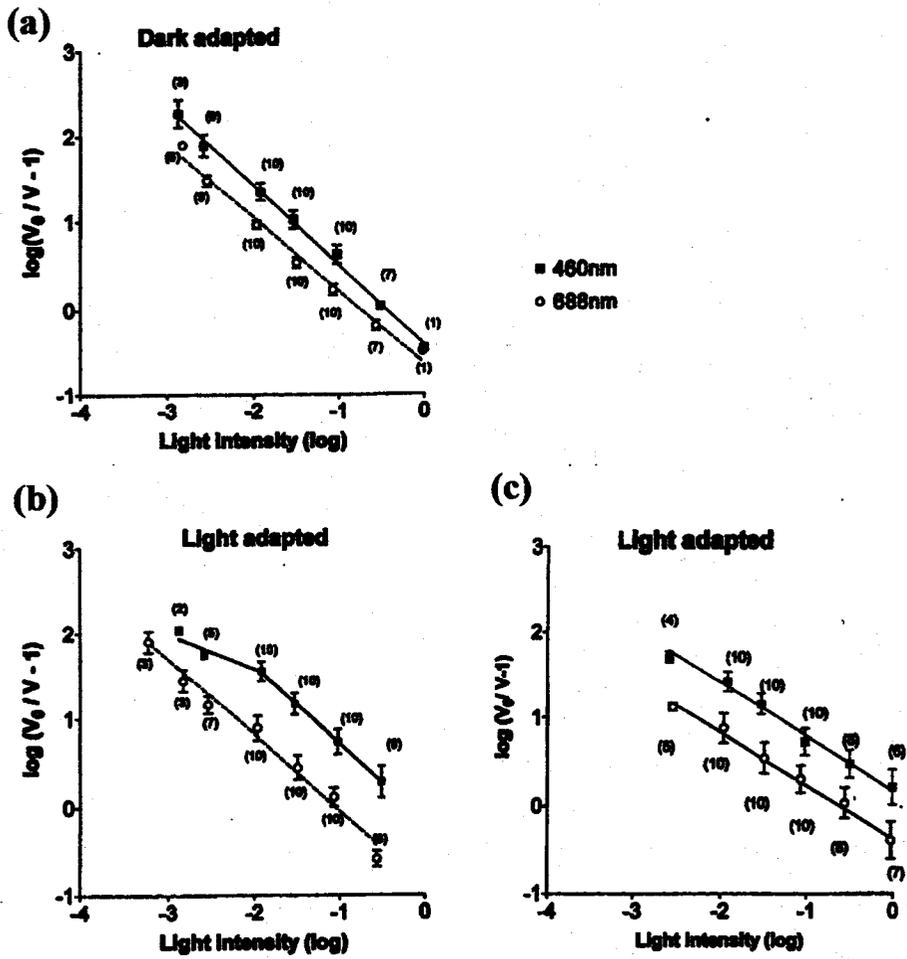


図 4.14: 460nm および 688nm の光刺激に対する Hill プロット. (a) 暗順応網膜 (b) 明順応網膜 (c) 明順応網膜+Hb (山田, 未発表データ).

性を変える働きを持つことを示す。すなわちNOが網膜内で明順応信号としてH1への短波長性入力を活性化する働きがあることを示唆するものである。ただしNOがどのようなメカニズムで明順応と同じ効果を生じるかはわからない。

4.4.3 DA, APBのH1波長特性に対する効果

暗順応網膜にDAを投与したところ、H1の波長感度曲線が明順応状態に移行した。一方で明順応網膜に対するDAの効果はわずかしかなかった。外網膜においてDAは水平細胞のギャップ結合や視細胞のretinomotor movementなどに対して明順応変化を生じる順応信号である。したがってH1の波長感度特性変化にもDAが明順応信号として関与していることは強く考えられる。

APBはDAとは逆に暗順応と同じ効果があった。APB受容体の存在部位としては次の2つの可能性が考えられる。第一の可能性はH1への符号反転型短波長入力の系路上のどこかにAPB受容体が存在することである。たとえば青錐体からH1への直接入力にAPB受容体を介しているならば、APBの投与はこの経路をブロックして暗順応状態と同じ感度曲線に変えるはずである。二番目の可能性はH1短波長性入力の活性をコントロールする経路にAPB受容体が存在することである。たとえばON型双極細胞はAPB受容体を持つ。視細胞は暗時にグルタミン酸を放出するので、外部からのAPBの投与はON型双極細胞にとって「強い暗闇刺激」に相当し、これが暗順応シグナルとしてIP細胞からのDA放出を抑えたと考えられる。ただしAPBの投与時にDAも必ず一緒に与えており、APBがDA放出を抑えたとしてもリンゲル液には十分な濃度のDAが存在している。したがってAPBがDAを介して間接的にH1に効果があるとは考えにくい。

APBの効果は、基本的にD,L-APBでもL-APBでも変わらなかった。D,L-APBでは赤応答の弱い抑制が見られたが、これはD-APBのAMPA/KA受容体に対する効果と考えられる。他章では実験の都合でD,L-APBを用いて実験したが、D-APBの弱い抑制効果にさえ注意を払えば大きな問題は生じないものと考えられる。

4.4.4 NOのH2波長特性に対する効果

H2の波長特性に対してもNOは一貫して明順応と同じ効果を示した。すなわちNO donorは長波長光刺激に対するH2の脱分極応答を増大し、NO scavengerは反対に抑制した。H2の脱分極応答はH1から緑錐体へのフィードバックによって生成される。暗順応時はH2の脱分極応答が消失し、すべての波長に対して過分極応答を示すようになる。したがってNOはH1から緑錐体へのフィードバック経路を活性化する働きがあると考えられる。

H2の脱分極応答とリボンシナプスにおけるspinuleには相関があり、明順応時に水平細胞のprocessからspinuleが伸びるのと並行してH2の脱分極応答も現われる。このことからspinuleは水平細胞から視細胞へのフィードバックに関係すると考えられる。GreenstreetらはNOによってspinuleが生成されることを示した⁵⁸⁾。したがって今回のH2の波長特性変化もspinuleによって生じた可能性がある。ただしNOの効果の現われる速度がspinuleの形態変化よりも速いため、あるいはspinule以外の別の部位にNOが作用しているのかもしれない。

4.4.5 NO, DA, APB の相互関係

NO と DA は明順応と同じ効果を持ち、APB は逆に暗順応と同じ効果であった。また DA は外網膜で明順応情報を担っており、NO も新たな明順応信号として網膜内で使われている可能性が示唆された。ではこれら三者の関係はどうか。本章の一連の実験のみでは、これらの薬物の効果が H1 に直接効いているのか間接的な効果を見ているのかを区別することができない。間接的な効果まで含めるとさまざまな可能性が考えられるだろう。したがってこの問いへの解答を得るには H1 へのシナプス入力を直接調べる実験が要求される。

4.5 まとめ

H1 へは赤錐体からの入力のほかに短波長に感受性を持つ入力が存在する。暗順応時には短波長入力が不活性化して赤錐体の単一入力状態になる。したがって H1 の光応答は暗順応時に univariance に従う。

NO donor は H1 の波長特性に明順応と同じ変化を生じた。また NO scavenger は反対に暗順応と同じ変化を生じた。また H2 の波長特性に対しても同様だった。このことから網膜内では明順応時に自発的に NO が生成されており、これが明順応信号として働いている可能性が示唆された。

DA は H1 の波長特性に明順応と同じ変化を生じた。一方 APB は暗順応と同じ効果を示した。しかし本章の実験結果のみから DA と APB, NO の三者の関係を特定することはできない。

第 5 章

H1 水平細胞の短波長性シナプス入力に対する 順応と NO の効果

5.1 はじめに

前章までの実験結果より、H1 水平細胞は赤錐体からの主入力の他に短波長感受性の細胞から副次的な抑制性入力を受けることが示された。また短波長性入力は明順応時にのみ存在して暗順応時には不活性化すること、さらに DA や NO は明順応信号として短波長性入力を活性化し、また APB の投与はこの入力成分を阻害することが示された。ではこの短波長感受性の H1 入力はどこの細胞に由来するのだろうか。またどのようなシナプスを介しており、それは順応によってどのように調節されるのだろうか。

錐体型水平細胞は基本的に錐体のみからシナプス入力を受ける。また水平細胞の出力先も錐体である（ただし GABA を介した水平細胞間の直接的な伝達経路が存在する可能性はある）。したがって H1 への短波長性入力は青錐体などの短波長感受性錐体からの直接入力か、あるいは H2 など他の水平細胞の出力が錐体へのフィードバックを介して間接的に H1 に入力されるのか、このどちらかに限られる。そこで前章までの実験結果から、作業仮説として青錐体からの直接入力と H2 からの間接入力の二つが候補として挙がってきた。

Yasui らは光刺激によって生じる H1 の入力抵抗変化を測定し、応答振幅が一定の条件であつても光刺激の波長によって入力抵抗変化に違いがあることを見出した²³¹⁾。もし H1 に単一種類のシナプスチャネルしか存在しないのであれば、応答振幅と入力抵抗変化（すなわちチャネルの開閉）の間には一定の関係が成り立ち、応答振幅が一定であれば入力抵抗変化も常に一定になるはずである。すなわちこの「光誘起性入力抵抗変化の波長依存性」は、とりもなおさず H1 に複数種のシナプスチャネルが存在し、それらが異なる波長成分を H1 へ伝えていることを示す。もし「光誘起性入力抵抗変化の波長依存性」によって示される短波長性入力が波長感度特性の実験で示された符号反転型の短波長性入力と同一のものであるならば、明順応や NO による活性化や見られるはずである。

本章では順応および NO が光誘起性入力抵抗変化の波長依存性に対して及ぼす効果について述べ、この波長依存性の原因となる短波長性のシナプス入力もまた明順応および NO によって活性化することを示す。すなわち H1 への符号反転型入力は H1 への直接的な入力によって生じるものであることを示す。

5.2 実験方法

全般的な実験方法

実験動物や網膜試料の扱い方、記録の取り方などの全般的な実験詳細は4章で述べたとおりである。また網膜の順応状態の制御も4章で述べたものと同じ方法で行った。本実験ではすべてH1の細胞体から記録を取った。

薬物

標準リング液の組成も4章で述べたとおりである。本実験では水平細胞の入力抵抗測定を目的とするが、水平細胞は互いにギャップ結合を介して電氣的に結合しており、ひとつの細胞に電流を注入すると周辺の細胞へリークして入力抵抗が測定できない（見かけ上の入力抵抗がゼロ）。そこでギャップ結合を切るために常に $10\mu\text{M}$ のDAをリング液に加え、さらにDAの酸化を防ぐため、 $50\mu\text{M}$ のアスコルビン酸も加えた。この $10\mu\text{M}$ DAリング液を“Control Ringer”として、NO donor等の薬物はControlの状態からさらに追加した。

NO donorとしては塩化Nitroprusside (SNP, Sigma)を $500\mu\text{M}$ の濃度で用いた。また他の実験と同様にAPB (D,L-2-amino-4-phosphonobutyrate, Sigma)の効果も調べた。APBは他の実験と同様に 1mM で用いた。なおAPBは $200\mu\text{M}$ の濃度でも同じ結果が得られることを確認したが、実験を確実にするために通常はこの濃度を用いた。

本実験では、NO合成酵素(NOS)のプロッカーである N^G -monomethyl-L-arginine (L-NMMA, Sigma)の細胞内注入も行った。 500mM のL-NMMAを電極の先端に詰め、 3M KClを後ろに詰めた。L-NMMAを詰めた時点での電極抵抗は約 $500\text{M}\Omega$ であったが、2時間ほど経つと $150\sim 250\text{M}\Omega$ に落ちて安定した。L-NMMAの注入にはパルス電流を用いた。 -0.4nA の電流を矩形波状に流してiontophoreticにL-NMMAを細胞内へ注入した。この場合、(i)細胞に電極が刺さった直後にパルス電流を通电して光誘起性入力抵抗変化を測定し、(ii)パルス電流を2~5分通电したままにしてL-NMMAを細胞内へ注入し、(iii)再び光刺激を与えて入力抵抗変化を測定した。

入力抵抗測定

細胞にパルス電流を注入し、それによって生じる電位変化を測ることで細胞の入力抵抗を測定した。細胞に電極が刺さった時点でパルス電流を注入し、アンプのブリッジバランス回路を用いて電位変化がゼロに見えるように調節する。この時点で測定を開始し、パルス電流を注入しつつながら光刺激を与え、光誘起性入力抵抗の変化量を測定する。光刺激を終えた時点で元の入力抵抗（すなわちパルスによる電位変化が見かけ上ゼロ）に戻ったことを確認する。ゼロに戻らなかった場合は入力抵抗測定が安定していないとして電極の状態が安定するのを待ち、再度測定を試みた。

注入したパルス電流の大きさは $0.4\sim 1.5\text{nA}$ であり、多くの場合は負の（過分極性の）電流である。しかしいくつかのケースでは正の（脱分極性の）電流を加えた。*in situ*で水平細胞は活動電位を発生しないため、暗時の静止電位の周辺では電流-電圧の関係がほぼ線形である

と考えられる。実際、測定の結果はパルス電流の符号に依存しなかった。一回のパルスの持続時間は 50 ~ 150msec で、周波数は 1.5 ~ 4Hz である。

光刺激

光刺激は網膜全体への一様光として与え、2つの異なる光源を併用した。一つは4章で述べたものと同じハロゲンランプを光源とするものである。干渉フィルタを rotating wheel (4章参照)に取り付け、ホイールを回転することで 421 ~ 688nm の単波長光をフラッシュ状に連続して与えることができる。この光刺激に対する応答から細胞の種類を同定した。網膜上での明るさは $3.3 \times 10^5 \text{ quanta}/\mu\text{m}^2/\text{sec}$ であり、光路の途中に ND フィルタを置くことで適宜減衰して用いた。もうひとつの光源は LED であり、干渉フィルタを通して 674nm の単波長光にした。

光誘起性入力抵抗変化の測定は2つの波長に対して行った。ひとつは 460nm であり、ハロゲンランプを光源とする。もうひとつは 674nm で LED を光源とする。本章では前者の光刺激を“blue”，後者を“red”と呼ぶことにする。

光強度は次のように合わせた。まず blue に対する細胞の応答が $-5 \sim -15\text{mV}$ になるようにハロゲンランプの ND フィルタを調節する (ND フィルタによる減光は 0.4 log 単位の離散値しかとれない)。次に LED にかける電圧を調整して、red と blue に対する応答振幅が一致するように合わせた。応答振幅が一致した時点でパルス電流を開始する。光誘起性入力抵抗変化を測るときは、光刺激を 3 ~ 7sec の長さで持続的に与えた。なお本実験では blue, red の順で与えたが、この順番は逆にしても結果は変わらなかった。

5.3 実験結果

5.3.1 順応の効果

図 5.1(a) は明順応状態での記録例である。リンゲル液は Control Ringer (すなわち $10\mu\text{M}$ の DA-Ringer) である。記録中を通してパルス電流を与えているが、暗時はパルス電流による電位変化が見えないようにブリッジ回路で調整している。H1 の細胞体は red の光刺激に対して過分極性の光応答を示すと同時に、パルス電流に対しても過分極性の電位変化を示した (図中のヒゲ状の電位変化)。この実験ではパルス電流の大きさが -1.0nA なので 1mV の過分極が $1\text{M}\Omega$ の抵抗上昇に相当する。この抵抗上昇は光刺激によって赤錐体からの伝達物質が減少して H1 のシナプスチャネルがクローズすることで生じたものと考えられる。一方 blue に対しては red と等しい光応答振幅を示しているにもかかわらず、ほとんど入力抵抗が変化していない。すなわち光誘起性入力抵抗変化に波長依存性が存在する。

図 5.1(b) は暗順応網膜における記録例である。この場合、光誘起性の入力抵抗変化は生じているものの抵抗変化量は blue と red でほぼ等しく、波長依存性は存在しない (この記録では暗時のブリッジバランスが完全に調整されていない)。しかし網膜を 10 分間室内照明に曝して明順応させたところ、同じ細胞で光誘起性入力抵抗変化に波長依存性が生じた。

複数の細胞から同様にして得た光誘起性入力抵抗変化を red (ΔR_r) と blue (ΔR_b) について scattergram にプロットしたものが図 5.1(c) である。ひとつの点がひとつの細胞からの記録

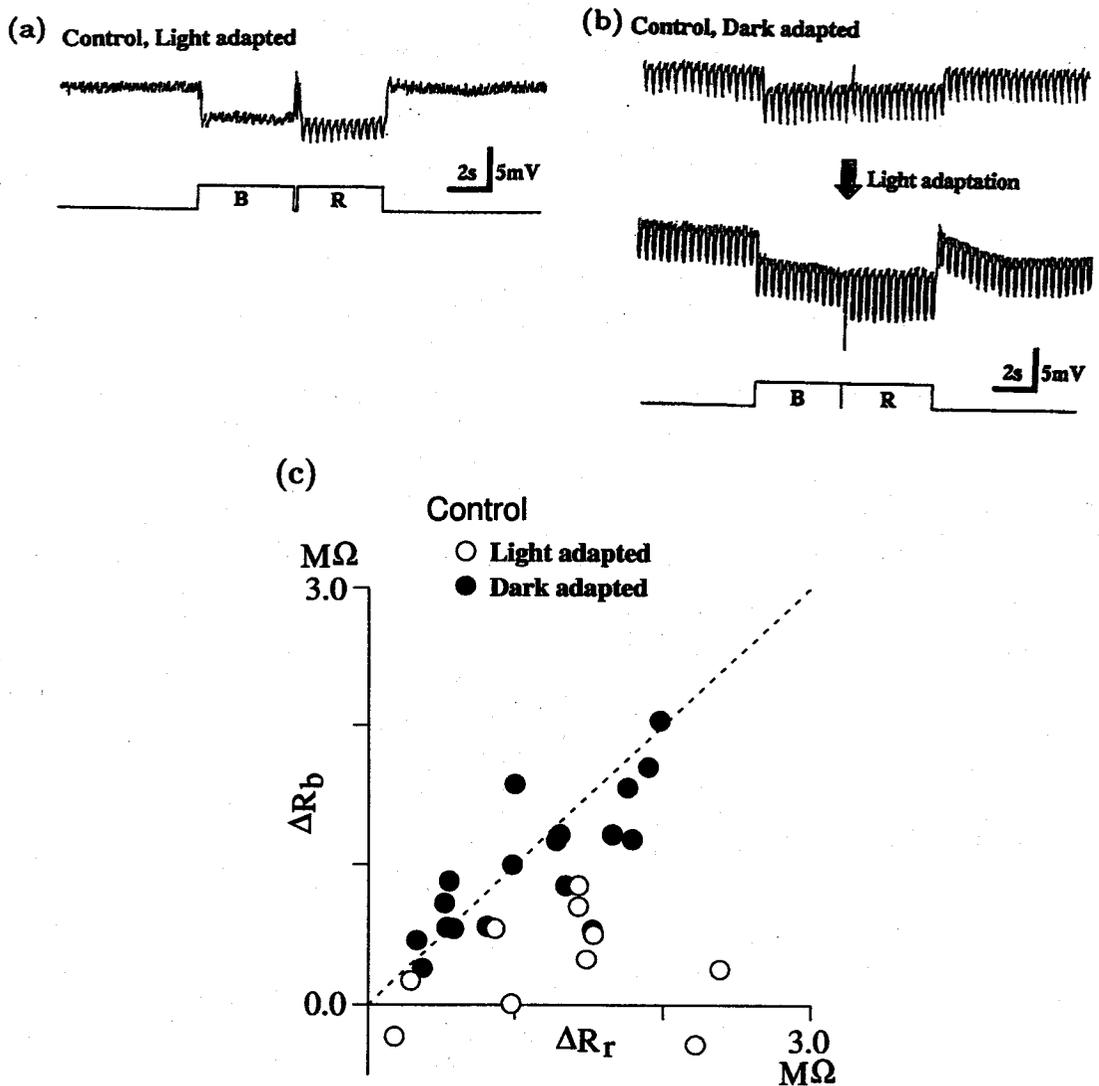


図 5.1: 光誘起性入力抵抗変化の波長依存性に対する順応の効果. (a) 明順応状態での記録例 (b) 暗順応状態での記録例. 室内光に曝して明順応が生じると光誘起性入力抵抗変化の波長依存性が生じた. (c) red (674nm) および blue (460nm) に対する入力抵抗変化量 (ΔR_r , ΔR_b) の scattergram. 破線は $\Delta R_r = \Delta R_b$ を意味し, この線上にデータが乗ると波長依存性が存在しないことになる. blue の光強度は 2×10^4 quanta/ $\mu\text{m}^2/\text{sec}$, red の光強度は細胞の応答振幅が等しくなるように合わせた. パルス電流は (a) が -1.0nA , (b) が -0.9nA で, 1mV の過分極がそれぞれ $1\text{M}\Omega$, $0.9\text{M}\Omega$ の入力抵抗変化に相当する.

表 5.1: Control 時の光誘起性入力抵抗変化 (mean±standard error). P は t 検定による結果.

Condition	n	ΔR_r	ΔR_b	$\Delta R_b/\Delta R_r$	P %
light/control	10	1.28 ± 0.23	0.29 ± 0.12	0.16 ± 0.18	0.29
dark/control	18	1.12 ± 0.13	1.00 ± 0.12	0.97 ± 0.08	17.87

に対応する. 図中の 45° の線は $\Delta R_r = \Delta R_b$ を意味し, この線近傍にデータ点が集まれば波長依存性が存在しないことになる. 一目にして暗順応時には波長依存性がなく, 明順応時には波長依存性があることがわかる. また明順応時には ΔR_b がわずかながら負の値 (すなわち抵抗減少) を示すことがあった.

統計的な結果を表 5.1 に示す. 明/暗順応時の $\Delta R_b/\Delta R_r$ はそれぞれ 0.16 ± 0.18 , 0.97 ± 0.08 であった ($\Delta R_b/\Delta R_r$ が 1 に近いほど波長依存性が存在しない). また t 検定の結果, 明順応時の ΔR_r と ΔR_b の違いは有意 ($P = 0.29\%$) であり, 一方暗順応時には統計的な差異が存在しなかった ($P = 17.9\%$).

red に対して感受性があるのは赤錐体であることから, ΔR_r は赤錐体からのシナプス入力によって生じる入力抵抗変化であると考えられる. これは明/暗順応ともに事情は変わらない. 明順応時において, blue に対する抵抗変化 ΔR_b が ΔR_r と異なることから, 明順応時には少なくとも 2 種以上のシナプスを介して H1 に入力が存在すると考えられる. すなわちすべての波長に対して感受性のある赤錐体性入力と短波長性の入力である. ΔR_b が ΔR_r より小さく, また場合によっては負の値を示すことから, 短波長性入力は光刺激によって H1 のチャネルを開いて入力抵抗を減少するタイプのもと考えられる. 暗順応時には波長依存性がなくなることから, 短波長性入力は不活性化して赤錐体からの入力のみが存在するものと考えられる.

5.3.2 NO donor の効果

暗順応網膜における SNP の効果

光誘起性入力抵抗変化の波長依存性に対する NO donor の効果を調べた. 本実験は以下の手順で行った. まず Control Ringer の状態で H1 細胞体の光誘起性入力抵抗変化を測定する. つづいてリンゲル液を SNP Ringer に変え, 同一細胞から再び光誘起性入力抵抗変化を測定した.

図 5.2(a) は暗順応網膜における記録例である. SNP は静止膜電位を $5 \sim 10\text{mV}$ 脱分極させた. Control Ringer 下では red と blue それぞれに対する入力抵抗変化 ΔR_r と ΔR_b が等しく, 波長依存性は存在しない (図 5.2(a) 左). しかしリンゲル液を SNP Ringer に変えたところ, 同一細胞に入力抵抗変化の波長依存性が生じた (図 5.2(a) 右).

図 5.2(b) は red, blue に対する入力抵抗変化の scattergram である. Control 時 (●) のデータ点はほぼ 45° 上に集まり, 波長依存性が存在しなかった. しかし SNP の投与によって ΔR_b が減少して波長依存性が生じた (Δ). SNP の投与によって $\Delta R_b/\Delta R_r$ は 0.91 から 0.19 へと

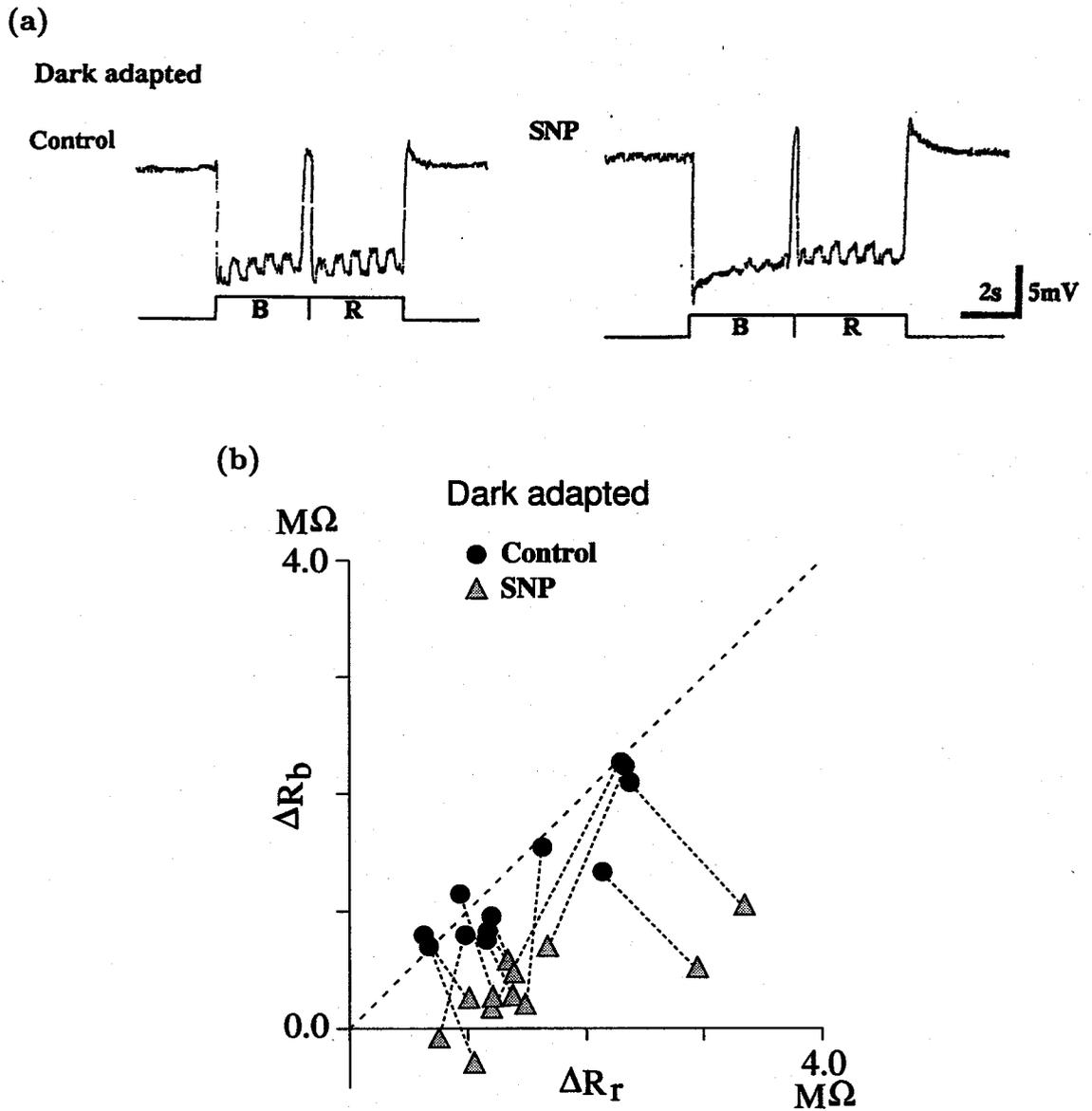


図 5.2: 暗順応網膜における光誘起性入力抵抗変化の波長依存性に対する NO donor (SNP) の効果. (a) Control 時 (上段) および SNP 下における同一の細胞からの記録例. パルス電流は +1.0nA であり, 1mV の脱分極が $1M\Omega$ の抵抗上昇を意味する. それ以外の条件は図 5.1 に同じ. (b) 12 個の細胞からの記録から ΔR_r と ΔR_b を scattergram にプロットしたもの. Control (●) から SNP (▲) へと変化した. 同一の細胞からのデータ点を点線で結んでいる.

表 5.2: Control および SNP Ringer における入力抵抗変化値

Condition	<i>n</i>	ΔR_r	ΔR_b	$\Delta R_b/\Delta R_r$	<i>P</i> %
dark/control	12	1.46 ± 0.19	1.29 ± 0.17	0.91 ± 0.06	4.57
dark/SNP	12	1.57 ± 0.23	0.35 ± 0.10	0.19 ± 0.06	0.01 以下
light/control	6	2.05 ± 0.21	0.40 ± 0.19	0.20 ± 0.09	0.21
light/SNP	6	1.86 ± 0.11	0.43 ± 0.25	0.21 ± 0.12	0.06

表 5.3: Control および L-NMMA 注入時の光誘起性入力抵抗変化値

Condition	<i>n</i>	ΔR_r	ΔR_b	$\Delta R_b/\Delta R_r$	<i>P</i> %
light/control	6	2.61 ± 0.92	0.67 ± 0.61	0.07 ± 0.16	0.22
light/L-NMMA	6	2.14 ± 0.72	1.92 ± 0.74	0.86 ± 0.06	6.66

減少した (表 5.2). 以上のことから暗順応時には短波長性のシナプス入力の不活性化しており, SNP はそれを活性化したと考えられる.

明順応網膜における SNP の効果

SNP の効果を明順応網膜でも確かめた. この場合, Control 時においてすでに入力抵抗変化の波長依存性が存在した (図 5.3(a) 左). これは図 5.1(a) と同じ条件である. (なおこの記録では正のパルス電流を注入しており, 光誘起性入力抵抗変化やその波長依存性にパルス電流の極性は無関係であることがわかる).

同一細胞の膜電位を記録しながら Control Ringer から SNP Ringer に切り替えた. この場合静止膜電位に明確な変化は現われなかった. また光誘起性入力抵抗変化の波長依存性についても変化が見られなかった (図 5.3(a) 右). 6 個の細胞からの記録結果を scattergram にまとめたものが図 5.3(b) である. 明順応網膜において SNP の一貫した効果を見ることができなかった. また $\Delta R_b/\Delta R_r$ も 0.20 (control) から 0.21 (SNP) とほとんど変化しなかった.

5.3.3 NOS ブロッカーの効果

NO 合成酵素 (NOS) を阻害する L-NMMA を H1 細胞内に注入し, 光誘起性入力抵抗変化に与える効果を調べた. なお本実験は明順応網膜でのみ実験を行った.

図 5.4(a) は control 時と L-NMMA 注入後の記録波形の例である. Control の状態で存在した光誘起性入力抵抗変化の波長依存性が L-NMMA の注入によって消失し, ΔR_r と ΔR_b が等しくなった. 6 個の細胞から得られた結果が図 5.4(b) である. L-NMMA によってデータ点はほぼ 45° の線上に並び, 入力抵抗変化の波長依存性が消失したことがわかる. 結果を統計的にまとめたものが表 5.3 である. L-NMMA の注入によって $\Delta R_b/\Delta R_r$ は 0.07 から 0.86 に増

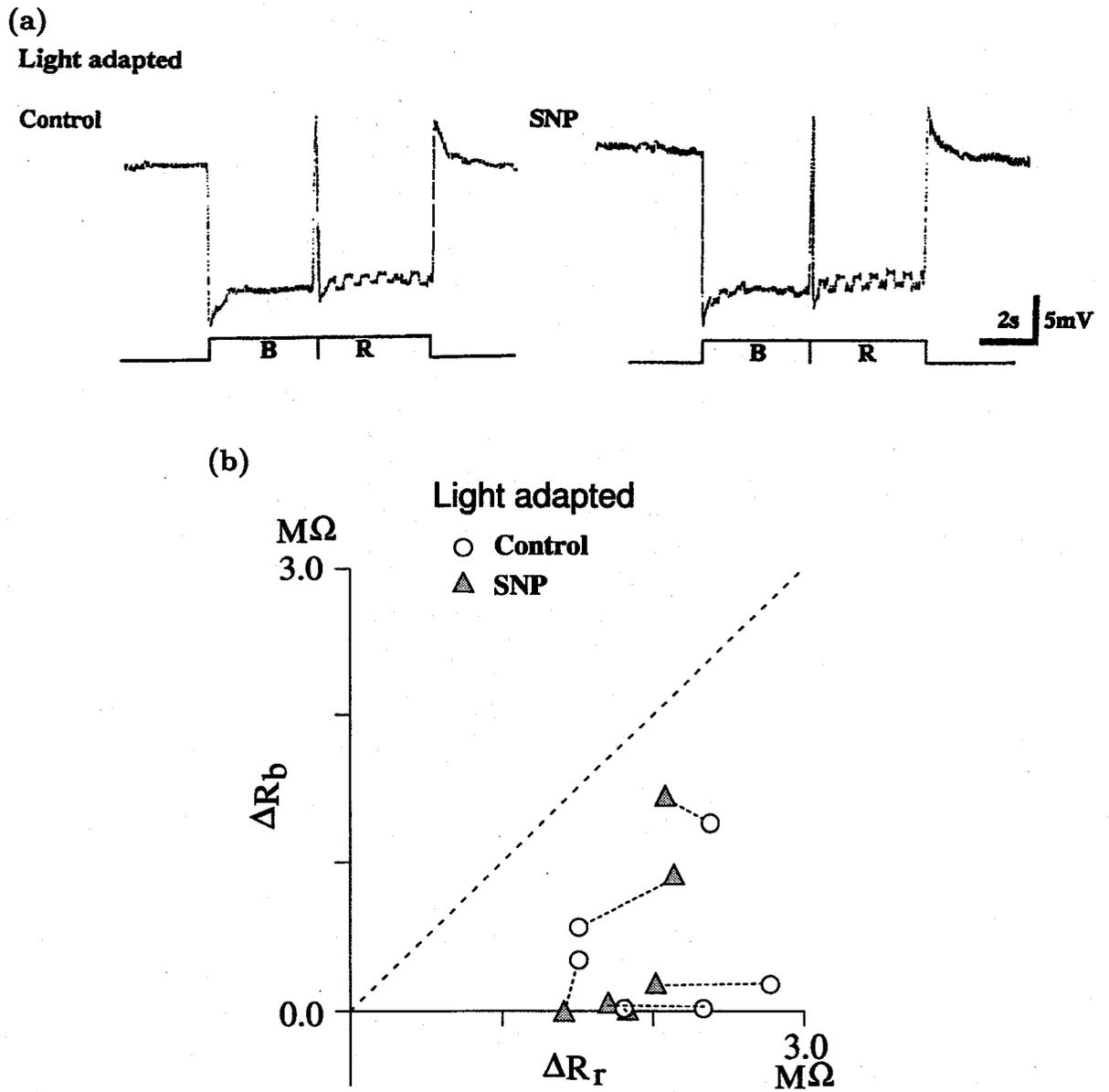


図 5.3: 明順応網膜における光誘起性入力抵抗変化の波長依存性に対する NO donor (SNP) の効果. (a) Control 時 (上段) および SNP 下における同一の細胞からの記録例. 測定条件は図 5.3 と同じ. (b) 6 個の細胞からの記録の scattergram. ΔR_r および ΔR_b は Control (●) から SNP (△) へと変化した. 同一の細胞からのデータ点を点線で結んでいる.

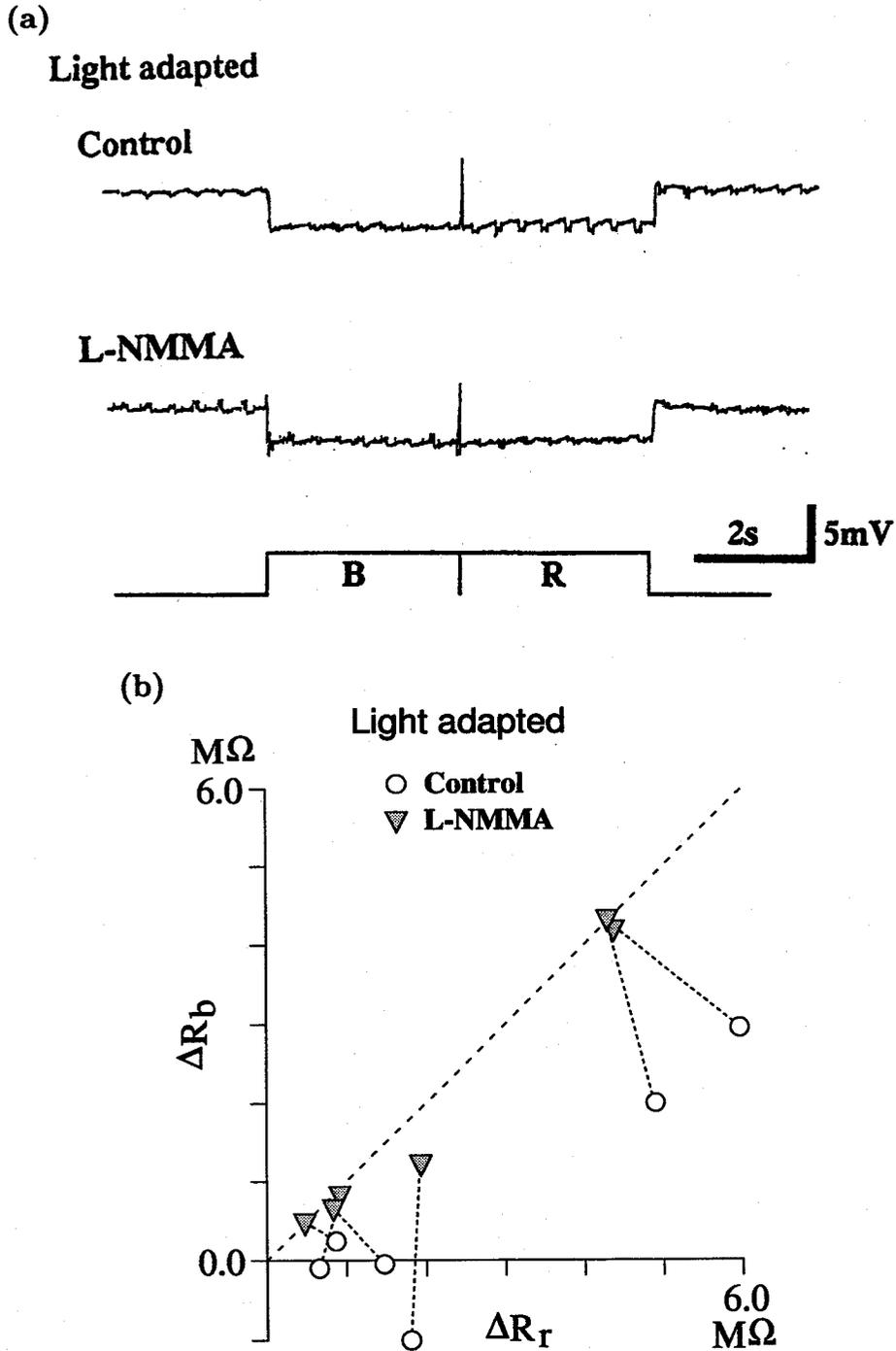


図 5.4: NOS ブロッカーである L-NMMA の効果. 網膜は明順応状態で用いた. (a) 記録例. 注入電流は $-0.4nA$ であり, $-0.4mV$ の過分極が $1M\Omega$ の抵抗増大に相当する.

表 5.4: APB Ringer における光誘起性入力抵抗変化値

Condition	n	ΔR_r	ΔR_b	$\Delta R_b/\Delta R_r$	$P \%$
light/APB	14	0.92 ± 0.16	0.96 ± 0.17	1.07 ± 0.06	28.55
dark/APB	6	1.70 ± 0.75	1.59 ± 0.66	0.94 ± 0.14	51.36

えた。

5.3.4 APB の効果

最後に光誘起性入力抵抗変化の波長依存性に対する APB の効果を調べた。ただし APB による細胞の応答変化はゆっくりと特に回復に時間がかかるため、ここでは同一の細胞で Control Ringer と APB Ringer の 2 条件で調べることができなかった。

図 5.5(a) は APB Ringer 下での記録例である。この場合、明順応網膜であるにもかかわらず、光誘起性入力抵抗変化に波長依存性が見られなかった。図 5.5(b) は明順応網膜の 14 個の H1 および暗順応網膜の 3 個の H1 から取った記録を scattergram にプロットしたものである。明順応の場合も暗順応の場合もほぼ 45° の線にデータが乗り、APB の投与下では順応状態に関わらず光誘起性入力抵抗変化の波長依存性が抑えられることが示された。表 5.4 は統計処理の結果である。 $\Delta R_b/\Delta R_r$ は明順応の場合で 1.07、暗順応の場合で 0.97 とどちらも 1 (すなわち波長依存性なし) とほぼ等しい値になった。

5.4 討論

5.4.1 順応の効果

本章の実験はすべてパルス電流中による細胞の入力抵抗測定に基づいて行った。特に青および赤の単波長光刺激によって誘起される入力抵抗の変化量を測定した。二つの波長の光刺激強度は、それぞれに対する H1 の応答振幅が等しくなるように合わせた。この条件下でも入力抵抗の変化量が波長によって異なれば、H1 には最低 2 種以上の異なるシナプスが存在することになる。これはフィードバック経路や膜電位依存性のイオンチャネルが存在しても同じ論理が成立する。

図 5.6 は本章で述べた実験結果をまとめたものである。縦軸は blue と red によって生じた入力抵抗変化の比 ($\Delta R_b/\Delta R_r$) であり、この値が 1 に近いほど波長依存性がなくなる。図から明らかのように、Control の状態では明順応時に波長依存性が存在し、暗順応ではそれが消失する。NO donor である SNP は明順応と同じ効果を持ち、一方 NOS ブロッカーである L-NMMA は暗順応と同じ効果だった。また APB も暗順応と同じ効果を示した。

これらの結果を素直に解釈するならば、明順応状態では 2 種以上の異なるシナプスメカニズムを介した入力が入力 H1 に入ってきており、そして暗順応によってそのうちのどれかが不活性化すると考えられる。red に対して感受性があるのは赤錐体なので、red に対する入力抵抗変化

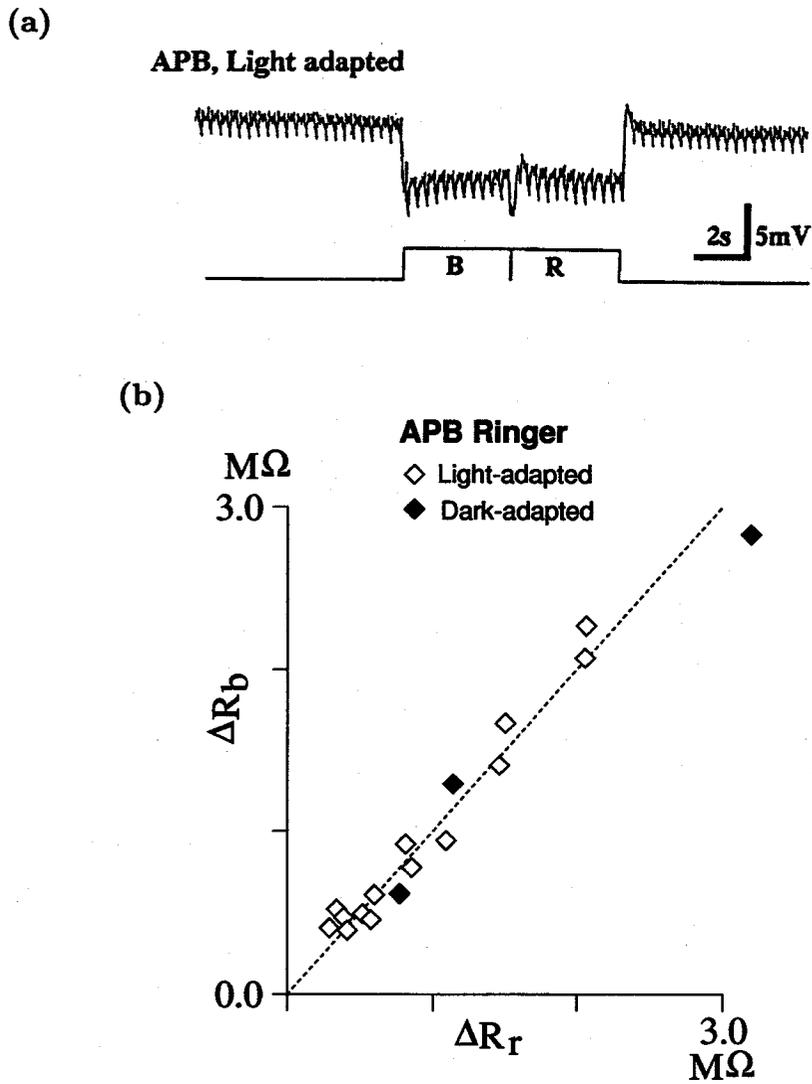


図 5.5: APB の光誘起性入力抵抗変化に対する効果. (a) 明順応網膜に APB を投与したときの記録例. パルス電流は -0.9nA . (b) 明順応状態 (◇) および暗順応状態 (◆) の網膜に APB を投与したときの ΔR_r , ΔR_b の scattergram. 一つの点の一つの細胞からの記録に相当する.

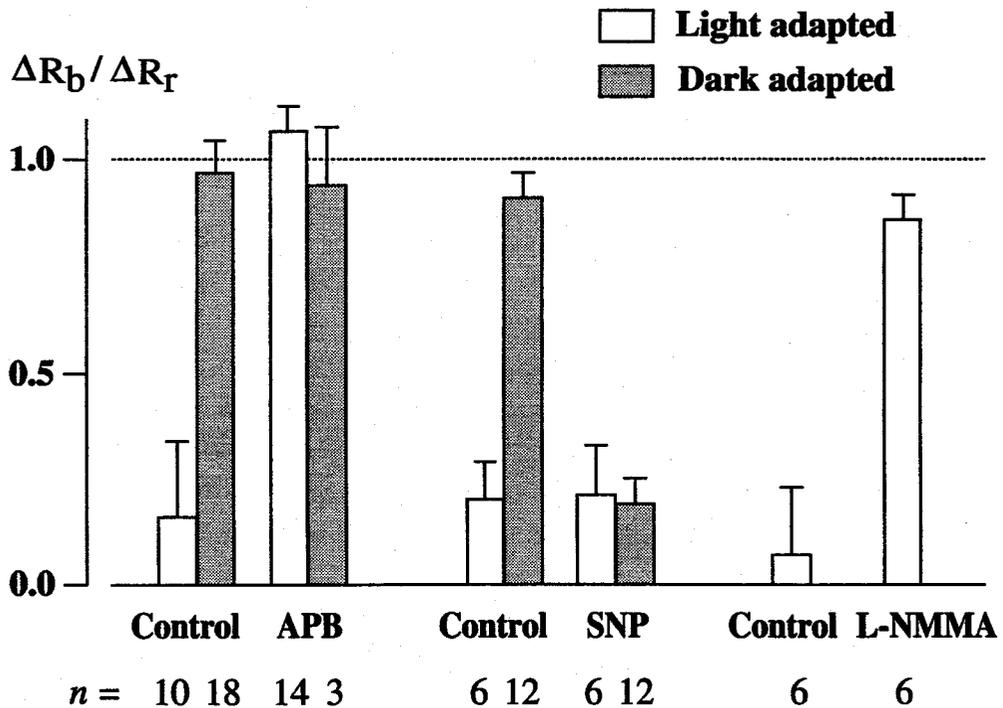


図 5.6: 光誘起性入力抵抗変化の波長依存性に対する順応と薬物の効果. 縦軸 $\Delta R_b/\Delta R_r$ が 1 に近いほど波長依存性がなくなる.

は赤錐体からのシナプスチャンネルによって生じる. 一方 blue に対する入力抵抗変化は赤錐体からのシナプスと第二のシナプス, すなわち短波長性入力の双方によって生じる. しかも blue に対する抵抗変化がきわめて小さいことから, 短波長性入力に光刺激に応じて H1 の膜チャンネルを開く働きがあると考えられる. 暗順応によって波長依存性が消失するという事は, この短波長性入力に暗順応時に不活性化することを意味する. この結果は 4 章の波長感度曲線の測定実験で得られた結果と一致する.

5.4.2 NO の効果

NO donor である SNP は明順応と同じ効果を示した. すなわち入力抵抗変化の波長依存性が存在しない暗順応網膜に対して SNP を投与したところ, 明順応状態と同じ波長依存性が現われた. したがって NO は明順応と同じ効果を持ち, 暗順応で不活性化状態にある短波長性入力を活性化したと解釈できる.

一方 NOS ブロッカーである L-NMMA は暗順応と同じ効果を示した. このことは単に NO が明順応と同じ効果を持つことを示すばかりでなく, NO が実際に網膜から自発的に出ていること, そして H1 水平細胞が少なくとも網膜における NO のソースの一つであることも意味し

ている。コイ網膜において NOS は水平細胞の細胞体にも見出されており^{207,32)}, L-NMMA の注入実験の結果はこれらの知見と一致する。特に Weiler らによれば NOS は水平細胞の中でも H1 に局在しているという報告は興味深い²⁰⁷⁾。

5.4.3 APB, DA の効果

APB は H1 の光誘起性入力抵抗変化に対して暗順応と効果を示した。これは 4 章で述べた APB の波長特性への効果と同じである。したがって順応, NO, APB の 3 点について波長特性と入力抵抗変化の結果は一貫して一致した。しかし DA の効果については異なる。本章の実験では, 入力抵抗の測定を可能にするため, 常に $10\mu\text{M}$ の DA を灌流しつづけた。したがって網膜の明/暗順応の状態に関わらず水平細胞は明順応の状態に置かれていると考えられる。それにもかかわらず, 入力抵抗変化の波長依存性は明順応網膜 (および NO を投与した場合) のみ観察され, 暗順応網膜では見られなかった。すなわち H1 への短波長性入力は暗順応状態で不活性化しており, その活性化は NO が関与し DA は関与しないと解釈される。このことはすなわち, NO と DA は互いに独立した明順応シグナルである可能性を示唆する。

5.4.4 入力抵抗測定について

本章で述べた実験はすべてパルス電流注入とアンプのブリッジバランス回路を用いた入力抵抗測定実験に基づく。したがって光誘起性入力抵抗変化がシナプスチャネルの開閉によって生じると言うためには, 本方法による測定結果が正しく細胞の入力抵抗を反映していること, そして入力抵抗変化が膜抵抗変化に由来することを前提にしている。ここでは本実験方法の妥当性について検討する。

最初に検討すべき点はギャップ結合の影響である。細胞の入力抵抗はイオンチャネルによる膜抵抗とギャップ結合による細胞間の抵抗との合成抵抗で与えられる。本実験は $10\mu\text{M}$ の DA を常に灌流することでギャップ結合を閉じた状態で行った (ギャップを切らない状態では他の細胞へのリークが大きすぎて入力抵抗が測定できない)。したがって DA がギャップ結合を閉じて細胞間抵抗が一定の状態に保たれた状態で本実験が行われたと仮定することは不自然なことではない。しかし DA はギャップ結合を完全に遮断するわけではないため, ギャップの影響がまったくなかったと排除することは難しいだろう。たとえばもしギャップ結合の強度が光刺激によってダイナミックに変化するのであれば, ギャップ結合によっても光誘起性入力抵抗変化が生じる。もっともこれは以下の理由で考えにくい状況である。

水平細胞のギャップ結合強度は IP 細胞の放出する DA によって調節される。しかし, (1) IP 細胞の放出する DA が光刺激に対応したギャップ結合の開閉を H1 に生じるほど速い応答過程とは考えられないこと, 2) 常に DA で灌流しており, IP 細胞から放出される DA の濃度変化が水平細胞に大きな効果を及ぼすとは考えにくいこと, 以上の 2 点から考えて IP 細胞経由で H1 のギャップ結合が光誘起性入力抵抗変化を生じるとは考えにくい。ギャップ結合を調節するもう一つの物質は NO である。しかし SNP を使った実験では網膜が常に NO にさらされており, NO が光誘起性入力抵抗変化を生じることも考えにくい。もちろん入力抵抗変化がギャップ結合に由来する可能性をまったく否定することはできないが, 現時点でその可能性を

支持する根拠は特でない。

考慮すべき二点目は電位依存性の膜チャネルの影響である。水平細胞の細胞膜にはもちろんのことながらシナプスチャネルのほかに膜電位依存性のチャネルも存在する。したがって光誘起性の入力抵抗変化には膜電位依存性チャネルの影響も含まれると考えられる。しかしこのような膜電位依存性のチャネルが入力抵抗変化の波長依存性を生じることはない。なぜなら本実験で blue と red に対する水平細胞の応答振幅は一定に保っており、膜電位依存性のチャネルはどちらの光刺激に対しても同じ状態にあると考えられるからである。

三点目は水平細胞から視細胞へのフィードバックの影響である。blue と red の光刺激に対して H1 自身は同じ応答振幅を示すように保たれたが、H2 や H3 は異なる応答振幅を示すはずである。これがフィードバック経路を介して H1 に影響を及ぼす可能性は存在する。しかしそのフィードバック経路を介した入力も、H1 上に存在する何らかのシナプスを介する以上、H1 の応答振幅と入力抵抗の双方に変化を生じる。そして単一のシナプスしか存在しないのであればやはり応答振幅一定の条件下での入力抵抗変化は一定の値になるはずである。したがって「光誘起性入力抵抗変化」の測定原理はフィードバック経路が存在しても影響を受けない。

ただしフィードバック経路の影響について、Kamermans は別の観点から指摘した⁸¹⁾。彼の指摘によれば、水平細胞から視細胞へのフィードバックが存在するために入力抵抗が正しく測定されておらず、そのためあたかも入力抵抗変化に波長依存性が生じたように見えたのではないかというのである。すなわち光誘起性入力抵抗変化の波長依存性は水平細胞から視細胞へのフィードバックによって生じた測定上のアーチファクトであるというのが彼の主張である。

Kamermans によれば、このアーチファクトは次のようなメカニズムで生じるという。まず測定している水平細胞にパルス電流を注入すると、注入電流の極性に応じて膜電位が過分極もしくは脱分極する。それが視細胞へネガティブフィードバックされ、周囲の視細胞に反対の極性の膜電位変化が生じる。それが今度は近隣の水平細胞へフィードフォワードされる。すなわち測定細胞に負の電流を注入して過分極させると周囲の水平細胞では反対に脱分極が生じる。DA でギャップ結合を切っている状態とはいえ、完全に抵抗が無限大になっていない以上そこに電流が流れる。このときギャップ結合を流れる電流は、電流を注入した細胞と周辺の細胞との電位差に比例する。したがってフィードバックが強ければ強いほど細胞間の電位差が大きくなり、ギャップ結合を流れる電流が増える。すなわち見かけ上の入力抵抗が小さくなったように見える。もしフィードバックの強さが光刺激の波長によって変わるのであれば、実際には膜抵抗が変化しなくても入力抵抗が変化したように見える。

実は Kamermans の上記の指摘を完全に排除することはできない。しかし次の点で入力抵抗変化がフィードバックによるアーチファクトとは考えにくい。

- 1) パルス電流注入に対する水平細胞の膜電位変化は矩形波状である。フィードバックによるアーチファクトはシナプス結合を 2 回経由するため、もっとゆっくりした時間変化が観察されるはずである。
- 2) パルス電流の符号を反転させても結果が変わらない。フィードバックの影響ならば電流の反転により非対称な効果が現われると考えられる（フィードバックの効果も完全に線形ならば変わらないが）。

フィードバックによるアーチファクトであることを完全に否定するためには、水平細胞から視細胞へのフィードバックシナプスをブロックした状態で入力抵抗の測定実験をくり返すことである。このシナプスは GABA を介するため、GABA のアゴニストやアンタゴニストを用いてフィードバック経路を遮断することが考えられる。しかし GABA や GABA ブロッカーでフィードバック経路をブロックすることは難しく^{139,186,199}、この試みは成功しなかった。

5.5 まとめ

光刺激によって生じる H1 の入力抵抗変化を測定した。この入力抵抗変化の大きさは光刺激の波長に依存し、少なくとも 2 種以上のシナプス入力があることが示唆された。そのうち一つは赤錐体からの入力であり、これは光刺激によって抵抗を増大する。もう一つは短波長感受性からの入力であり、これは光刺激によって抵抗を減少させる。短波長性入力は暗順応時に不活性化する。NO は明順応と同じ効果を持ち、APB は暗順応と同じ効果を示した。以上から H1 の短波長性入力が青錐体からの直接入力である可能性が高いといえるだろう。ただし入力抵抗測定に対してフィードバックがアーチファクトを生じる可能性は残されており、H1 への短波長性入力が H2 からの間接入力である可能性が完全に否定されたわけではない。

第 6 章

H1 水平細胞受容野の波長依存性に対する 順応と NO の効果

6.1 はじめに

水平細胞は同じサブタイプ間でギャップ結合を介して互いに電氣的に結合している。そのため樹状突起の範囲を越えた広い受容野を持つ。この広い受容野は水平細胞の特徴の一つであり、視覚画像中のローカルな平均照度を計算していると考えられる。双極細胞には視細胞と水平細胞の差分が入力して中心-周辺拮抗型の受容野が形成されるが、これはスムージングと空間 2 次微分を兼ねたバンドパス特性である。したがって水平細胞が網膜上のどれくらいの範囲の光刺激を平均化するか、すなわち水平細胞のどれくらいの大きさの受容野を持つかによって双極細胞のバンドパス特性が変化すると考えられる。水平細胞の受容野の大きさは順応によって調節され、明順応時には狭く暗順応時には広がる。このような受容野の可塑的な変化は双極細胞のフィルタ特性を視覚環境に合わせて最適化するのに役立つと考えられる。したがって水平細胞の受容野が視覚環境によってどのように調節されるかは網膜における視覚信号処理を考える上でも重要である。

水平細胞の広い受容野はケーブルモデルで説明できる。ケーブルモデルによれば水平細胞の受容野の大きさを距離定数 λ で表すことができる。さらに λ は細胞の膜抵抗 R_m と細胞間のカップリング (ギャップ) 抵抗 R_c の比の平方根 $\sqrt{R_m/R_c}$ に比例する。ケーブルモデルは水平細胞の特性をかなりよく説明する。たとえば水平細胞の受容野は明順応時に狭くなるが、これは IP 細胞が放出する DA が水平細胞間のギャップ結合を閉じて R_c が増大するために生じると理解できる。

このようにケーブルモデルは水平細胞の空間特性をうまく記述するが、しかし受容野に関する現象をすべて説明できるわけではない。現実の水平細胞の受容野は順応だけでなく光刺激の条件によっても変化する。たとえば光刺激の強度を上げると水平細胞の応答振幅の増大に伴って λ も広がる⁹⁹⁾。また刺激光の波長にも依存して変化する。これらの現象は単純なケーブルモデルだけでは説明が難しく、おそらく錐体と水平細胞の作る外網膜ネットワークをより正確に記述することで初めて説明可能になるものと思われる。

H1 の受容野は青色光に対して狭く赤色光に対して広い^{103,182)}。もし H1 が直接・間接を問わず赤錐体の信号のみを受けるならば、H1 の受容野は刺激光の波長に依らず常に一定になるはずだ。受容野の波長依存性が存在することはすなわち、なんらかの形で赤錐体以外のシナプス入力に H1 に存在することになる（その中には赤錐体を介して間接的に他の細胞の信号を受ける場合も可能性としてあるだろう）。

4 章では波長感度特性、5 章では入力抵抗変化を指標に H1 への短波長性入力の存在を示し、さらに順応や NO などとの関係を明らかにした。本章では受容野の波長依存性を指標に H1 への短波長性入力の存在を示すことを目的とする。また受容野の波長依存性は H1 の短波長性入力の機能的意義を考える上でも重要である。さらに順応や NO、APB などの薬物が受容野の波長依存性に及ぼす効果についても明らかにする。

6.2 実験方法

全般的な実験方法

実験動物や網膜試料の扱い方、および記録方法等についての詳細は 4 章ですでに述べたとおりである。また網膜の順応状態の制御も 4 章で述べたものと同じ手順で行った。また記録はすべて H1 の細胞体から取った。本実験に特有の事項についてのみ以下で説明する。

薬物

使用した薬物も 4 章および 5 章で述べたものと大きな違いはない。ここでは NO donor として 500 μ M SNP を用いた。DA-Ringer は DA 5 μ M に 25 μ M のアスコルビン酸を加えた。本章では D₁ ドーパミンレセプタのブロッカーである SCH23390 も試みた。濃度は DA と同じ 5 μ M である。APB は D,L 体を用い、必ず DA もしくは SCH23390 と共に投与した。APB の濃度は通常 1mM であるが、いくつかの実験では 100 μ M の濃度を用いて同じ効果が得られることを確かめた。

一部の試験では細胞内への cGMP の注入を行った。200mM cGMP もしくは 1M dibutyryl-cGMP (db-cGMP) を電極の先端に詰め、1～3 nA の電流で 30 秒から 2 分間細胞内へ注入した。また水平細胞間の dye-coupling を調べるため、蛍光染色物質である Lucifer Yellow の注入も行った。Lucifer Yellow CH (Sigma) を 0.1M の LiCl に溶解して電極の先端に詰め、cGMP 同様に負のパルス電流で電気泳動的に細胞内に注入した。

光刺激と受容野測定法

本章のほとんどの実験において、受容野の大きさは spot 光と annulus 光への応答振幅の比で大小を比較した。spot は直径 0.6mm の小さな小円の光刺激で、受容野中心へ照射する。一方 annulus は内径 1.7mm、外径 2.2mm の円環の光刺激で、受容野周辺部へ照射する。spot と annulus は細胞の記録位置を中心に同心円状になるように配置した。このサイズの spot と

annulus を用いて 700nm の光刺激を与えると, H1 には spot と annulus に対してほぼ同じ振幅の応答が生じる。

光刺激は 150W のハロゲンランプを用い, 干渉フィルタ (W-type, 透過幅 10nm, 湘南光膜) を用いて単波長光を生成する。本実験で用いた波長は 460, 530, 620, 700nm であり, ここではそれぞれの光を blue, green, orange, red と呼ぶことにする。このうち green と orange は細胞の同定に用い, 受容野の測定は blue と red についてのみ行った。blue と red それぞれの光強度は $3.3 \times 10^4 \text{ quanta}/\mu\text{m}^2/\text{sec}$, $1.4 \times 10^4 \text{ quanta}/\mu\text{m}^2/\text{sec}$ である。blue と red を等光子数にすると annulus 光に対する blue 応答が小さくなりすぎてしまうため, ここでは spot 光に対して red 応答と blue 応答がほぼ等しくなるような光強度を選んだ。なお orange と green についてはほぼ red と同程度の光強度に合わせた。光刺激は rotating wheel を用いてフラッシュ状に網膜へ与えた。光刺激の duration はほぼ 100msec である。

受容野の指標としては annulus と spot の応答振幅比, A/S 比を用いた。これは annulus 応答振幅の大きさを spot 応答で割ったもので, この数値が大きいほど相対的に受容野の周辺部刺激に対する感度が高いことになる。すなわち A/S 比が大きいことは受容野が広いことを意味する。受容野の波長依存性があれば A/S 比も blue と red とで異なることになる。そこでどの程度の波長依存性があったかを示す指標として CD 値 (chromatic difference) を定義した。これは以下の式で表される。

$$CD = \frac{(A/S)_{\text{red}}}{(A/S)_{\text{blue}}} - 1$$

ここで $(A/S)_{\text{blue}}$, $(A/S)_{\text{red}}$ はそれぞれ blue, red に対する A/S 比である。受容野の波長依存性がないとき, すなわち $(A/S)_{\text{blue}} = (A/S)_{\text{red}}$ のとき, CD 値は 0 になる。一般に $(A/S)_{\text{blue}}$ は $(A/S)_{\text{red}}$ よりも小さな値を示すため, 波長依存性が大きくなるほど CD 値も大きくなる。

上記の光刺激系の他に, 液晶プロジェクタを用いた光刺激系も使用した。液晶プロジェクタ (EPSON, ELP-3300) はパソコン (NEC, PC-9801BX) により制御される。液晶プロジェクタはメタルハライドランプを光源とする。内部ではランプの発する白色光をダイクロイックミラーで長・中・短波長の 3 つのビームに分割し, それぞれのビームを液晶パネルに透過した後, プリズムで合成して投影する。本実験では 3 つのビームそれぞれに対してさらに干渉フィルタ (W-type, 湘南光膜) を通して単波長光にした。また実験で用いない中波長領域をリジェクションフィルタでカットした。すなわちこの液晶プロジェクタはコンピュータの画面を blue: 462nm および red: 657nm の 2 つの単波長光として投射することができる。投射された光は 35mm カメラレンズ (ニコン, F=1.4) を用いて網膜へ像を結ぶ。光強度の強さはパソコンでコントロールできるが, もっとも明るくしたときの強度は blue: $8.33 \times 10^7 \text{ photon}/\mu\text{m}^2/\text{sec}$, red: $14.24 \times 10^7 \text{ photon}/\mu\text{m}^2/\text{sec}$ である。ただしこのままでは明るすぎるので, ラティン ND フィルタ (コダック) を用いて 10^{-3} だけ減光した。なおパソコンからのコマンドで, red, blue それぞれ 255 階調の明るさのコントロールが可能である。画面の解像度は 640×480 であり, これが網膜上では $18.24\text{mm} \times 13.68\text{mm}$ の大きさに投影される。したがって 1 ピクセルは網膜上で $28.5\mu\text{m}$ に相当する。

液晶プロジェクタを用いて, スリット光刺激を網膜に与えて受容野測定を行った。スリットは幅 $300\mu\text{m}$, 長さ 13.7mm で, duration は 0.3sec である。このスリットの提示位置を $300\mu\text{m}$

ずつ動かして光応答振幅を計測した。スリットの色は白色光の代わりとして blue と red の光刺激を最大強度で与えた。スリットによる受容野測定時に、背景光として red もしくは blue の一様光を加えた。この背景光の強度を 0 から徐々に強くし、背景光に対する細胞の膜電位変化と受容野サイズとの関係を求めた。

6.3 実験結果

6.3.1 受容野の波長依存性と順応の効果

図 6.1(a) は 4 つの波長の光刺激に対する H1 応答の記録例である。明順応網膜の H1 に対して spot を与えた場合、どの波長に対してもほぼ同程度の応答振幅を示した。しかし annulus に対しては応答振幅が波長によって大きく異なり、青 (B) に対する応答振幅は赤 (R) に対する応答と比べて極めて小さくなった。すなわち A/S 比を 4 つの波長ごとに取ると、短波長では A/S 比が小さく (すなわち受容野が狭く)、長波長では A/S 比が大きく (すなわち受容野が広く) なる。このような受容野の波長依存性は暗順応網膜では見られず、spot に対しても annulus に対しても応答振幅は波長によって大きく違いが生じない。

図 6.1(b) は 57 細胞 (明順応 31, 暗順応 26) からの記録結果を集計したものである。明順応状態では A/S 比が blue と red に対して大きく異なるのに対し、暗順応時では両者の A/S 比にほとんど差がなくなる。すなわち明順応時には受容野の波長依存性が存在し、青受容野は赤受容野と比べて狭くなる。そしてこの受容野の波長依存性は暗順応網膜において消失する。

図 6.2 はスリット光刺激を用いて H1 の距離定数 λ を求めた例である。スリット光を与えるときに定常的に blue もしくは red の背景光を与え、背景光が距離定数に与える効果を調べた。グラフの縦軸は距離定数、横軸は背景光による細胞の過分極の大きさ V_b である。

背景光が存在しない状態から少しずつ背景光の強度を上げていったところ、 V_b が上昇するにつれて λ も減少した。しかし V_b に対する λ の減少率は背景光が red と blue の場合で異なった。明順応網膜では red に比べて blue の方が早く λ が減少するが、暗順応の場合は両者に大きな差異が見られず、どちらかと言えば red の方がやや早く減少する傾向が見られた。また同じ V_b であっても背景光の波長に応じて λ が異なるため、この現象は単に膜電位に依存した現象ではない。

6.3.2 H1 受容野に対する NO の効果

NO donor として SNP を用い、NO が H1 受容野の波長依存性に及ぼす効果を調べた。暗順応網膜において、SNP の投与以前は受容野の波長依存性が存在しない。しかし 500 μ M の SNP を投与したところ膜電位は約 5mV 脱分極し、同時に応答振幅が全体的に増大した。それとともに blue に対する annulus 応答が他の波長と比べて相対的に小さくなり、受容野の波長依存性が生じた。SNP の投与を中止すると H1 の応答はすみやかに control の状態に戻った (図 6.3(a) 上段)。一方明順応網膜に対して SNP を投与したところ、膜電位や光応答振幅に変化は生じなかった。また明順応網膜では control の時点から受容野の波長依存性が存在し、SNP はそれ以上の変化を生じなかった。

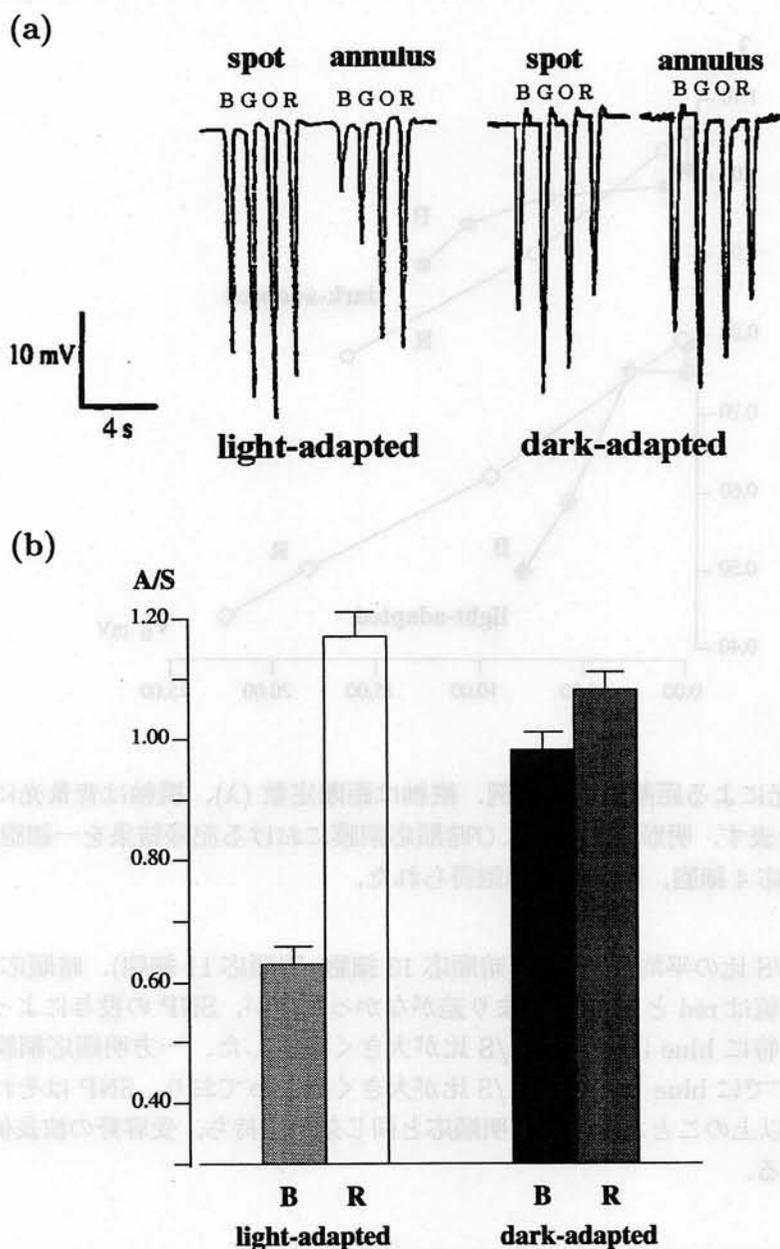


図 6.1: (a) spot/annulus に対する H1 応答の記録例. 4つの異なる波長の光刺激に対する応答を記録した. 左から青 (B: 460nm), 緑 (G: 530nm), 橙 (O: 620nm), 赤 (R: 700nm) である. 左の記録は明順応網膜における H1 の spot と annulus に対する応答, 右の記録は暗順応時の同様の記録例である. (b) blue と red に対する A/S 比. 明順応時 (左, $n = 31$) は blue と red に対して A/S 比が大きく異なり, 受容野の波長依存性が存在する. 暗順応時 (右, $n = 26$) には blue と red でほぼ A/S 比が等しくなり, 受容野の波長依存性が消失する.

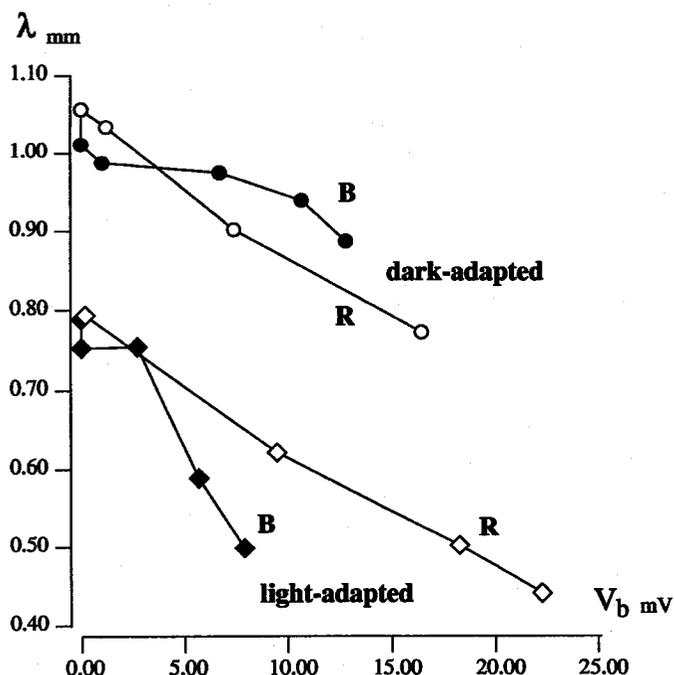


図 6.2: スリット光による距離定数測定例. 縦軸は距離定数 (λ), 横軸は背景光による細胞の過分極電位 (V_b) を表す. 明順応網膜および暗順応網膜における記録結果を一細胞ずつ示した. 同様の結果は明順応 4 細胞, 暗順応 8 細胞得られた.

図 6.3(b) は A/S 比の平均値である (暗順応 13 細胞, 明順応 11 細胞). 暗順応時の control の場合, A/S 比の値は red と blue であまり差がなかったのが, SNP の投与によって差が広がる方へ変化した. 特に blue に対する A/S 比が大きく減少した. 一方明順応網膜においては control の段階ですでに blue と red の A/S 比が大きく異なっており, SNP はそれ以上の変化を生じなかった. 以上のことから NO は明順応と同じ効果を持ち, 受容野の波長依存性を促す働きがあると言える.

6.3.3 H1 受容野に対する DA および APB の効果

H1 受容野の波長依存性に対する DA の効果を調べた. 図 6.4 は $5\mu\text{M}$ DA および D_1 受容体の選択的ブロッカーである $5\mu\text{M}$ SCH23390 の A/S 比に及ぼす効果をまとめたものである. 本実験では明順応網膜のみを用いた. DA は A/S 比を全体的に小さくしたが, 特に blue に対する A/S 比を顕著に抑え, 受容野の波長依存性をより大きくした. 一方 D_1 ブロッカーである SCH23390 は DA と正反対の効果を示した. SCH23390 は A/S 比を全体的に大きくするとともに特に blue に対する A/S 比を増大させ, その結果受容野の波長依存性を小さくした. 本結果は DA が水平細胞に対して順応信号として働くことと一致する.

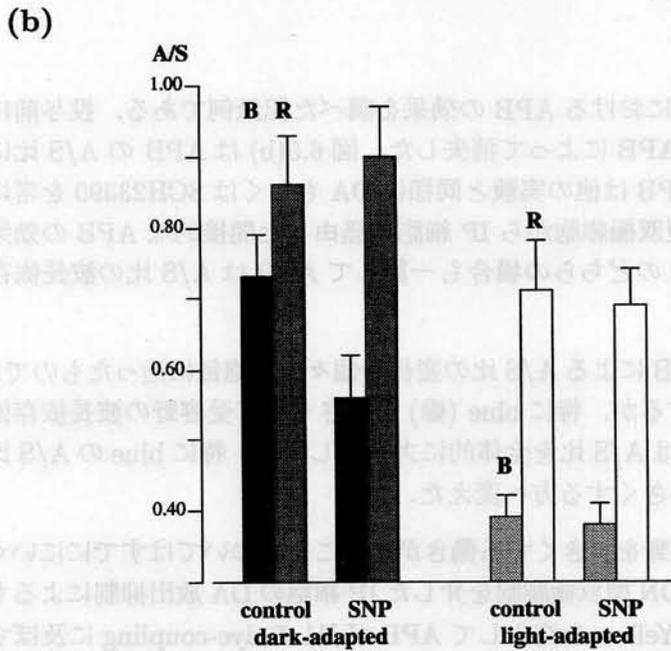
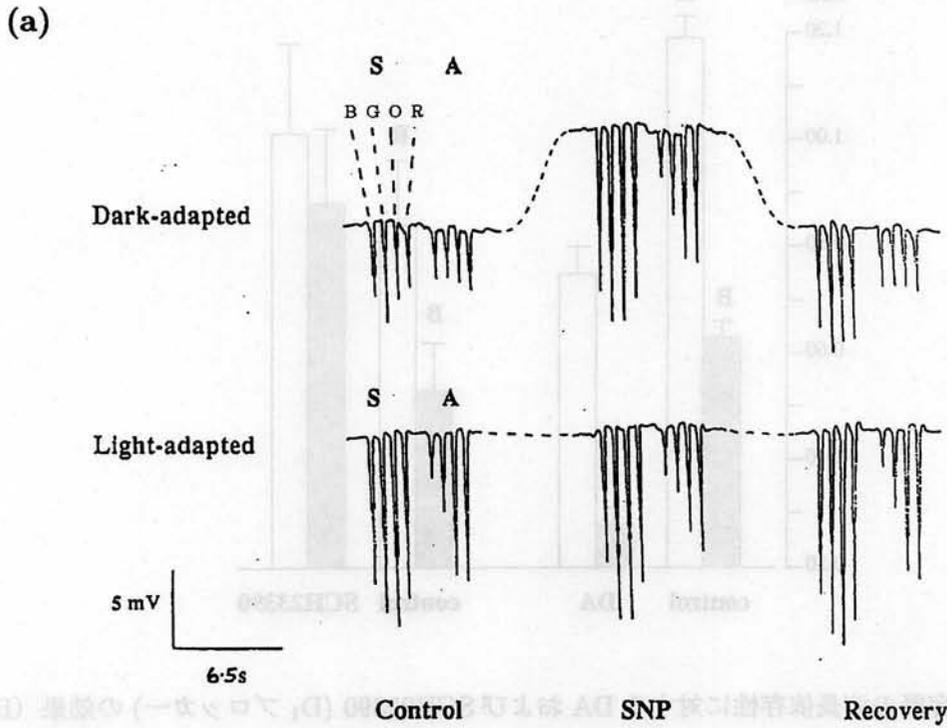


図 6.3: 受容野波長依存性に対する SNP の効果. (a) 暗順応 (上段) および明順応網膜における記録例. (b) 暗順応 (左, $n = 13$) および明順応 (右, $n = 10$) 網膜における SNP の効果 (bar は standard error を示す).

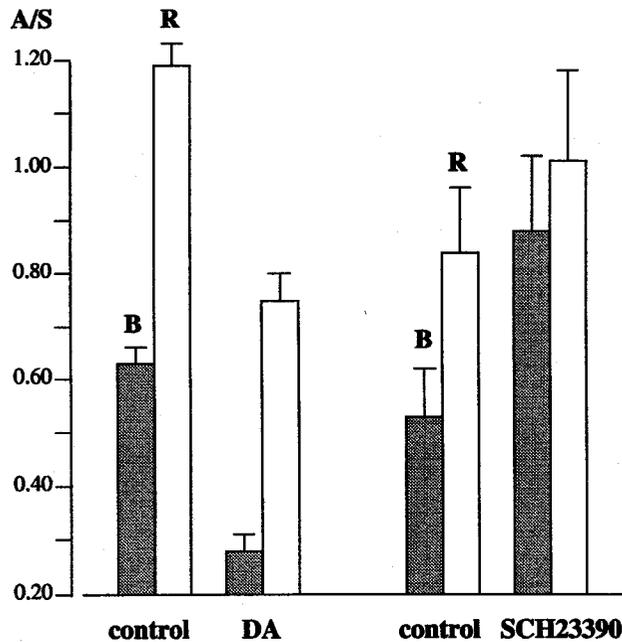


図 6.4: H1 受容野の波長依存性に対する DA および SCH23390 (D_1 ブロッカー) の効果 (DA: $n = 26$, SCH23390: $n = 9$).

図 6.5(a) は DA 灌流下における APB の効果を調べた記録例である。投与前に存在していた A/S 比の波長依存性は APB によって消失した。図 6.5(b) は APB の A/S 比に対する効果をまとめたものである。APB は他の実験と同様に DA もしくは SCH23390 を常に灌流した状態で与えた。これは ON 型双極細胞から IP 細胞を経由した間接的な APB の効果を抑えるためである。DA, SCH23390 のどちらの場合も一貫して APB は A/S 比の波長依存性を減らす方向への効果を示した。

図 6.6 は DA および APB による A/S 比の変化を個々の細胞毎に追ったものである。DA は A/S 比を全体的に小さくするが、特に blue (●) を小さくして受容野の波長依存性を大きくする方へ変えた。一方 APB は A/S 比を全体的に大きくしたが、特に blue の A/S 比を大きくして受容野の波長依存性を小さくする方へ変えた。

APB が水平細胞の受容野を大きくする働きがあることについてはすでになんらかの報告がある^{41,63}。この効果は ON 型双極細胞を介した IP 細胞の DA 放出抑制によるものと考えられている。そこで Lucifer Yellow を注入して APB が H1 の dye-coupling に及ぼす効果を調べた。図 6.7 にその結果を示す。DA 下では H1 の dye-coupling は見られず、注入した細胞のみが観察された。この状況は APB を追加しても dye-coupling に新たな変化は生じなかった。一方 SCH23390 で D_1 受容体をブロックすると強い dye-coupling が見られた。そして D_1 受容体がブロックされた状態で APB を投与した場合も dye-coupling の新たな変化は生じなかった。

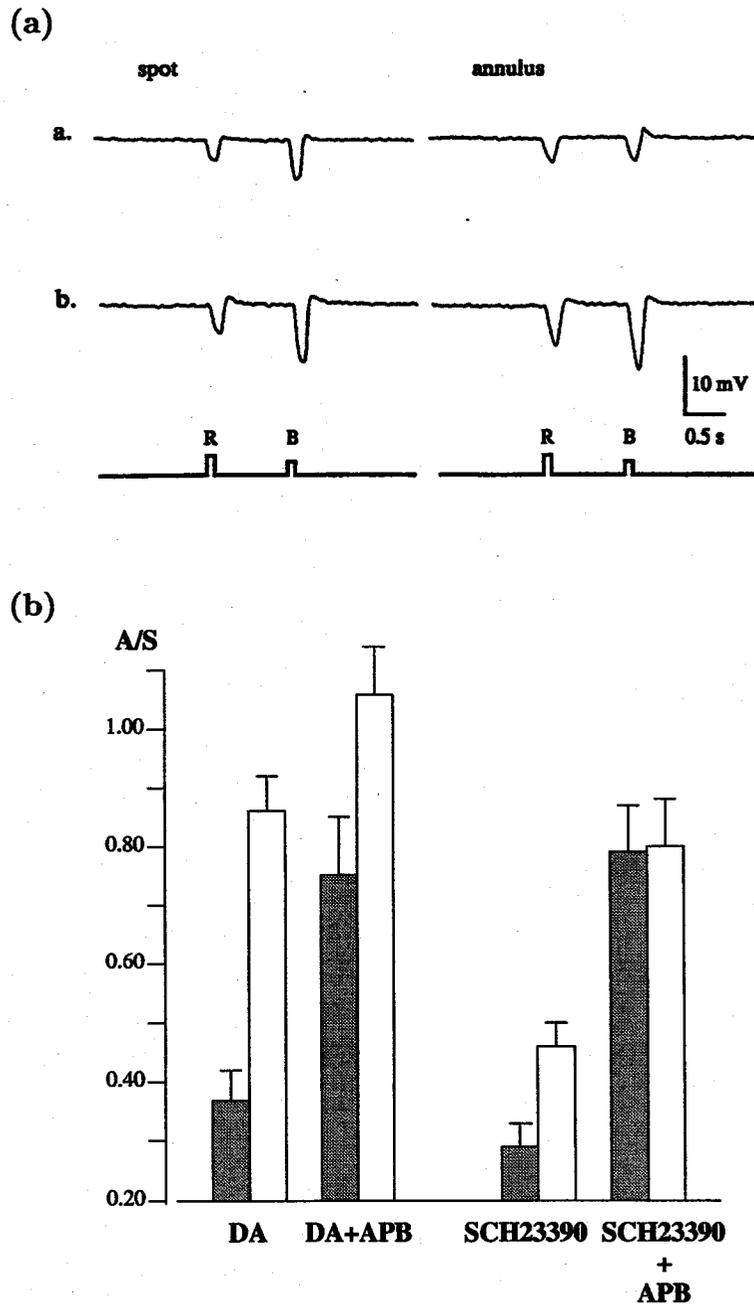


図 6.5: H1 受容野の波長依存性に対する APB の効果. (a) APB にもなう H1 応答変化の記録例. この実験では常に $5\mu\text{M}$ DA で灌流している. APB 投与前 (上段) では A/S 比の波長依存性が存在したが, APB の投与によって消失した (下段). (b) DA もしくは SCH23390 存在下での APB の A/S 比に対する効果 (DA: $n = 16$, SCH23390: $n = 18$).

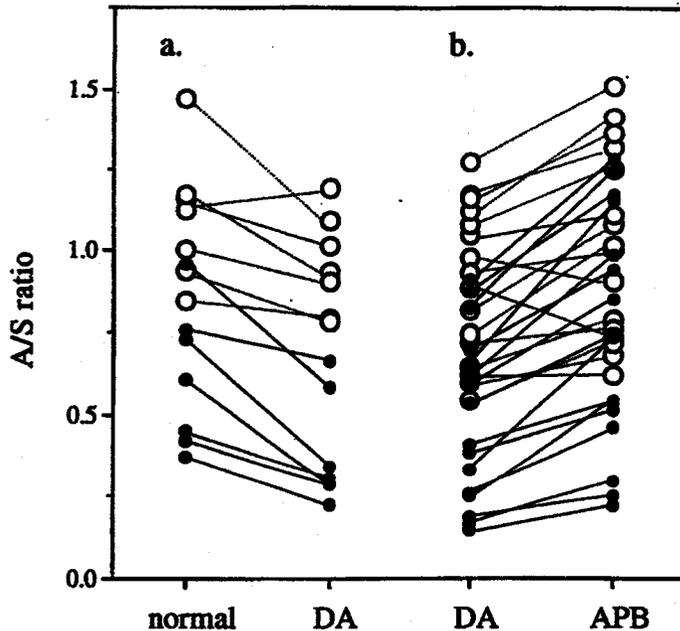


図 6.6: DA および APB による A/S 比の変化. ●: (A/S)_{blue}, ○: (A/S)_{red}.

6.3.4 H1 受容野に対する細胞内 cGMP の効果

cGMP もしくは db-cGMP を H1 に注入したときの A/S 比の変化を調べた. 図 6.8 は cGMP 注入が受容野の波長依存性 (CD) に及ぼす効果を示したものである. リンゲル液としては Normal-Ringer と DA-Ringer を用いたが, どの場合でも一貫して CD 値は増大した. すなわち cGMP の効果は明順応や NO と同じものであった. NO は sGC を活性化して細胞内 cGMP 濃度を上昇させるため, cGMP の注入が明順応と同じ効果を示したことは NO donor の実験結果と一致する.

6.4 討論

6.4.1 H1 受容野の波長依存性と順応の効果

H1 受容野の大きさは刺激光の波長に依存し, 長波長光に対しては広く短波長光に対しては狭くなる. この事実は多くの研究者により指摘されてきたが, 本実験においても spot/annulus 光刺激および背景光下でのスリット光刺激によって波長依存性の存在が確認された. また暗順応網膜では H1 受容野の波長依存性がなくなることが示された.

H1 の主入力は赤錐体である. もし H1 が単純に赤錐体のみから入力を受けるのであれば,

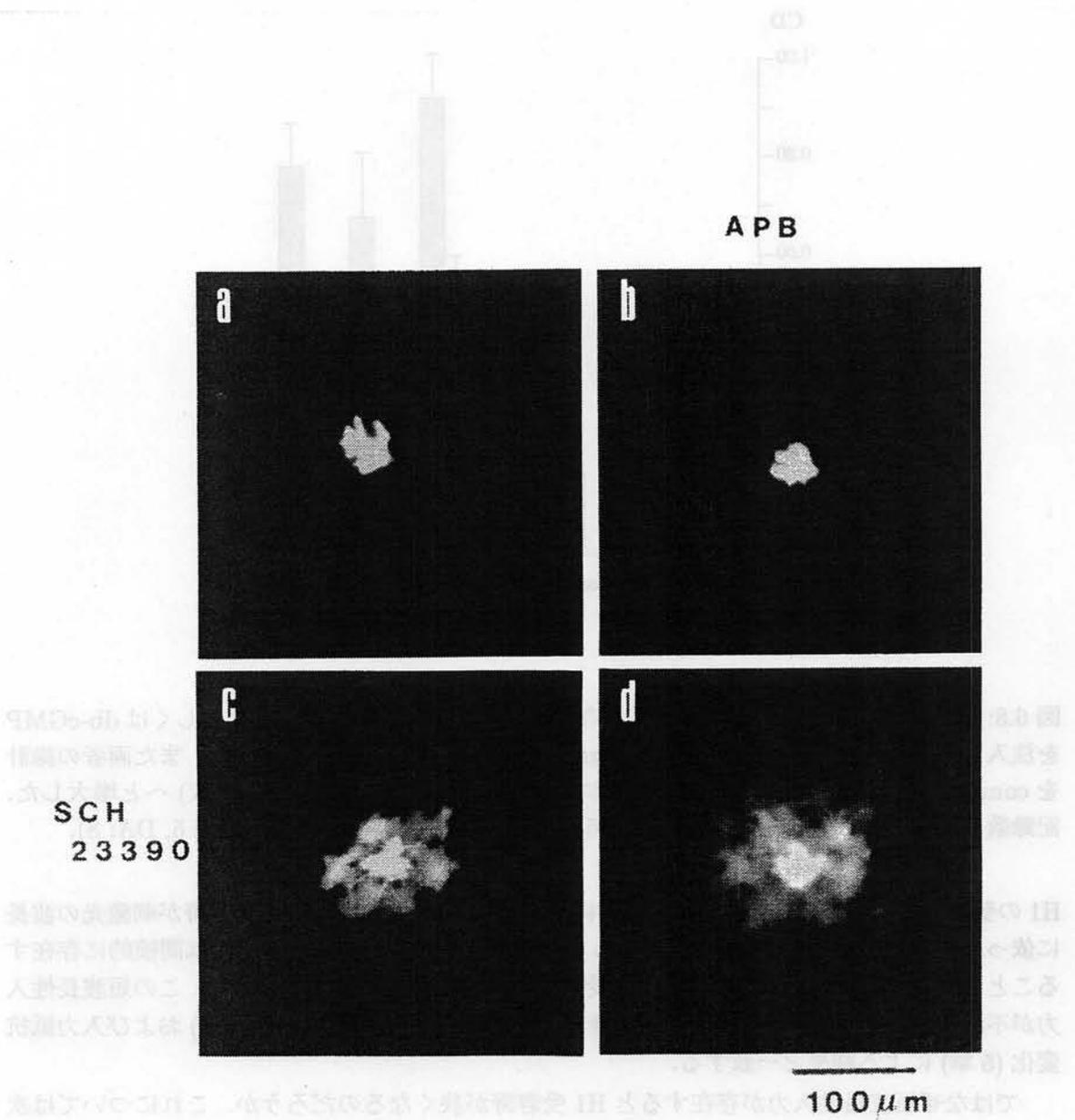


図 6.7: Lucifer Yellow 注入による dye-coupling. a) DA, b) DA + APB, c) DA + SCH23390, d) DA + SCH23390 + APB.

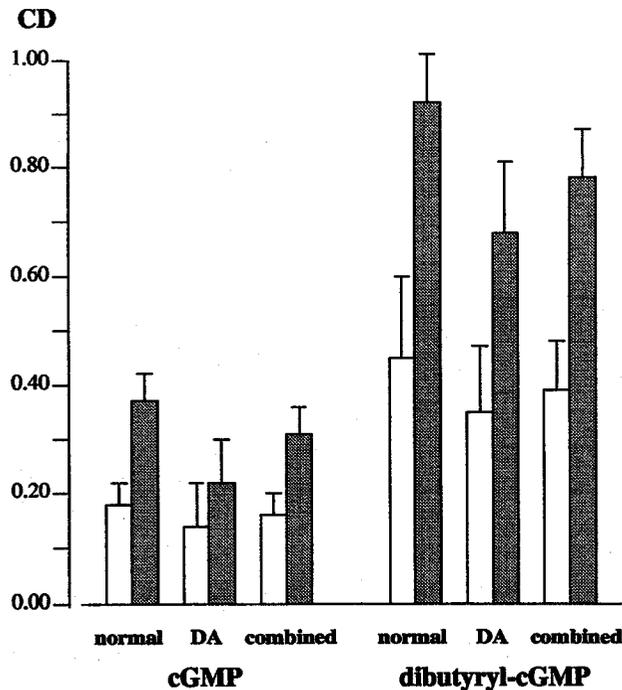


図 6.8: cGMP 注入が H1 受容野の波長依存性 (CD) に与える影響. cGMP もしくは db-cGMP を注入した. リンゲル液は標準溶液 (normal) もしくは DA-Ringer を用いた. また両者の総計を combined として示した. cGMP 注入によって CD 値は左 (白) から右 (灰) へと増大した. 記録数はそれぞれ cGMP: 93 (Normal: 56, DA: 37), db-CGMP: 13 (Normal 5, DA: 8).

H1 の受容野は刺激光の波長に関わらず常に一定になるはずである. H1 受容野が刺激光の波長に依って変わるということは, H1 へなんらかの短波長性入力があることを意味する. そして暗順応により受容野の波長依存性が消えることは, この短波長性入力が不活性化されたためと考えることができる. この結果は波長感度特性 (4 章) および入力抵抗変化 (5 章) による結果と一致する.

ではなぜ短波長性入力があると H1 受容野が狭くなるのだろうか. これについては次の 2 つの仮説が考えられるだろう. まず第一の仮説は H2 からのフィードバックによって受容野の波長依存性が生じるとするものである. H2 は短波長光に対して過分極応答を示し, また H1 同様に広い受容野を持つ. これが赤錐体にネガティブフィードバックを与えたとすると, 赤錐体は受容野周辺部に短波長感受性の広い抑制野を持つことになる. そのため赤錐体からシナプス入力を受ける H1 は, 短波長光に対して受容野の周辺部が削られて狭くなる.

第二の仮説は短波長性入力が H1 シンシチウムの距離定数を変えるというものである. 距離定数 λ は細胞の膜抵抗 R_m と細胞間のカップリング抵抗 R_c の比の平方根 $\sqrt{R_m/R_c}$ に比例する. 短波長性入力が R_m を減少させるならば, 結果として λ も減少して受容野が狭くなる. 入力抵抗測定の実験から明らかになったように, H1 の膜抵抗 R_m は長波長光に対して大きく

短波長光に対して小さくなる。したがって λ も短波長に対して小さくなる。このモデルの場合、青錐体から APB 受容体を介した符号反転型・抵抗増大型（伝達物質に対して）のシナプス入力を考えることで説明が可能だろう。

これら二つの仮説には双方ともに一長一短があり、また本実験結果だけではどちらが正しいか結論づけることはできない。両者の比較と詳細な検討は次章に譲る。

6.4.2 NO の効果

図 6.9 は H1 受容野の波長依存性に対する NO の効果をまとめたものである。波長依存性 (CD) の小さい暗順応網膜に SNP を投与すると CD が増大したが、control の状態ですでに CD が大きい明順応網膜に SNP を投与したときは特に効果が見られなかった。

Petrav は NO donor である SNOG と NO scavenger である Hb を用いて同様の実験を行った¹⁴¹⁾。暗順応網膜に対する SNOG の効果は SNP の結果と同じであり、また明順応網膜に対する Hb の投与は逆に CD を減少させた。以上の結果から NO は明順応と同じ効果を持つこと、組織内で生産されている NO を取り除くと暗順応の方向へ変化が生じることが示された。すなわち H1 に波長依存性を生じている短波長性入力は明順応時に活性化しており、NO はその活性に関わると考えられる。この結果は 4, 5 章の結果と一致する。

6.4.3 DA, APB の効果

図 6.10 は DA, APB, cGMP が H1 受容野の波長依存性 (CD) に与える効果をまとめたものである。DA は CD を増大し、 D_1 ブロッカーは CD を減少した。DA は外網状層における明順応信号として知られており、水平細胞に対しては D_1 レセプタを介して働く。明順応状態では CD が大きくなることから、DA が CD を増大させるという本実験結果は明順応信号としての DA の役割と矛盾しない。

DA は D_1 レセプタおよび cAMP を介して H1 のギャップ結合を閉じる働きがある。ギャップ結合が閉じると水平細胞同士の結合が弱まって受容野が小さくなる。では受容野の波長依存性がギャップ結合の変化によって生じる可能性はあるだろうか。本実験結果が示すように、光刺激の波長を変えると受容野の大きさもすぐ変わる。もしギャップ結合によって受容野サイズが刺激光の波長依存的に変わるのであれば、光刺激と連動してギャップ結合が変化する必要がある。もしギャップ結合の強度を変えるのが IP 細胞から放出される DA だとするならば、受容野の波長依存性を生じるほど速くギャップ結合を変えるのはむしろかしいだろう。また DA-Ringer で灌流すると受容野の波長依存性 (CD) が大きくなったが、もし IP 細胞が放出する DA が受容野の波長依存性の原因ならば DA-Ringer によって CD が小さくなるはずである。しかしギャップの結合強度を波長依存的に変えるのが APB 受容体を介した cGMP の濃度変化であるならばその可能性はあるかもしれない。もし青錐体から H1 への APB 受容体が存在するならば、短波長光は H1 の細胞内 cGMP 濃度を上昇させ、したがってギャップ結合を閉じる方向へ働く。この情報伝達経路は IP 細胞からの経路よりはずっと速く働くと考えられる。もっとも視細胞と H1 とのシナプス部位と、水平細胞間のギャップ結合の部位が異なるため、シナプス部位での局所的な cGMP 濃度変化が直ちにギャップ結合部位にまで及ぶかどうかはわからない。

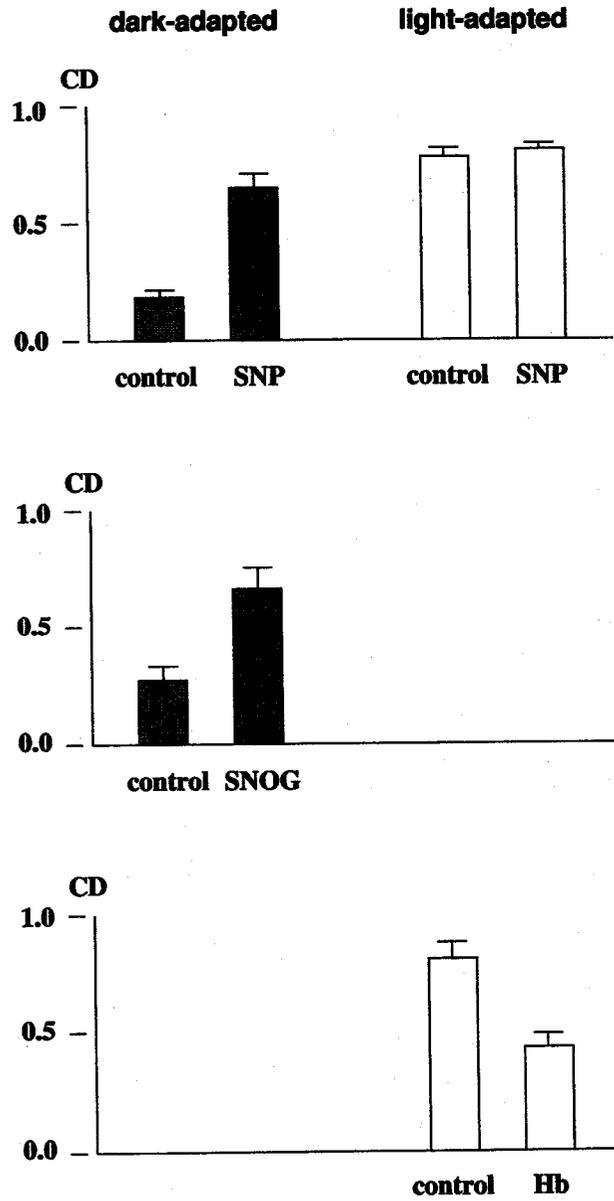


図 6.9: NO donor および NO scavenger の受容野波長依存性 (CD) に及ぼす効果. SNOG (NO donor) および Hb (NO scavenger) は Petruv による¹⁴¹⁾.

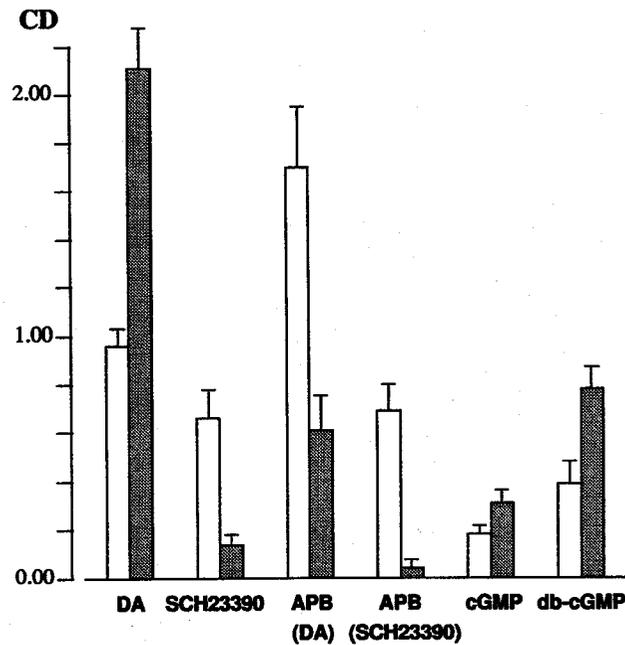


図 6.10: DA, D_1 ブロッカー (SCH23390), APB および cGMP が受容野波長依存性 (CD) に及ぼす効果. control(左, 白) と薬物投与後 (右, 灰) における CD を並べて描いた. APB については常に DA もしくは SCH23390 で灌流している. cGMP 注入については, normal ringer もしくは DA ringer を用いたがここでは両者の結果をまとめて集計した.

APB は A/S 比を増大すると共に CD を減らし, 暗順応と同じ効果を示した. この結果は 4 章, 5 章で得られた知見とも一致する. APB は ON 型双極細胞を介して間接的に IP 細胞からの DA 放出量を変えると考えられるため, H1 の受容野に対しても間接的な効果が存在する可能性がある. しかし DA もしくは D_1 ブロッカの灌流下で APB は Lucifer Yellow による H1 の dye-coupling に新たな変化を生じなかった. このことから本実験で示された APB による受容野および CD の増大はギャップ結合を介したものではないと考えられる.

6.4.4 cGMP の効果

細胞内への cGMP の注入は一貫して CD が増大する方向に変化を生じた. 本結果は受容野波長依存性を生じる短波長性入力 of 細胞内メカニズムに cGMP が関与することを示唆するものである. 細胞内 cGMP はグアニル酸シクラーゼ (GC) により GTP から生成され, ホスホジエステラーゼ (PDE) により GMP に分解される. したがって細胞内 cGMP 濃度はこれら二つの酵素の活性によって調節される. NO は可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC) を活性化することにより cGMP 濃度を上昇し, 一方 ON 型双極細胞に存在する APB 受容体は G タンパク経路で PDE を活性化して cGMP 濃度を減少させる. もし NO や APB が H1 に対して直接効果

を持っているのであれば、NO の効果は cGMP の注入と同じ効果があり、一方 APB は cGMP 注入と反対の効果を持つはずである。GMP が CD を増加するという本実験の結果は NO および APB の細胞内 cGMP 濃度に及ぼす効果と一致する。

6.5 まとめ

H1 の受容野の大きさは刺激光の波長に依存して変化する。この受容野波長依存性は H1 への直接的もしくは間接的な短波長性入力によって生じると考えられる。この短波長性入力は明順応時に活性化し、暗順応によって不活性化する。NO donor, DA, および細胞内への cGMP 注入は明順応と同じ効果を持ち、波長依存性を増大させた。一方 NO scavenger, D₁ ブロッカー, APB は暗順応と同じ効果を示した。短波長性入力に対する順応および薬物の効果は、波長感度特性および入力抵抗変化による結果と一致した。

第 7 章

短波長性入力による H1 水平細胞の特性修飾機構

— 第 I 部の討論 —

7.1 はじめに

水平細胞の光応答特性は視覚刺激・視覚環境に応じて複雑な変化を呈することが前章までの実験で示された。すなわち明/暗順応による特性変化および長/短波長光刺激による特性変化である。しかも順応現象と波長依存現象の間には互いに密接な関係が見られた。

本論文ではおもに H1 への短波長性入力について取り扱ってきた。3つのまったく異なる切り口、すなわち波長感度曲線・光誘起性入力抵抗変化・受容野の3つの視点から H1 の光応答特性の波長依存性を見てきた。そしてこれら3つの実験から得られた結果はまったく同じものであり、それはおそらく共通のメカニズムが存在するであろうことを示唆している。本章ではそのメカニズムについて考察し、さらにこのような順応と刺激光の波長に依存した水平細胞の特性変化機構が視覚情報処理上で果たす役割について考える。

本題に入る前に、まず4～5章で得られた知見について今一度整理してみよう。前章までの実験により H1 について以下のような波長依存現象が観察された。

- **波長感度特性の波長依存性。** H1 は赤錐体を主入力に持つため、H1 の波長感度特性は赤錐体のものとほぼ一致する。しかし赤錐体の波長感度曲線とは厳密な一致をみず、波長に応じて感度のズレが生じる。そこで赤錐体の波長特性を規準にして H1 の波長特性を見ると、長波長に対して短波長の光刺激は感度が相対的に低くなることが示された。ここではこれを「波長感度特性の波長依存性」と呼ぶことにする（言葉としてはおかしいが、他の波長依存現象との統一上この語を用いる）。短波長領域で H1 の感度が相対的に低下することから、この結果は短波長性の抑制性入力の存在を示唆するものである。
- **V-log I 曲線の波長依存性。** H1 の光強度-応答振幅曲線 (V-log I 曲線) は刺激光の波長によって異なる。すなわち univariance にならない。これは複数の錐体からの入力が直接もしくは間接的に入力されていることを示す。すなわち赤錐体以外の短波長性入力が存在することが言える。

- **光誘起性入力抵抗変化の波長依存性.** 光刺激による H1 の入力抵抗変化の大きさは、膜電位変化を一定に保った条件下であるにも関わらず刺激光の波長に依存して異なる値を示した。すなわち長波長の場合の方が抵抗変化量が大きく、短波長に対してはわずかな増大もしくはわずかな減少を示した。このことはすなわち、光刺激によって水平細胞のイオンチャンネルをオープンするような短波長性のシナプス入力に H1 に存在することを意味する。
- **受容野の波長依存性.** H1 の受容野は長波長光に対して大きく、短波長光に対して狭くなった。この現象もなんらかの短波長性入力が存在しなければ説明できない。

上記4つの波長依存現象はすべて明順応網膜においてのみ観察され、暗順応網膜では消失した。また NO, DA が明順応と同じ効果、APB が暗順応と同じ効果を示したことも共通する。これらの共通性から、上記の4つの波長依存現象はすべて同一のメカニズムで生じると考えられる。

波長依存現象は長波長性の入力と短波長性の入力のバランスによって生じる問題であるから、波長依存現象をすべて短波長性入力に帰着させることに疑問を感じられるかもしれない。すなわち、短波長性入力によって H1 の光応答特性が変化する可能性ばかりを強調してきたが、逆に長波長性入力によって波長依存性が生じる可能性をなぜ検討しないのかと疑問に思われるかもしれない。しかし（くどいようだが）次の点をもう一度確認したい。まず単一種類の錐体入力しかない（すなわちフィードバックも含めて一種類の錐体と一種類の水平細胞のみで情報伝達が完結している）のであれば上記のような波長依存現象は一切生じない。H1 の場合は赤錐体が主たる入力であるから、情報伝達が赤錐体と H1 の間でのみやりとりされるならば波長依存現象は起こり得ない。長波長の光刺激に感受性があるのは赤錐体のみであり、赤錐体を主入力とする H1 に波長依存性の現象が生じるのであればどうしても短波長性の入力を検討する必要が出てくる。また赤錐体はすべての波長に対して感受性があるため、赤錐体からのシナプス入力が増減すればそれは H1 のすべての波長に対して一様に（波長非依存的に）応答特性変化が生じる。以上のことから短波長性の入力が増減することで波長依存現象が生じたり消失したりすると考えるのがもっとも自然な帰結であろう。

H1 に直接もしくは間接的に入力を与える細胞としては以下のものが挙げられる。まず4種の錐体（赤/緑/青/UV 錐体）と H1 以外の2種の錐体型水平細胞（H2, H3）である。以上のほか IP 細胞からのフィードバックも入力として存在するが、この入力経路は順応情報を伝えるものと考えられ、光刺激の on/off に応じた速い応答を伝えるとは思えない。

次節から短波長性入力はどこから来てどのように H1 の光応答特性を修飾するのかについて仮説をたてて考えていくが、その前に外網状層に存在する既知の細胞間情報伝達経路をまとめておく。

- **錐体 → 水平細胞:** 錐体が放出する伝達物質はグルタミン酸 (Glu) である^{19,77,106,109,145,175,220}。ただし青錐体については Glu 以外の伝達物質が使われている可能性がある^{107,109}。錐体は暗闇中で Glu を持続的に放出しており、光刺激によって放出量が減少する。水平細胞の Glu 受容体は AMPA/KA 型である¹⁷⁵。しかしナマズなどでは NMDA 型の存在も報告されている^{133,134}。APB 受容体などの代謝型の存在は確認されていないが、APB が H1 に直接効果を与えることを示唆する報告はある¹⁷⁸。

- **水平細胞 → 錐体:** 水平細胞が放出する伝達物質は GABA である^{11,112}). ただし Ca^{2+} の流入に伴うシナプス小胞からの放出ではなく, Na-GABA のトランスポーターによる放出/回収を行っている^{8,159,180}). 視細胞が持つ GABA 受容体は GABA_A である^{31,92,145,218}). また水平細胞自身が GABA_C 受容体を持つ^{31,146,179}). なお水平細胞の Cl^- の平衡電位は静止電位より高いため, GABA は水平細胞に対して弱い興奮性伝達物質として働くので注意が必要である³⁶).
- **水平細胞 ↔ 水平細胞:** 同じサブタイプの水平細胞同士はギャップ結合による電気シナプスで結合する⁸⁹). 異なるサブタイプ同士の直接的な情報伝達経路は知られていない. ただし水平細胞は GABA を放出し同時に GABA 感受性があるので, 論理上は異なるサブタイプ間で GABA を介した伝達経路が存在しうる.
- **IP 細胞 → 水平細胞:** IP 細胞は明順応時に DA を放出する. 水平細胞には D_1 受容体があり, DA により細胞内の cAMP 濃度が上昇する^{28,42}). cAMP はギャップ結合を閉じる働きがある. ON 型双極細胞は光刺激により脱分極応答を示し, それがアマクリン細胞を介して IP 細胞へ伝えられると考えられる. APB は ON 型双極細胞を過分極させるため, 間接的に IP 細胞や水平細胞に効果が現われる.

7.2 短波長性入力経路のモデル

7.2.1 青錐体 — APB 受容体モデル

H1 への短波長性入力を与える細胞としては, 青錐体と H2 がもっとも可能性の高い候補として挙げられるだろう. 緑錐体や H3 の可能性も残るが, 前章までの結果では青錐体と H2 の方がより自然であることと, 仮に緑錐体/H3 の場合でも信号伝達の様式は青錐体/H2 の場合と変わらないので, ここでは青錐体と H2 を代表として考える. そこで本節では青錐体 or H2 が H1 の短波長性入力の信号源であると仮定してそれぞれのケースについて考える信号伝達経路の仮説を立てることから始める.

まず青錐体が H1 への短波長性入力の信号源である場合について考えてみよう. この場合は青錐体と H1 との間にダイレクトなシナプス結合が存在することになる. 4~6 章で得られた知見より, このシナプスは以下の条件を満たす必要がある.

- 符号反転型のシナプスであること. 明順応状態では H1 の短波長光に対する感度が低下する. したがって短波長感受性の入力には抑制性のシナプス入力と考えられる.
- 伝達物質に対して抵抗増大型 (チャネルクローズ型) のシナプスであること. 光誘起性入力抵抗変化の実験によれば, 短波長性の入力は光刺激によってチャネルがオープンして抵抗が減少すると考えられる. 青錐体からの伝達物質放出量は光刺激によって減少するので, H1 のシナプスチャネルは伝達物質の減少によってオープンするようなものと考えられる. すなわち伝達物質に対してチャネルがクローズするような抵抗増大型のシナプスであると考えられる.

- 明順応により活性化されること。また NO や DA によって活性化され、APB によって不活性化するメカニズムが必要である。

伝達物質に対してチャンネルがクローズするタイプのシナプスであることから、少なくとも通常のチャンネル型シナプスではなく、代謝型のシナプスであると考えられる。また青錐体からの伝達物質はグルタミン酸かそれに近いものと考えられ、さらに青錐体から H3 へのシナプスは興奮性であるから、いわゆる抑制性に分類される伝達物質が青錐体から放出されるとは考えにくい。網膜で見出されているシナプス受容体の中でこの枠組みにもっとも適合するのは ON 型双極細胞の APB 受容体 (mGluR6) である。APB 受容体は代謝型グルタミン酸受容体であり、符号反転型・抵抗増大型のシナプスである。ON 型双極細胞の APB 受容体は脊椎動物網膜に普遍的な存在であり、また類似の細胞内メカニズムを持つ視細胞の phototransduction も脊椎動物網膜すべてに共通する。同様のメカニズムが他の網膜神経細胞に発現していてもまったく不自然ではなく、実際神経節細胞からも APB 受容体の存在が報告されている²⁾。

図 2.19(b) は ON 型双極細胞の細胞内メカニズムを描いたものである。APB 受容体にグルタミン酸が結合すると、G タンパクが活性化し、G タンパクは PDE を活性化する。PDE の活性化により細胞内 cGMP 濃度が低下し、cGMP-gated チャンネルがクローズする。同じメカニズムが青錐体—H1 の間に存在すると仮定したとき、本論文で得られた知見をどこまで説明しうるだろうか。そこで青錐体—APB 受容体モデルを“APB 受容体仮説”として以下その妥当性を検討する。

図 7.1 は APB 受容体仮説の概念図である。H1 は AMPA/KA 受容体を介した赤錐体からのシナプスを主入力として持つ一方、青錐体からも修飾性の入力を受ける。青錐体から暗時に放出される伝達物質は G タンパク (GP) を活性化する。G タンパクはホスホジエステラーゼ (PDE) を活性化し、cGMP を GMP へと変える。cGMP は膜にある cGMP-gated チャンネルをオープンするので、青錐体からの伝達物質は cGMP-gated チャンネルを閉じる働きがある。cGMP を合成するのがグアニル酸シクラーゼ (GC) である。その中でも可溶性の GC (sGC) は NO によって活性化する。明順応時には NOS が活性化して NO が生成し、それが sGC を活性化して cGMP を供給する。以下このモデルの妥当性を検討する。

波長感度特性: APB 受容体が存在することにより、青錐体と H1 の間は抑制性シナプスで結ばれる。したがって APB 受容体が活性化すると短波長光に対する光応答が相対的に抑えられる。これは実際の実験結果と合致する。

光誘起性入力抵抗変化: 短波長の光刺激によって青錐体からの伝達物質が減少すると H1 の APB 受容体はチャンネルをオープンする方へ移行し、入力抵抗は減少する。したがって光誘起性の入力抵抗変化の波長依存性をうまく説明しうる。ただし抵抗変化が大きい割に膜電位変化への寄与が小さいことから、cGMP-gated チャンネルの反転電位が暗時の静止電位に近いところにある必要がある。

受容野の波長依存性: 短波長の光刺激は APB 受容体を介して H1 のチャンネルをオープンするので、H1 の膜抵抗 R_m は短波長光に対して小さく、長波長光に対して大きくなる。したがって距離定数 $\lambda \propto \sqrt{R_m/R_c}$ は短波長光に対して小さくなり、これによって受容野が狭

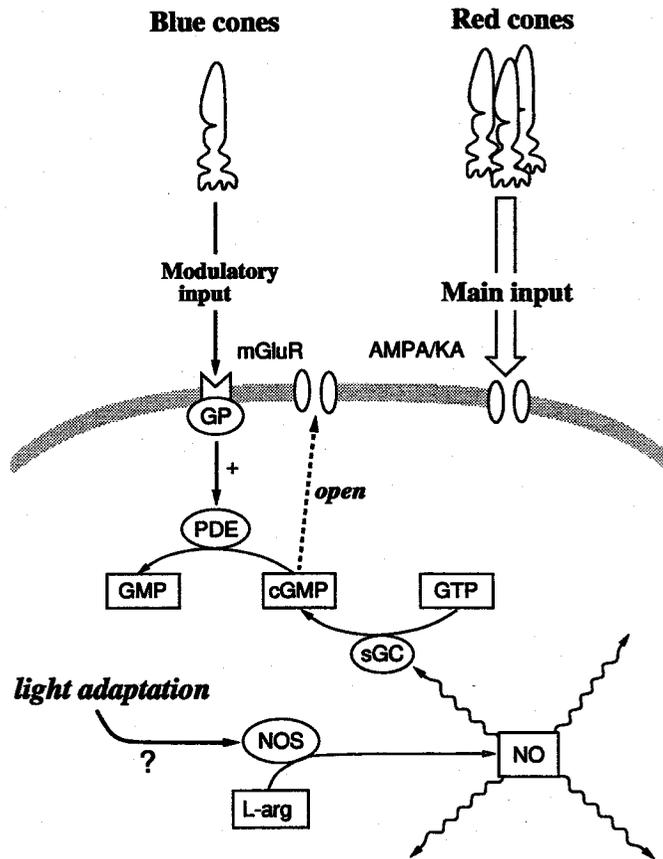


図 7.1: “APB 受容体仮説” の概念図.

くなると説明できる。ただし APB 受容体仮説では短波長光刺激の直下でのみ距離定数が小さくなるため、刺激面積が狭いと受容野の違いがほとんど現われない。したがって受容野の波長依存性を説明するためには、短波長光が広い範囲で λ を変えるメカニズムを考えないといけないかもしれない。

NO の効果: cGMP-gated チャンネルが動作するためには細胞内の cGMP 濃度が十分にあり、また cGMP の合成も絶えず行われる必要がある。もし細胞内に cGMP 濃度が十分なければ cGMP-gated チャンネルは常に閉じたままとなり、APB 受容体は不活性化する。NO は sGC を活性化することで cGMP の生産を促すため、NO は APB 受容体を活性化する因子として働くと可能性は十分ありえる。cGMP の細胞内注入は H1 受容野の波長依存性を増大させたが、これも同じ理由で説明できる。

DA の効果: DA も H1 の短波長性入力を活性化した。しかし APB 受容体仮説には DA が関与する部分がないため、DA の効果をうまく説明することはできない。

APBの効果: APBは選択的アゴニストとしてAPB受容体を飽和させ、その結果短波長性入力をブロックすることができる。したがって実験による結果をうまく説明しうる。APB-Ringerで灌流するとcGMP-gatedチャンネルは常に閉じたままになるが、これは暗順応によるNOS, sGCの不活性化と同じ効果を生じる。

順応の効果: もしNOが順応信号として明順応時に放出されているのであれば本仮説でうまく説明できる。現在のところ明順応信号としてのNOの役割はまだ広く認められてはいないが、しかしNOが明順応と同じ効果を示す結果は網膜のさまざまな部位で報告されている(58,114,116,120)。

以上述べたようにAPB受容体仮説では実験から得られた知見をおおむねよく説明しうる。DAの効果など何点かうまく説明しきれない箇所は残るが、実験事実と矛盾するような否定的な部分は存在しない。

APB受容体仮説の興味深い点のひとつとして、DAとNOという2つの細胞間メッセンジャーが対称性の高い関係を持つことがあげられる。水平細胞に対してどちらのメッセンジャーも明順応信号として働き、一方はcAMPを、他方はcGMPの濃度を上昇させて細胞の光応答特性を変える。cAMPもcGMPもともにギャップ結合を閉じる働きがある。またDAはAMAP/KA受容体の脱感作を押さえて赤錐体からの感度を上昇し、NOはcGMPを介して青錐体からの入力を活性化する(図7.2)。

7.2.2 H2 — フィードバックモデル

APB受容体仮説は青錐体からH1への直接のシナプス入力を仮定した。では短波長性入力H2に由来するとすればどのようなモデルが可能だろうか。

H2からH1への直接の入力経路は現在のところ知られていない。また仮にGABAを介した伝達経路があったにせよ、これは符号保存型であり、符号反転性の短波長性入力にはなりえない。H2はH1同様に錐体に対してネガティブフィードバックを返している。したがってH2の応答は錐体を介してH1に間接的に伝えられる。この信号伝達経路は符号反転型であるから、H1への短波長性入力の候補になりうる。ここではH1の短波長性入力H2→赤(or緑)錐体→H1という経路で入力されると仮定し(図7.3)、これを“フィードバック仮説”として実験結果をうまく説明しうるか検討する。

波長感度特性: H2の応答が符号反転的にH1に入力されるため、短波長光への応答感度が相対的に低下し、実際の波長感度曲線をうまく説明できる。

光誘起性入力抵抗変化: フィードバック仮説の最大の問題点の一つは入力抵抗変化である。フィードバック仮説はH2からH1への間接的な入力である。一方、光誘起性入力抵抗変化の波長依存性はH1への直接的な短波長性入力がないと生じない。したがって「光誘起性入力抵抗変化」の測定結果が正しく膜抵抗変化を表すのならばフィードバック説は否定されるだろう。

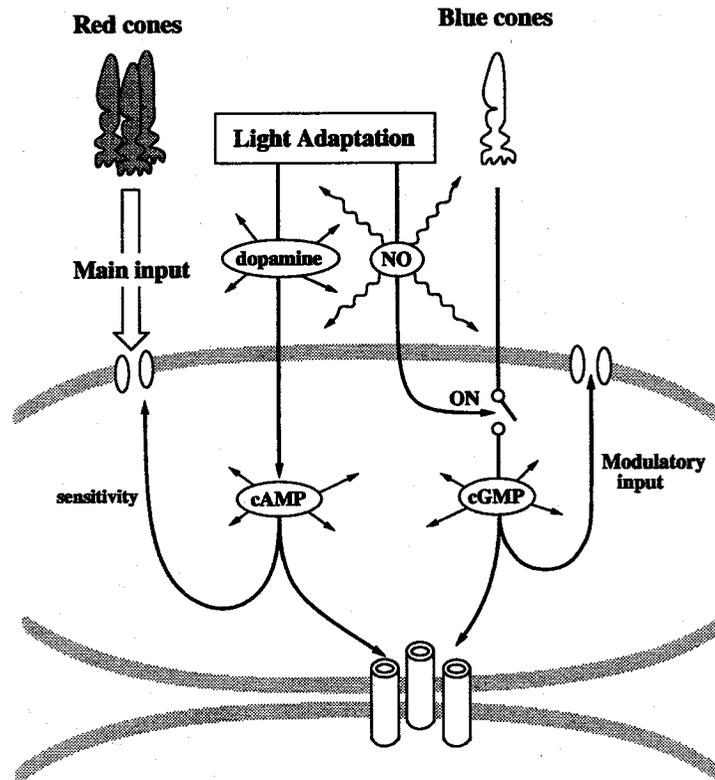


図 7.2: 細胞間メッセンジャー NO と DA はそれぞれ明順応信号として細胞内メッセンジャー cGMP と cAMP に働きかける。

受容野の波長依存性: 赤錐体自身は狭い受容野しか持たないが、H1 同士は互いに電氣的に結ばれて広い受容野を持つ。一方 H2 から赤錐体へのネガティブフィードバックは最初から広い受容野を持つため、H1 ではさらに広い受容野になり、これが赤錐体性の本来の受容野の周辺部を削るように働く。ただし受容野を縮小する方向に働くフィードバックは短波長光のときにのみ生じる。長波長光のときは H2 からのフィードバックがごく弱い興奮性に変わるため、受容野の縮小は見られない。このモデルの場合、短波長光による受容野縮小は刺激位置からある程度離れた地点に対しても効果があり、スリットによる受容野測定実験の結果に対してもうまく説明がつく。

NO の効果: フィードバック経路に対する NO の効果はまだ未知である。4 章では NO が H2 の脱分極応答を大きくする方向へ働いたことから、NO はフィードバックを促進する働きがあると考えられる。ひとつの可能性は NO が spinule の形成を促しているのかもしれない。実際 NO によって spinule の形成された報告がある⁵⁸⁾。しかし NO の効果はきわめて短時間 (1 分内外) に見られ、spinule の形成のような時間のかかる形態変化過程 (15

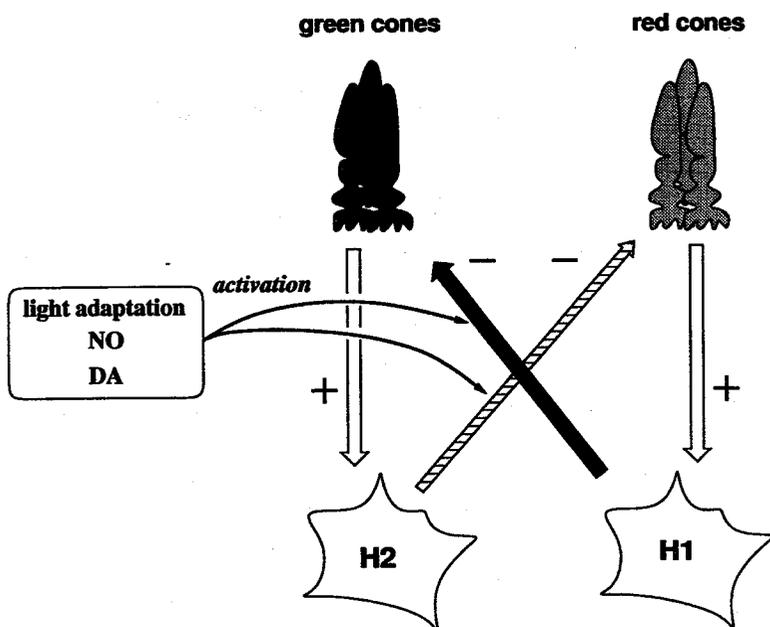


図 7.3: “フィードバック仮説” の概念図。

～30分程度)とはまったく時間スケールが異なる。

DA の効果: DA も spinule を形成してフィードバックを強くする働きがある。したがって DA が短波長性入力を強める効果は説明しうる。

APB の効果: フィードバック仮説では APB が関与する部分がないため、APB の効果はうまく説明できない。APB は ON 型双極細胞を介して IP 細胞からの DA 放出量を変える働きがあるため、APB の効果はこのような間接的な現象なのかもしれない。しかし本実験では APB の投与に際して持続的に DA もしくは D_1 ブロッカーを与えており、IP 細胞を介した間接的な効果とは考えにくい。このことは DA および D_1 ブロッカー下で APB が dye-coupling に効果を生じなかったことから示された。

順応の効果: 水平細胞から錐体へのフィードバックは明順応時に強く、暗順応時に弱くなるかもしくは消失するといわれる。H2 の波長特性の変化はこのように説明されるが、同じことが H1 にも生じると考えることで波長依存性が明順応時に活性化される理由も説明できる。

以上のようにフィードバック仮説もまた本実験結果をおおむねうまく説明しうるが、同時に説明できない点、矛盾する点も若干残る。最大のネックは光誘起性入力抵抗変化の波長依存性である。Kamermans は入力抵抗変化の測定結果自体がフィードバックによるアーチファクトであると主張する⁸¹⁾。Kamermans の反論が適切かどうかは議論の余地が大きい。しかし

しフィードバック仮説が正しいのであれば、本実験方法自体の問題点を指摘する必要があるだろう。その点について Kamermans の指摘は当を得たものである。

7.2.3 APB 受容体モデルとフィードバックモデルの比較

H1 の波長依存性を説明するモデルとして、“APB 受容体仮説”と“フィードバック仮説”を示した。どちらも実験結果をほぼうまく説明できるものの、すべての現象を矛盾なく説明しうるものでもなかった。そこで二つの仮説の長短所を比較してみる。

APB 受容体仮説の長所は APB はもちろんのこと NO や cGMP の効果をうまく説明しうることだろう。また入力抵抗変化の波長依存性についてもうまく説明できる。短所としては、まず定量的な点で少し無理があること (入力抵抗変化および受容野) そして単離水平細胞からの APB 受容体が報告されていないことが挙げられる。

フィードバック仮説の長所は、すべて既知のメカニズムだけで説明が可能だということがまず挙げられる。また受容野の波長依存性についても説明に無理がなく、定量的な説明も可能だろう。一方で入力抵抗変化についてうまく説明できないこと、NO や cGMP などの薬物の作用メカニズムについて説明を加えるものではないことがある。フィードバック経路の可塑性については現在も解明中の問題であり、すべて未知の現象を「フィードバック経路の可塑性」に押し付けることになりかねない。

フィードバック仮説が正しいかどうかを確かめるには、水平細胞から錐体へのシナプスをブロックするのがもっとも確かな方法である。理論上は GABA および GABA 受容体のブロッカー (picrotoxin や bicuculline) を投与することになるが、これらの薬物ではフィードバックを完全にブロックすることはできなかった。その理由は不明だが、同様の報告は他の研究者からも指摘されている^{139,186}。Verweij らはリンゲル液の Ca^{2+} 濃度を 1.0mM から 0.1mM へ薄めた状態で H1 受容野を調べ、波長依存性が低 Ca^{2+} によって消失することを報告した¹⁹⁹。理由はわかっていないが、水平細胞から錐体へのフィードバックは細胞外液の Ca^{2+} 濃度を下げたり Co^{2+} を低濃度で加えることでブロックすることができる^{149,186}。したがって Verweij の報告はフィードバック仮説を支持するものになるだろう。この程度の低 Ca^{2+} 濃度では水平細胞の光応答に影響は生じないものの、おそらくフィードバックに関係する Ca^{2+} チャネルが弱くブロックされるのだろう。NO の発生は細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇に伴う NOS の活性化が必要であるため、 Ca^{2+} チャネルをブロックすると NO の合成がストップする可能性がある。低 Ca^{2+} 溶液による実験は波長依存性に対する NO の関与の点でも重要な問題になるだろう。

APB 受容体仮説かどうかを確認する方法として、赤錐体から H1 へのシナプスを CNQX 等でブロックする方法が考えられる。理論的にはこの方法で赤錐体の応答に隠されていた青錐体性の光応答成分が見えてくるはずである。また Co^{2+} で錐体からの伝達物質放出を完全にブロックした状態で APB を投与する方法も考えられる。これらの実験も試みたが、APB 受容体由来と思われる応答を見ることには成功しなかった。

7.2.4 他の伝達経路の可能性

作業仮説として APB 受容体仮説とフィードバック仮説の二つのモデルを考えたが、他の信号伝達経路の可能性はないのだろうか。まず青錐体の代わりに緑錐体や UV 錐体、H2 の代わりに H3 に置き換えたモデルも可能である。しかしこれらは本質的に図 7.1, 図 7.3 のスキームを書き換えるものではない。

水平細胞間の直接的な相互作用はひとつの可能性だろう。最近では GABA が細胞内代謝系に働きかける形で信号伝達する可能性が網膜の双極細胞で示されている。これは代謝型の GABA_B ではなく GABA_C に類似した受容体だという^{113,211}。したがって NO が活性化する細胞内メカニズムは、APB 受容体ではなく GABA 受容体に関わっているのかもしれない。他にも G タンパクが PDE 以外の酵素の活性を変えて信号を伝える可能性も考えられる。

NO が加わるとさまざまな経路を想定することが可能である。たとえば近年、視細胞からの伝達物質放出は NO によって調節されることが示された¹⁵⁷。これは NO が細胞内 cGMP 濃度を変え、cGMP-gated チャネルからの Ca²⁺ 流入が伝達物質の放出を促すというものである。したがって NO を介した水平細胞から錐体へのフィードバックも考えうる。

いずれの経路にせよ、現在のところ未知の部分が多く広く存在が認められた信号伝達経路ではない。また上記のような伝達経路を考えることでとりわけうまく現象を説明しうるわけでもない。したがって今後新たな発見がなされない限り、とりあえずは APB 受容体仮説とフィードバック仮説の二つを作業仮説とするのが妥当と思われる。以下ではこれら二つのモデルを念頭に置きつつ、順応や薬物の効果について検討する。

7.3 順応・薬物の効果と信号伝達経路

7.3.1 NO の効果

明順応信号としての NO

H1 の波長依存性に対して、NO は一貫して明順応と同じ効果を示した。すなわち NO donor は H1 への短波長性入力を活性化して波長依存性を生じる効果があった。また NO scavenger および NOS ブロッカーは波長依存性を消失させた。H2 の波長特性に対しても NO は明順応と同じ効果を示した。以上のことから網膜内では NO が明順応時に生産されており、それが明順応信号として働くと考えられる。明順応信号としての NO の役割はまだ広く認められてはいないが、網膜の他の細胞においても明順応と同じ効果を持つことが報告されている^{58,114,116,120}。外網膜においては IP 細胞から放出される DA が明順応信号としてよく知られているが、これに新たに NO が加わると考えられる。

では DA と NO の間にはどのような関係があるのか。一方が他方の放出を促す直列的な関係なのか、あるいは互いに独立な並列的關係なのだろうか。光誘起性入力抵抗変化の実験では DA が常に存在するにも関わらず NO が明順応と同じ効果を示した。このことから少なくとも DA によって NO の放出が促されるわけではないと思われる。一方 NO が DA 放出に及ぼす効果はわからないが、NO は DA の放出を弱く抑えることが報告されている^{15,33}。

水平細胞に限っても順応に伴ってさまざまな特性変化が生じる。DAはその一部に関わっているが、しかしDAでは説明がつかない順応現象も存在する^{9,35)}。また光刺激のパターンも重要で、点滅光による順応と持続光による順応とが存在する。そしてDA放出は点滅光によって引き起こされる^{9,43)}。このように網膜内では複数の順応現象が並行して生じている。したがって順応信号もまた複数の物質によって並行して伝えられると考えられる。NOはそのようなDAと独立した明順応信号である可能性があるだろう。

NOのソースとターゲット

では外網膜におけるNOのソース(発生源)とターゲットはどの細胞で、どのようなメカニズムがあるのだろうか。WeilerらがNADPH-diaphoraseをマーカーにしてNOSの分布を調べたところ、コイの外網膜では錐体および水平細胞の細胞体(特にH1)にラベルされた²⁰⁷⁾。DjamgozらもNADPH-diaphoraseをマーカーにNOSの分布を調べ、その結果視細胞および水平細胞の細胞体でNOSの存在が見出された³²⁾。両者とも視細胞と水平細胞の細胞体にNOSが存在することで一致する。また本実験でもH1へのL-NMMA注入が効果を示したことから、少なくともH1がNOのソースの一つであることは間違いないだろう。

神経細胞に存在するnNOS, eNOSはカルモジュリンによって活性化される。すなわち細胞内の Ca^{2+} 濃度上昇によってNOが発生する。では明順応時に視細胞もしくは水平細胞の Ca^{2+} 濃度が上昇しているのだろうか?視細胞の外節部では光刺激がないときにcGMP-gatedチャンネルがオープンしており、持続的に Ca^{2+} が流入する。したがって細胞内 Ca^{2+} 濃度は光刺激が少ないときの方がより高くなる。もしcGMP-gatedチャンネルからの Ca^{2+} 流入によってNOが発生するならば、NOはむしろ暗順応時に合成されることになり、話が逆になる。一方水平細胞では次のような可能性が考えられる。H1の暗時の静止電位レベルは暗順応時に比べて明順応時の方がより脱分極状態にある。このとき電位依存性チャンネルを通して Ca^{2+} が流入するのであればNOは明順応時に放出されることになるだろう。H1自身がNOソースの一つであることから、明順応時にNOが放出されることはいちおう事実と反しないと言えるだろう。しかしこれはまったくの推測に過ぎず、順応に応じたNOS活性と細胞内 Ca^{2+} 濃度変化については今後の研究を待たねばならない。

次に生じる疑問はNOのターゲットである。NOはどのようなメカニズムでどの細胞に効くのだろうか。NOはsGCを活性化してcGMP濃度を上昇させる。MiyachiらはNOがcGMPを介して水平細胞のギャップ結合を閉じる働きがあることを示した。このことから少なくとも水平細胞はターゲット細胞の一つであるといえる。またcGMPを細胞内メッセンジャーとするAPB受容体はNOが働きかけるメカニズムの一つの候補だろう。ON型双極細胞のAPB受容体はPDEを活性化して細胞内cGMP濃度を減少させ、cGMP-gatedチャンネルをクローズする。このメカニズムが働くためにはふだんの細胞内cGMP濃度を一定に保つ必要があり、もしcGMPの合成が止まればAPB受容体も2次メッセンジャーを失って不活性化する。上記の“APB受容体仮説”はこの筋書きに従っている。

NOはまた水平細胞から錐体へのフィードバックにも関与すると思われる。H2の波長特性を調べた実験(4章)では、NOがH2の脱分極応答を大きくした。H2の脱分極応答はH1から

緑錐体へのフィードバックによって作られる。したがって NO はこのフィードバックを強めたと考えられる。水平細胞から錐体へのフィードバックは明順応時に活性化するが、その変化には水平細胞の樹状突起の先端の spinule が関与すると考えられている。spinule と NO の関係は Greenstreet らが示しており、NO が spinule の形成を促す働きがあることを報告している⁵⁸⁾。ただし受容野の波長依存性などで見られる NO の効果は spinule の形態変化よりはるかに短い時間で見られるため、NO は spinule とは別の形でフィードバックを調節するのかもしれない。上記の“フィードバック仮説”はこの筋書きで説明されるが、NO がどのようにフィードバックを調節するかはまったく未解明である。

使用薬物について

本論文では、NO donor として SNP, SNOG, NOR1, SNAP を用いた。また NO scavenger として Hb, Carboxy-PTIO を用いた。さらに NOS ブロッカーとして L-NMMA を用いた。このうち SNP は NO を発生すると同時にシアン化合物を生成するため、細胞に対して弱い毒性を持つ。本実験では SNP の毒性の影響については調べなかったが、SNP の毒性が水平細胞の光応答特性に影響を与えないことについてはすでに報告がある¹⁴⁴⁾。また他の NO donor でも SNP と同じ結果が得られたため、SNP の毒性の問題はなかったと考える。

7.3.2 DA の効果

DA は外網膜における明順応信号として知られているが、本実験においても DA は明順応と同じ効果を示し、H1 の波長依存現象を生じる働きがあった。NO が水平細胞内 cGMP 濃度を上昇するのに対して、DA は D₁ 受容体を介して水平細胞内の cAMP 濃度を上昇する。cGMP も cAMP もギャップ結合を閉じる働きがあるため、水平細胞の受容野に対する両者の効果は類似する。

しかし波長依存性の観点から見ると、NO と DA の双方が同じ効果を生じるようなメカニズムを考えることはむずかしい。また明順応による NO 合成のメカニズムと DA 放出のメカニズムに共通する点は見出しにくい。さらに光誘起性入力抵抗変化の実験では常に DA が存在するにも関わらず、暗順応によって波長依存性が不活性化しており、NO donor によって活性化状態へと移行した。これらのことを考えると、NO と DA は独立した信号伝達経路を持つようにも思われる。DA と NO の関係については今後の課題となるだろう。

7.3.3 APB の効果

APB は H1 への短波長性入力をブロックし、暗順応と同じ効果を示した。APB の効果をもっとも単純に説明するのが“APB 受容体仮説”である。APB 受容体仮説は APB や NO が短波長性入力に及ぼす効果をうまく説明しうるモデルであるが、H1 において APB 受容体の存在を示す直接的な証拠が自他の研究で見出されていない点が今後の問題として残る。

APB の効果を解釈する場合、ON 型双極細胞を介した間接的な効果についても考慮する必要がある。APB は ON 型双極細胞を過分極し、その結果 IP 細胞からの DA 放出量を減らすと考えられる。APB の効果として水平細胞の受容野が大きくなることが報告されているが、こ

これは ON 型双極細胞から IP 細胞を経て間接的に水平細胞に効果が現われたものと考えられる。しかし本実験において、APB は常に DA もしくは D_1 ブロッカーの存在下で投与した。したがって IP 細胞からの DA 放出量変化はリンゲル液中に常に存在する DA もしくは D_1 ブロッカーの影響で覆い隠され、APB の H1 に対する直接的な効果のみが観察されたと考えられる。また dye-coupling の実験でも APB は特に効果を示さなかったことから、この仮定はおおむね妥当なものと言えるだろう。しかし IP 細胞から放出される DA は局所的な濃度変化を作るはずで、リンゲル液の DA がそれをすべて覆い隠したかどうかは断言することができない。本実験結果において APB は常に DA と反対の効果を示したため、特にこの点には注意を払う必要があるだろう。

本実験では APB を 1mM という極めて高い濃度で用いた。これは単離細胞に対して用いるのであれば高すぎる値である。しかし *in vivo* の網膜で水平細胞や双極細胞の記録を取る場合はけっして珍しい濃度ではない^{77,170}。おそらくリボンシナプスの特殊な形状が拡散を阻むためと思われる。APB がもっと低い濃度でも同じ効果を持つことを確認した上で、より効果をはっきり見るためにこの濃度を用いた。

薬物の使用に関してはもう一点注意すべき点がある。本論文で述べた大半の実験で D,L-APB を用いた。APB 受容体のアゴニストは L-APB であり、D-APB は他のグルタミン酸受容体に対して弱いアンタゴニストとして働く¹⁷。したがって正しくは L-APB を使うべきである。しかし実験上の都合によりここでは D,L-APB を用いた。D-APB は赤錐体からのシナプス入力を弱くブロックするため、波長特性とは無関係に応答全体を弱く抑制する。そのため波長依存性に対して大きな影響はないと考えられる。

7.3.4 光順応について

実験用のコイは手術に先立って暗闇中に置く必要がある。このとき、暗闇に置く時間が 10 ~ 15 分程度の場合の試料を「明順応」、2 時間ほど置いた試料を「暗順応」と呼んだ。しかし実際の網膜の順応状態はけっして明/暗順応の 2 値的なものではない。

本論文の実験はすべて錐体型水平細胞 (H1, H2) について行ったものである。したがって完全に桿体のみが動作するような深い暗順応状態ではなく、桿体系と錐体系が同時に働く程度の浅い暗順応状態 (薄明視状態) である。明順応状態についても異なるいくつかの状態に細かく分けられるかもしれない。本実験結果では APB は明順応網膜に対して効果があり、暗順応網膜に対しては効果がなかった。しかし逆に明順応しすぎた網膜において APB は効果を失うという報告もある^{129,232}。同様の傾向は色背景光下でのスリット光による受容野測定実験でも見られた。背景光強度を変えたときの距離定数変化をプロットすると大きく 4 つのパターンに分類された。1) 暗順応がもっとも深く、距離定数が大きいとき。このとき、距離定数は blue と red でほぼ同じか red の方がやや小さくなる。2) 薄明視に近く、距離定数は小さい。また距離定数は背景光強度や刺激光の波長に依存しなくなる。3) 明順応状態で、距離定数の波長依存性が明確に見られる。4) 極めて明順応状態した状態で、距離定数の波長依存性は失われる方向に向かう。ただし応答振幅が小さくなるため測定が難しい。これらのことから順応状態というのは連続的に存在し、さまざまな順応現象がそれぞれの段階で起きるものと考えられるかもしれない。またこれらの他に概日リズムの影響もあるだろう。本論文で報告した「暗順応」

「明順応」は(2)と(3)の状態に相当する。なお、上記(1)～(4)まではあくまでもスリット光による受容野測定結果から経験的に分類したものであり、正確な分類にはもっと厳密な順応状態の制御や条件づけあるいは順応状態を表す何らかの指標が必要になる。さらに言えば、順応は単純な1次元軸上の推移だけではなく、異なる順応現象が独立に生じているかもしれない。その場合は順応の状態を複数の指標から総合的に判断する必要があるだろう。

現在の段階ではまだ順応状態の厳密な制御も適切な順応指標もわかっていないため、順応状態を正確に把握することができなかった。また剥離網膜ではそもそも順応の厳密な制御自体が不可能なのかもしれない。それというのも剥離網膜では中枢からの遠心性入力や血液からの順応信号を受け取ることができないからである。順応状態を正確に把握できる状態での網膜神経系の特性を調べるためには、剥離した網膜ではなく動物全体を用いた実験も併用する必要があると思われる。

7.4 機能的意義

第I部を終えるにあたって、最後に H1 への短波長性入力の機能的意義について考えてみたい。まず考察に入る前提として、H1 への短波長性入力が視覚情報処理上でなんらかの役割を果たしていると仮定しておこう。この仮定の妥当性を検証することはむろんできない。しかし H1 の光応答特性の波長依存性と順応による調節機構を実現するにはかなり巧緻なメカニズムが存在すると考えられ、そこに何らかの機能的な意義を見出すことは決して無意味なことではないだろう。そこでここでは、なにかしらの機能的意義があるに違いないという仮定の上の議論であることを十分認識した上で、かなり奔放な考察を試みてみたい。

ある生物の視覚特性を考える場合、その生物がどのような視覚環境に棲息するのか、またどのような行動形態をとるのかを考慮する必要がある。なぜなら視覚優位の生物の多くは棲息する視覚環境や行動に適した視覚神経系を発達させることが広く見られるからである。本論文で用いた実験動物はコイであり、この場合は水中の視覚環境が重要な問題になる。

水中の視覚環境はわれわれ陸上に棲息する生物が想像する以上に複雑である。水中の視覚環境には以下のような特色がある¹⁰⁴⁾。

- 水は長波長の可視光を吸収するフィルタとして働く。すなわち赤い光は遠くまで届かずに水に吸収されてしまう。水面直下での太陽光線スペクトルはほぼ陸上のものと変わらないが、ほんの深さ 10m ほどで早くも 700nm 近傍の長波長光は失われてしまう。深くなるほど長波長成分が吸収され、470nm 近傍をピークとする短波長成分が強くなる。同じ話は水平方向でも成り立ち、10m 離れた地点にある物体からの反射光のうち 700nm 近傍の長波長成分は水に吸収されて観測点まで届かない。なお水の吸収スペクトルは水中の微生物や汚濁によっても変化する。熱帯の海と寒帯の海とでは透明度が異なるし、藻が繁殖する池と澄んだ川とでも異なる。
- 水の中で短波長光はよく散乱する。したがって短波長光の背景光が強くなる。散乱の効果は水中の物体の像についても生じる。物体からの反射光のうち、直進性の高い長波

長成分は比較的イメージを保ったまま網膜に届くが、短波長成分は散乱によって背景光の中に埋もれやすい。

- 水の流れによって像が乱れる。特に川のように流れが速い場合は像の乱れが大きい。これは水中の物体の輪郭を常に不安定なものとする。
- 水面に生じる波が照明光を屈折させるため、水中での照明光はきわめて乱れの多い不安定なものとなる。特に一定の波紋が生じると水中の物体の表面に特有のテクスチャを生じる。
- 水面の屈折により、照明光に偏光が生じる。

これらの光学的な条件は、魚のような水棲生物にとって次のような視覚環境を与えると考えられる。

- 陸上動物と異なり、水棲生物は3次元的に動くことができる。魚が水面近くから水深10～20mの地点へ垂直に移動すると、短い時間に照明光や背景光のスペクトルが急激に変化する。
- 水の流れがある場所では、像はきわめて不安定で常にゆらいで動いて捉えられる。このような視覚環境下では単純に輪郭像を抽出するような視覚情報処理では対象物体を正しく認識できないだろう。
- 水中の物体に水面の波紋が投影されると複雑なテクスチャが生じる。このような環境下では、単純に明度情報を処理するだけでは対象物体を正しく認識できないだろう。
- 色は対象物体を認識する重要な手がかりである。なぜなら特定の物質は固有の吸収スペクトルを持っており、同一の色を持つ視覚刺激は同一の対象物に所属するとみなせるからである。これは水の動きによる像のブレや波紋によるテクスチャなどの影響を受けない。
- 散乱による背景光が強いため、しばしば対象物は背景光の中のシルエットとして見えることが多い。特に水深数m前後に棲息し、水面上のエサ（昆虫など）を捕食する魚の場合はシルエットがもっとも重要な視覚上の手がかりになる。陸上では対象物がシルエットで見えるような状況は（自然の状態では）あまり生じない。

これらの点を考えると、水中の視覚環境は陸上（空气中）のものとは比べられないほど変化に富む。このような環境の中で生物が視覚を頼りに周囲の障害物や天敵や餌を見つけて認識するためにはわれわれ人間をはじめとする陸上動物とは異なる特性を持つ神経機構を発達させる必要があるだろう。たとえば水面近くに棲む淡水魚が色覚をよく発達させているのも一つの例と考えられる。

では以上のような水中の視覚環境を考えたとき、コイ網膜のH1が持つ短波長性入力にはどのような機能的意義が考えられるだろうか。H1に短波長性の入力が存在することは本論文で示したとおりだが、しかし赤錐体がH1への主入力であることには変わらない。したがって

短波長性入力は H1 に光応答を生じるための入力というよりはむしろ赤錐体からの入力によって生じる光応答の特性を修飾する働きがあると理解した方が適切だろう。そしてその修飾の効果として 1) 波長感度特性の修飾, 2) 受容野の調節の二つが挙げられる。

まず波長感度特性の観点から考えてみよう。H1 はどの波長の光刺激に対しても過分極応答を示す luminosity 型であり, モノクロ的な明度情報の検出に働く細胞と考えられる。明順応状態では H1 の短波長性入力が活性状態にあるため, 青色の光に対して H1 の感度が低下し, 赤色の光刺激に対する選択性が高まる。これは視覚画像がより赤みを帯びて見えるという意味ではなく, モノクロ画像で見たときに赤い部分が明るく青い部分が暗く見えることに相当する。すなわち青みを減らすフィルタをつけたカメラでモノクロ写真を撮影する状況を考えればよい。

水中において青は特別な意味を持つ。この色は水の色であり常に背景光として強く存在する。水中の物体に照明光が当たり, その反射光が魚の目に届いて像が網膜に結ばれる。このとき直進性の高い長波長成分は比較的イメージを失わずに保っているが, 短波長成分はすぐに散乱して背景光の中に埋もれやすい。すなわち信号対ノイズ比で見ると長波長成分の方が高い S/N を持つと考えられる。したがってモノクロ的な明度情報を抽出するだけであっても背景光強度が強い状況下では長波長成分の感度を高めた方がより鮮明な視覚画像処理が可能と考えられる。

しかしこの状況は暗順応状態になると事情が変わる(ここでいう「暗順応」は, まだ錐体系が感度を持つ薄明視に近い浅い暗順応状態である。桿体系にすっかり切り替わるような深い暗順応状態ではない)。このような状態は魚が深いところに潜ったときや曇天や夕暮れなどの照明光が弱くなったときに生じると考えられる。水の深いところでは, 照明光の長波長成分の多くが水に吸収されており, そもそも短波長の光しか存在しない。また水底から水面を見上げたような場合は物体が背景光の中のシルエットで見える。これらの状況では短波長光が物体の視覚イメージの情報を担っており, むしろ短波長光に対する感度を上げる必要が出てくる。また照明光全体が弱くなったときは背景光も含めて全体的に光強度が弱くなるため, 短波長成分も除去せずに用いた方が有利になるとも考えられるだろう。

水深の深いところで照明光の長波長成分が失われることは, H2 にとっても重要な意味を持つ。H2 は短/中波長領域で過分極, 長波長領域で脱分極応答を示す反対色特性を持つが, 水の深いところでは脱分極応答を示すべき長波長成分が失われて過分極応答しか生じず, H2 の反対色特性が機能しないことになる。ところが H2 の波長特性は順応によって変化し, 長波長光に対する脱分極応答は暗順応が進むにつれて減少し, さらに暗順応が進むと過分極応答へと転じる。すなわち暗順応状態では H2 が自ら反対色特性を消すようにできている。水中における長波長成分の欠落と H2 脱分極応答の消失現象は興味深い一致といえるだろう。

次に H1 受容野の波長依存性が持つ機能的意義について考えてみる。H1 の受容野は短波長光刺激に対して狭く, 長波長光に対して広がった。H1 の受容野は双極細胞の受容野周辺部の形成に関わるとされており, 双極細胞の中心一周辺拮抗型受容野の空間的なシャープさに直接反映されると考えられる。色背景光下による実験結果では青背景光が存在することで白色スリットによる受容野が狭くなった。水中では短波長の光が散乱によって背景光として存在する。背景光の強度が強いということはそれだけ光強度全体が強いことを意味する。このような状況下では S/N が良好な状態にあると考えられ, 鮮明な画像を得るためにシャープな受容野が必

要になると考えられる。一方短波長の背景光強度が低下した状況では光刺激全体の強度も低下してS/Nが低下していると考えられるため、より広い受容野の方がノイズを平均化する上で望ましい。すなわち直接測定のできないS/Nの代わりに短波長の背景光強度を視覚イメージのS/Nの指標として受容野を調節するメカニズムと理解することができるだろう。このメカニズムは短波長光のON/OFFに合わせて高速に働くため、たとえば魚が水面近くから深いところへ一気に潜るような場合でも十分追従して受容野の大きさを調節することができる。

これらは背景光強度がある程度強い明順応時の話であるが、一方S/Nが常に低下した暗順応時にはそもそもこのような受容野調節機構は不要である。短波長性入力を受容野を狭くする方に働くため、暗順応状態で不活性化して受容野を常に広い状態に保った方が情報処理の上でも好ましいと考えられる。

このように考えると水中の視覚環境を考えるとH1の短波長性入力は背景光強度に応じて光応答特性を修飾するメカニズムのように思える。この修飾メカニズムは背景光の強度変化に即時に応答する、きわめて早い応答特性を持つ。そして短波長性入力の修飾メカニズムはさらに順応によって調節され、背景光が弱い暗順応状態になると不活性化する。すなわち速度の速い修飾機構が速度の遅い調節機構によって調節されるという光応答調節機構のカスケードが存在する。このようなカスケード構造は視覚環境の変化に応じたきめ細かな光応答特性の調節を可能にする上で有効な構造と思われる。

以上H1の短波長性入力が視覚情報処理上で果たす機能的意義について考察した。これらの考察がどこまで妥当なものであるかを確かめることは容易なことではなからう。しかし網膜における視覚情報処理を明らかにするうえで機能的意義を考えることは不可欠であり、そのためにはさらに生物が生きている環境や行動について考える必要がある。生物の目はけっしてカメラのような画像取り込み装置ではなく、あくまでも外界の情報を知るためのセンサである。正確な画像を得ることは必ずしも外界の情報を正確に知ることに限らない。その生物にとって視覚系が生きていく上で果たす役割を考慮してはじめて、生物の視覚系の機能的意義が理解できると考える。

7.5 第I部の結論

H1に存在する波長依存性から、短波長感受性細胞からH1への符号反転型の入力が存在することが明らかになった。H1への短波長性入力による光応答はH1の主入力である赤錐体による光応答に隠されているが、しかしH1の光応答特性を波長依存的に修飾する働きがある。本実験で明らかになった波長依存性は、(1)波長感度特性(2)光誘起性入力抵抗変化(3)受容野の3点である。これらの波長依存性を生む短波長性入力は明順応時にのみ活性化しており、暗順応時には不活性化する。すなわち暗順応時においてH1の光応答特性は波長依存性を失う。短波長性入力の活性化にはNOが関与する。すなわちNOはH1に対して明順応信号として働く。またDAもH1の短波長性入力に対して明順応と同じ効果を示し、一方代謝型グルタミン酸受容体(mGluR6)のアゴニストであるAPBは暗順応と同じ効果を示した。

上記の結果を説明するモデルとして、mGluR6を介した青錐体からH1への直接入力が存在を仮定する「APB受容体モデル」と、H2から赤錐体へのネガティブフィードバックを仮定

する「フィードバックモデル」を提案した。実験結果をおおむねうまく説明しうるのは APB 受容体モデルであり、明順応信号としての NO の信号伝達経路やメカニズムについてもうまく説明しうる。ただ定量的な問題がやや残り、また決定的な決め手に欠ける。フィードバックモデルはいくつかの実験で矛盾点が残るが、定量性についてはうまく説明しうることも多く、可能性は否定できない。

H1 の光応答特性は短波長性入力によって波長依存的に修飾され、さらにこの修飾機構は光順応によって調節される。すなわち H1 には光刺激と環境に依存した緻密な応答調節機構が存在する。この機構の情報処理上の意義として、水中の視覚環境に適した H1 の応答特性の修飾が考えられる。すなわち水中で強く存在する短波長の背景光を抑えて画像を鮮明にするとともに、背景光強度を照明光強度を反映したパラメータとして網膜神経系の解像度を調節するものと推測される。

第 II 部

理論モデルによるアプローチ

第 8 章

中心一周辺拮抗型受容野にみられる 視覚系共通の可塑的变化

8.1 はじめに

生物には発生や構造を異にする器官でありながら、機能的には同じ役割を果たしているものが多々ある。脊椎動物の目と昆虫の複眼がこの例で、これらは共に視覚という役を受け持つ相似器官である。相似器官がその機能を実現する方法はまったく異なるが、その器官が満たすべき条件や働きは物理的・化学的環境によって制限される。すなわち相似器官は別々の進化のプロセスこそ経てはいるが、互いに共通する機能的特質を持っていることがしばしば見られる。たとえば中心一周辺拮抗型の受容野 (Center-Surround oppoent Receptive Field: CSRFF) はカブトガニやハエ等の無脊椎動物の複眼や脊椎動物の網膜など、生物の視覚系に普遍的に見られる特性である。また視覚神経系の特性は生物の生息環境や生態によっても類似することが知られており、たとえば魚類では、生息環境の類似した種間において分類学的な違いを越えた共通構造が網膜に認められる。このような機能の類似性は、生物が環境に適応するほど類似性が増すと考えられる。

生物の視覚系に見られる種を越えた類似性から、共通の計算原理を見出そうという試みがある。実際の生物にかかる環境圧の代わりに、神経系が受ける情報処理上の制約を設定し、その仮定のもとで最適な視覚特性を求めるというものである。制約の設定方法でいくつかのモデルが提案されているが、基本的な発想としてはどれも神経系が伝達できる視覚信号の情報量を最大にするという原理に基づく。

Srinivasan らは予測符号化法に基づいて最適な視覚特性を求めた¹⁷²⁾。生物の受け取る視覚信号はまったくランダムなものではなく、ある一定の相関を持っている。そこで相関を利用して予測可能な信号は冗長成分であるとして除去し、予測不可能な成分、すなわち予測値と実際の入力値の誤差を伝達するというものである。この仮定のもとに最適な視覚フィルタの特性を求めたところ生物の視覚系に共通して見られる CSRFF 特性が得られた。Tsukamoto らは集約符号化法に基づいて視細胞入力荷重関数を求めた¹⁹⁰⁾。受容野の中心部では互いに相関の高い視細胞入力があり、これらの適切な空間加算をとることにより S/N 比を改善できる。そこで最適な S/N 比改善を与える空間荷重を算出した。Atick らは白色符号化法に基づいて視覚

特性を求めた^{6,23)}。すなわち一定のパワースペクトルを持つ入力画像を仮定し、入力の相関性を取り除いて信号を白色化するとともに高周波領域の雑音を低減するというものである。その結果得られたフィルタ特性がヒトの視覚特性と一致することを示した。Hateren は情報量最大化法に基づいて最適な視覚特性を求めた¹⁹⁷⁾。これは一定の条件を持つ視覚入力に対して情報量を最大化するというものである。またハエ視覚系のニューロンの応答は最適なフィルタの応答と一致することを示した。

人工ニューラルネットを用いることで自己組織的に視覚フィルタを形成することも可能である。たとえば誤差逆伝播 (BP) 型ネットワークを用いた場合、ネットワークは教師信号に対して 2 乗誤差最小の意味において最適化される。そこである一定のタスクを教師信号として課すことにより、その制約下での最適なフィルタを得ることが可能である。Furukawa らおよび Joshi らは BP 型ネットワークに CSRF 特性が発現しうることを示した^{54,53,80)}。

本章では BP 型ネットワークに適切な課題を課すことで CSRF 特性が発現することを示し、さらにその CSRF 特性が視覚環境 (S/N 比) によって変化することを示す。このような CSRF 特性の S/N 比に依存した変化は生体の視覚神経系で見られる順応に伴う変化と一致した。また視覚の空間特性のみならず時間特性についても同様に生体と一致した視覚特性が発現すること、その特性が S/N 比によって変化することを示す。

8.2 BP 型ニューラルネットワークにおける受容野発現

8.2.1 ニューラルネットにおける受容野形成

動物の視覚神経系は典型的な階層型並列情報処理システムである。ある層の一個の神経細胞の応答は多数の視細胞の応答に由来する。したがって一つの視覚神経細胞に対して、その細胞に光応答を生じさせるある広がりを持った領域が網膜上に存在する。これが視覚生理学でいう受容野の概念である。視覚神経の働きは、この受容野上の光刺激がその細胞にどのような光応答を生じさせるかで決まる。刺激の位置が受容野の中央部か周辺部かで応答の極性が反対になるような中心-周辺拮抗型受容野 (CSRF) は昔からよく知られておりさまざまな生物の視覚神経で見出されている。CSRF は入力パターン中の明暗の段差すなわちエッジを強調する効果を持ち、視覚情報処理における基本的な構成要素と考えられる。

では逆にエッジの検出をするように学習させた人工ニューラルネットワークの内部にはどのような回路網が形成されるか。そこで標準的な 3 層誤差逆伝播 (BP) 型ニューラルネットにエッジ検出学習を行い、その内部構造を調べてみた。

図 8.1 はネットワークの概念図である。ここでは話を簡便にするため、「1 次元の画像」を入力として考えた。各層のユニットは直線上に配置され、その数は入力層、中間層、出力層とも等しく、12 または 20 個とした。また端点の影響をなくすため、各層は両端をつなげて環状の構造にした。入力パターンは視覚入力の刺激強度に相当し、-1 から +1 の間の値を持つ。入力パターンがステップ状に変化するところをエッジとし、その高さは 0.3 から 1.0 の間とした。教師信号はエッジの位置で +1、それ以外の位置で -1 とした。なおエッジの高さ、個数、出現位置および入力全体の平均強度はいずれも逐次提示するパターンごとにランダムに変動させ、

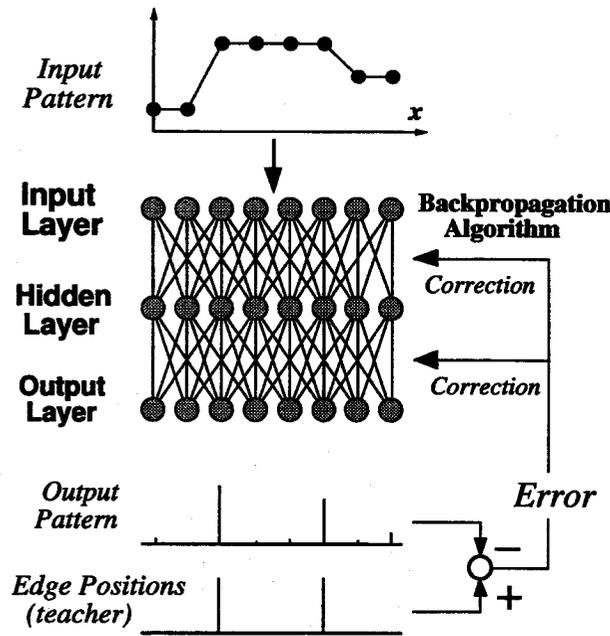


図 8.1: 受容野に相当する内部構造を誤差逆伝播学習則により組織化するニューラルネットワークモデル

そのつど誤差逆伝播学習則で結合荷重の修正を行った。ユニット間の結合荷重の初期値は $-1 \sim +1$ の一様乱数である。学習は誤差の減少が止まって結合荷重が定常状態になるまでくり返した。この課題の場合、約 1 万回の学習によって誤差がほぼゼロとなった。

入力層の各ユニットからひとつの中間層ユニットに対する結合荷重分布は、網膜（すなわち入力層）上の各点への光刺激が中間層ユニットに生じる光応答の大きさを意味し、いわゆる受容野に相当する。学習が終了した時点での各入力層ユニットから一つの中間層ユニットへの結合荷重パターンを図 8.2 に示す。結合荷重分布は中心部と周辺部で符号が逆の中心-周辺拮抗型の結合になっている。なお図では中心部が正の（興奮性の）結合をしている ON 中心型の CSRf を示したが、ネットワークの対称性より、実際には ON 中心型と OFF 中心型が等確率で出現する。

図 8.3 は学習が完了したネットワークに一つの入力信号を入れたときの各層の出力パターンである。中間層では入力信号のエッジを強調したようなパターンが発現している。これは心理物理学で知られるマッハバンドに相当する現象である。

8.2.2 ノイズが受容野形状に与える影響

通常、画像情報には外因性や内在性のさまざまなノイズが含まれている。また外因性のノイズは視覚環境に応じて大きく変化する。エッジの検出という画像処理を考えた場合、空間微

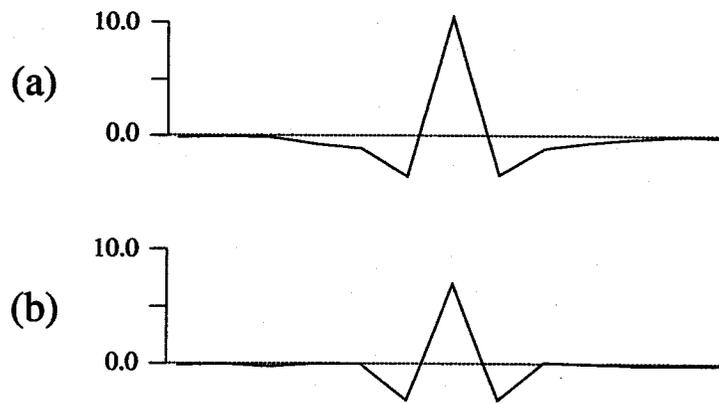


図 8.2: 学習終了時点での結合荷重分布. (a) 入力層-中間層 (b) 中間層-出力層.

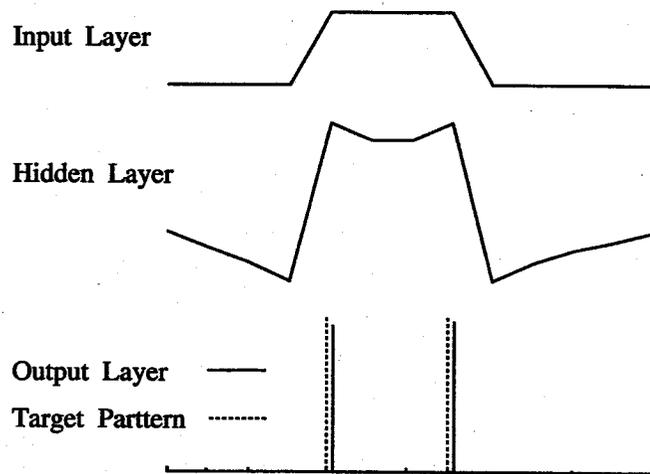


図 8.3: 学習完了後にニューラルネットワークに現れる応答パターン例

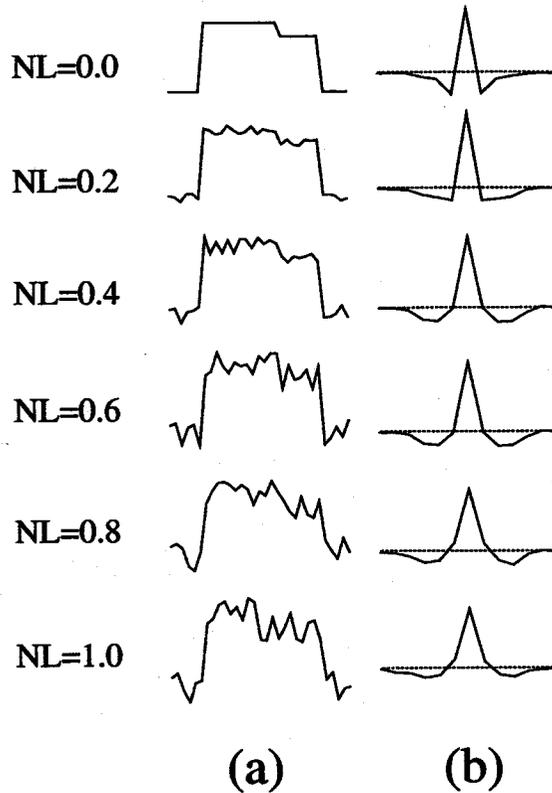


図 8.4: ノイズレベル (NL) を変えた入力信号例と、一定の NL 下で学習したときの結合荷重分布。(a) 入力信号例 (b) 入力層-中間層の結合荷重 (c) 中間層-出力層の結合荷重。

分的な処理は不可欠であり、そのためノイズの影響を受けやすい。元来空間微分という処理とノイズ除去のためのスムージング処理とは相反する性質のものである。小さなエッジも確実に認識しようとする間違ってノイズにまで応答することになり、逆にノイズを除去しようとする小さなエッジを取り除いてしまうことになる。結局どこかでこの相反する処理の折り合いを付けなくてはならない。したがってノイズのある入力画像を用いて人工ニューラルネットの学習を行うと、異なる受容野が発現すると予想される。

図 8.4(a) は入力画像に一樣ホワイトノイズを加えた入力信号の例である。教師信号はノイズがない場合のエッジの位置を与えてネットワークの学習を行った。ノイズの大きさはノイズレベル (NL: ノイズの最大振幅値) で表し、学習の期間中は NL を一定に保った。この課題の下では出力と教師信号との誤差はゼロにならない。そこで学習による誤差の現象が止まって定常状態になった時点で学習が完了したものとした。

図 8.4(b), (c) は学習完了時点での入力層-中間層および中間層-出力層の荷重結合分布である。ノイズが信号に上乘せられても基本的には CSRFB に相当する結合パターンがネットワーク内部に現れた。しかし NL の増大に伴い、入力層-中間層に見られる CSRFB の形状はよりな

めらかな広がりを持つようになった(図8.4b)。一方中間層-出力層の結合荷重分布はほとんど変化していない。このことはノイズの影響をほとんど中間層で吸収していることを意味する。

8.3 BP型ニューラルネットにおける微分型時間特性の発現

受容野, すなわち空間特性については CSRFB がニューラルネット内に発現したが, では時間特性はどうだろうか。そこで時系列情報を扱えるようにするため, 図8.1の構成を図8.5のように変更した。同じ層に属する各ユニットは同一のニューロンの各時刻での状態を表すと考える。したがってこのモデルでは入力ニューロン・中間ニューロン・出力ニューロンの3つのニューロンで構成されていると考える。ニューロン間の結合は未来から過去への結合は存在しない。このネットワークに対して明るさがステップ的に変化する時系列信号を入力として与える。学習課題は入力信号の明るさが変化した時刻を検出することである。教師信号は, 入力が大きくなったときに +1, 小さくなったときに -1, それ以外のときは 0 とした。その他のパラメータは今までと同様である。

このモデルの場合, 入力層の一つのユニットから出力層の各ユニットへの結合荷重分布は中間ニューロンのフラッシュ応答に相当する。受容野発現の派会いと同様にノイズレベル(NL)をパラメータとして学習を行い, ネットワーク内部に形成されるフラッシュ応答の波形を調べた。図8.6は各NLにおいて形成されたフラッシュ応答である。フラッシュ応答は ON-OFF2相性の微分型フィルタ(Biphasic differential-like filter: BPDF)が形成された。このような特性を持つ視覚神経は脊椎動物の網膜や昆虫の複眼でも見られる。そしてNLが増加するに連れて OFF 領域が浅く長くなり, 応答波形が全体的に鈍ったバンドパス的な特性を持つようになった。

8.4 網膜双極細胞の時空間特性

8.4.1 実験方法

人工ニューラルネットで発現した CSRFB や BPDF 特性は生体の視覚系でもよく見られる特性であるが, では生物の視覚神経細胞は視覚環境の S/N 比に応じて変化するのだろうか。そこで網膜の双極細胞の特性を電気生理実験により調べた。

実験にはコイを用い, 剥離した網膜をチェンバーに載せてリンゲル液で灌流する。ガラス微小電極を用いて双極細胞の膜電位を測定し, 同時に光刺激を与える。ここでは ON-I 型双極細胞を用いた。スリット状の光刺激をフラッシュで与え, スリットの位置を変えながら空間特性を測定した(フラッシュ光の明るさは $7.24\mu\text{W}/\text{cm}^2$, スリットの大きさは $4.0 \times 0.17\text{mm}$, フラッシュの持続時間は 250msec)。スリットは $60\mu\text{m}$ 単位でスリットと垂直方向に動かした。これによって受容野の概形をわりだすことができる。実験は網膜が定常背景光(照度 $0.288\mu\text{W}/\text{cm}^2$ の一様光)によって明順応した状態と, 背景光なしの暗順応した状態とで行った。これらは S/N 環境が良い場合と悪い場合をそれぞれ想定している。今回の実験では光刺激強度が一定なので S/N 環境を直接操作しているわけではないが, ふだん網膜が S/N 環境の良い状態/悪い状態に

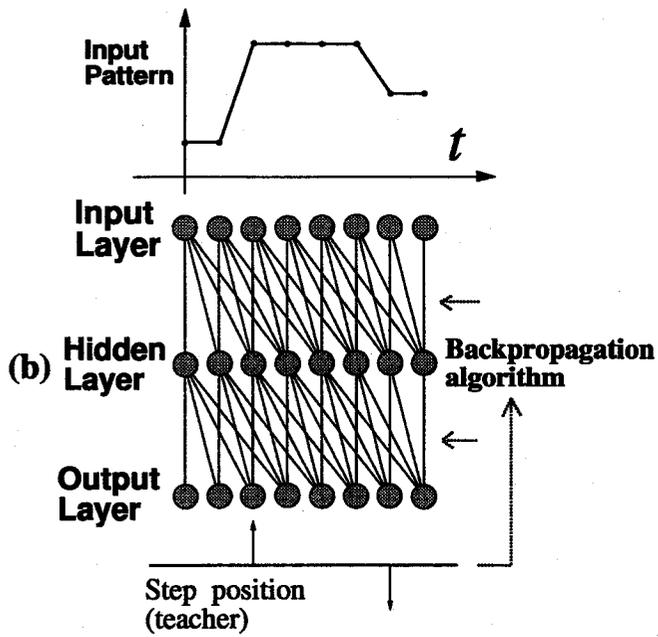


図 8.5: フラッシュ応答を形成するニューラルネットワークモデル

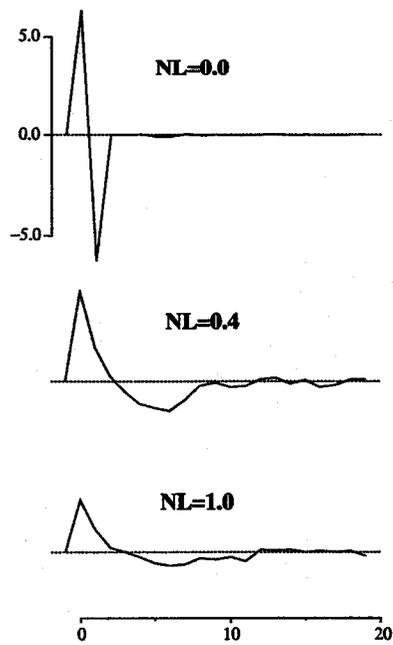


図 8.6: 異なるノイズレベル (NL) 下で発現したフラッシュ応答

置かれているときの特性を知ることができる。

8.4.2 実験結果

図 8.7は実験結果の代表例である。個々のフラッシュに対して双極細胞は脱分極 (ON) と過分極 (OFF) の成分から成る 2 相性の応答を示した。スリット刺激を受容野の中心部に与えた場合は ON 成分が強く、周辺部では逆に OFF 成分が強い。このことからこの双極細胞は ON 中心型の CSRF を持っていることがわかる。

図 8.7から双極細胞の受容野を求めた結果が図 8.8である。これはフラッシュ刺激が消える直前の時刻の双極細胞の膜電位を、スリットの位置に対してプロットしたものである。明順応時 (背景光照射時) と暗順応時 (無背景光時) を比較すると、暗順応時の方が受容野周辺部の OFF 応答成分が小さく、また広がっていることがわかる。一方明順応時には受容野のサイズが全体的に小さくなり、また受容野周辺部の OFF 応答も大きな応答を示している。これは人工ニューラルネットで得られた結果と一致する。

図 8.7(c)(d) は光応答波形を拡大してみたものである。時間特性についても人工ニューラルネットと同じ傾向が見られ、明順応時には大きな ON-OFF 2 相性の応答が見られ、暗順応時には OFF 応答が小さく長くなった。

8.5 討論

人工ニューラルネットに発現した中心-周辺拮抗型の受容野 (CSRF) および 2 相性の微分型時間特性 (BPDF) はどちらも生体の視覚系において基本的な特性である。またどちらも S/N 比によって特性が変化し、S/N 比が小さい環境下では微分とスムージングを兼ねたバンドパス型の特性へと変わった。脊椎動物網膜において類似の特性を持つ双極細胞でも順応に依存した同様の変化が見られた。双極細胞と同じ特性を持つ細胞は昆虫の複眼にも存在する。Dubs らはハエの large monopolar cell (LMC) を調べ、その空間特性および時間特性が S/N 比に応じて変化することを示した⁴⁶⁾。その変化は人工ニューラルネットおよび双極細胞で見られた変化とまったく同じものである。図 8.9および図 8.10はそれぞれ視覚環境の S/N 比変化に伴う空間特性・時間特性の変化について、人工ニューラルネット・網膜双極細胞・複眼 LMC についてまとめたものである。

脊椎動物の網膜と昆虫の複眼とは、「見る」ための器官であるという共通性を除けば構造的にも進化的にもまったく異なる器官である。それにもかかわらずこのような極めて類似した時空間特性を持つ神経細胞が存在し、さらにその特性が視覚環境によって同じ変化を示すのは興味深いことである。

人工ニューラルネットワークは与えられた課題に対して二乗誤差最小の意味において最適な結合荷重を実現する。ニューラルネットにおいて双極細胞や LMC と同様の時空間特性が発現したこと、そしてその特性が S/N 比に応じて生体の細胞と同様の変化を示したことは、ある意味で生体の視覚神経系が最適な特性を実現しているものとも考えることもできるだろう。

ただし本手法で得られた結果について必要以上に拡大解釈を行うのは当を得ていない。ま

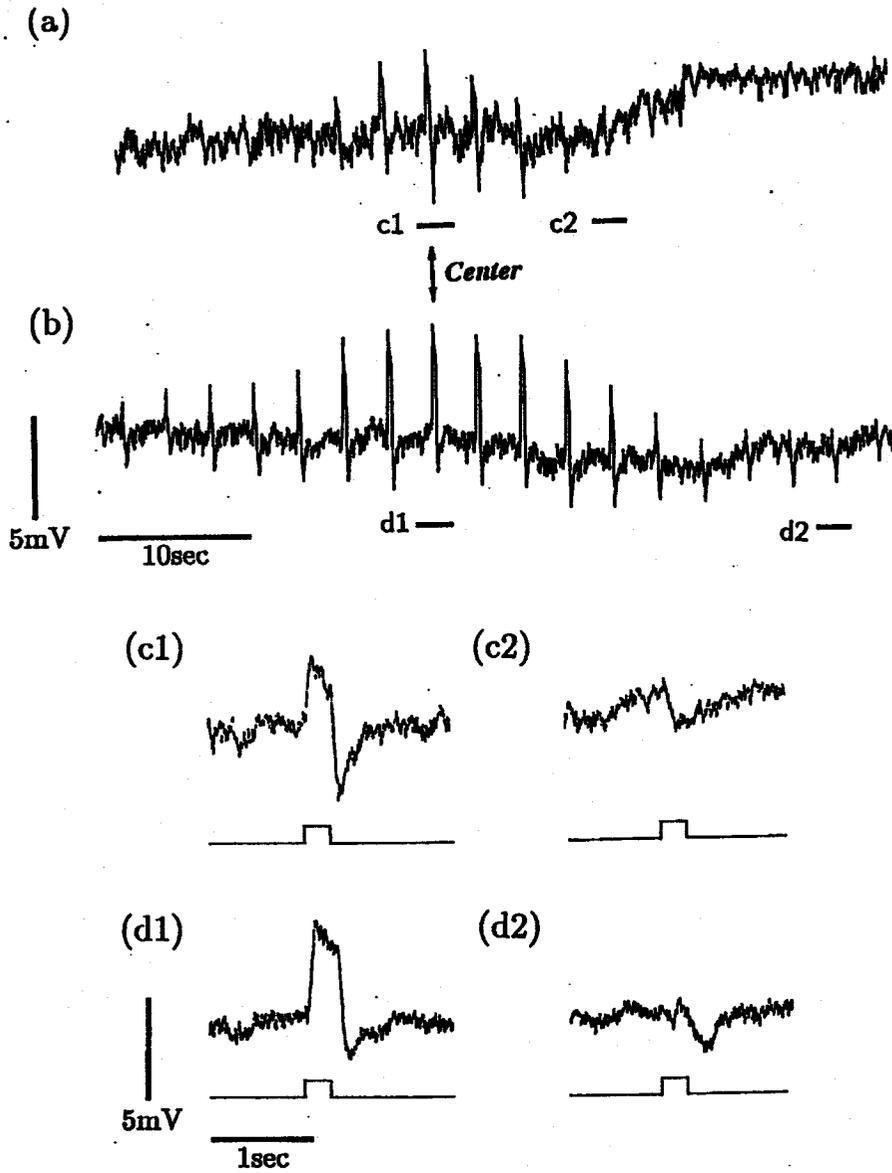


図 8.7: 双極細胞応答記録例。(a) 明順応時の波形。スリットの位置を変えながらフラッシュ状の光刺激を続けて与えた。(b) 同じ光刺激に対する暗順応時の応答波形。(c), (d) 受容野中心および周辺部に与えた光刺激に対する応答波形。図 (a) および図 (b) それぞれの下線部 c1, c2, d1, d2 を拡大した。記録波形の下に書かれたステップ波形は光刺激のタイミングを示す。

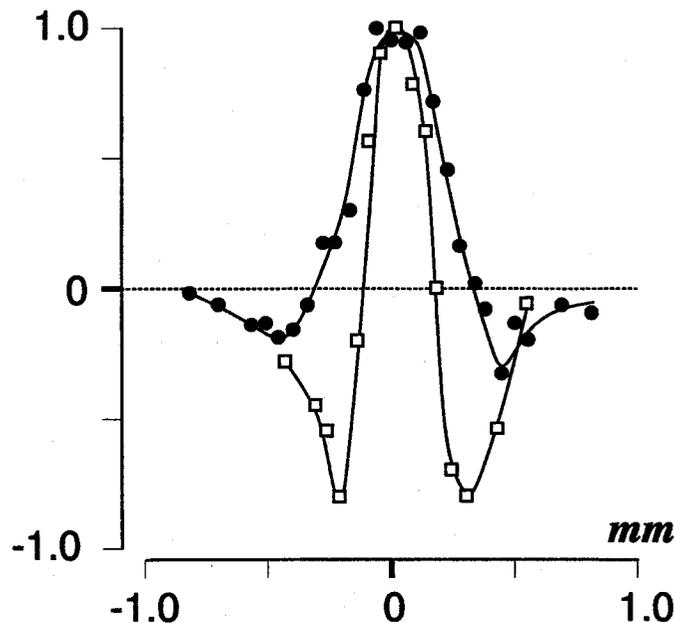


図 8.8: 双極細胞の明順応時と暗順応時の受容野形状. 受容野中心の応答振幅で規格化した. □: 明順応時, ●: 暗順応時.

ず生物の視覚系はけっして画像のエッジや明るさのステップ的变化を検出するためだけにデザインされているのではない. またこれは他の手法 (信号処理上のなんらかの制限を設けて最適フィルタを数理的に求める方法) でも同じことがいえるが, 定性的な特性はかなり説明できるものの厳密な意味では一致しない点も当然ながら存在する. たとえば予測符号化法などが最適とする受容野形状は, 空間積分値がゼロ, すなわち興奮野と抑制野の重みの総和が等しいものである. しかし CSRFB 特性を持つ現実のニューロン, たとえば網膜の双極細胞や神経節細胞はけっして積分値がゼロにならない. これは次のように考えられるかもしれない — 生物の視覚系は「ほぼ」最適ではあるものの必ずしも完全な最適性を実現していないのかもしれないし, あるいは視覚信号が複数の目的に使われるため, 単一の制約では記述できないようななんらかの冗長性を必要とするのかもしれない. たとえば予測符号化法はバイアス成分をすべて取り除いて相対的な明るさ情報に変えてしまうが, 実際の生物の視覚系では絶対的な明るさの情報も必要なのかもしれない.

本章で用いた手法に対しても次のような問題点がある. ここで用いた学習課題は微分的な演算を要求するものであり, CSRFB や BPDF のような微分演算型の特性がネットワーク中に発現するのは自明ともいえる. また S/N 比に対しての定量的な解析ができていないという問題が残っている. 生物の視覚系はけっしてエッジを検出するために存在するのではない. したがって本手法の結果はあくまでも示唆的なものであり, その理解の上で本結果の適切な解釈が成り立つだろう.

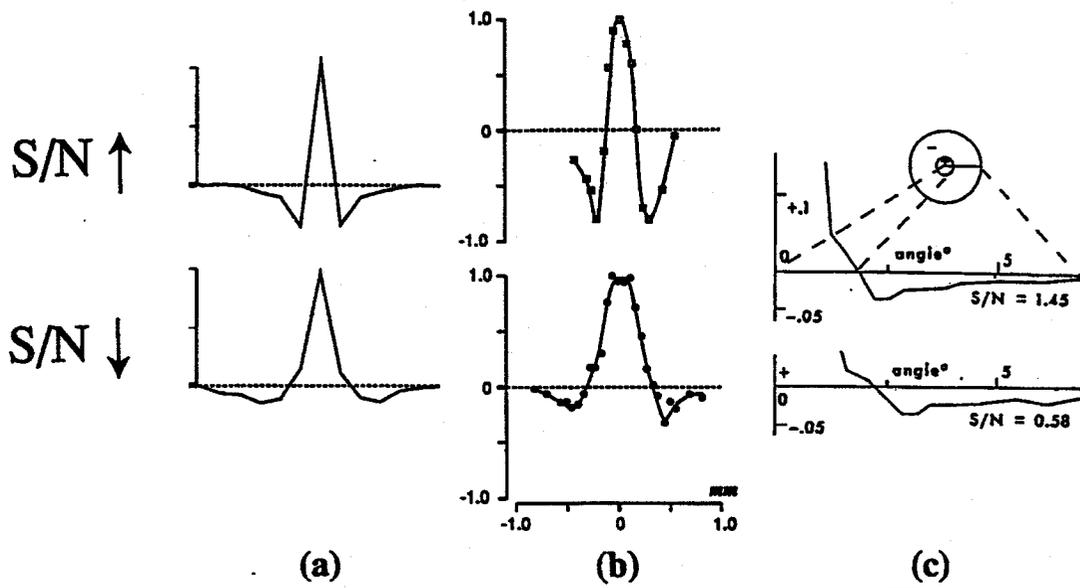


図 8.9: 人工ニューラルネット, 脊椎動物網膜の双極細胞, 昆虫複眼の LMC が持つ受容野構造と S/N による変化. LMC のデータは Dubs による^{46,102)}.

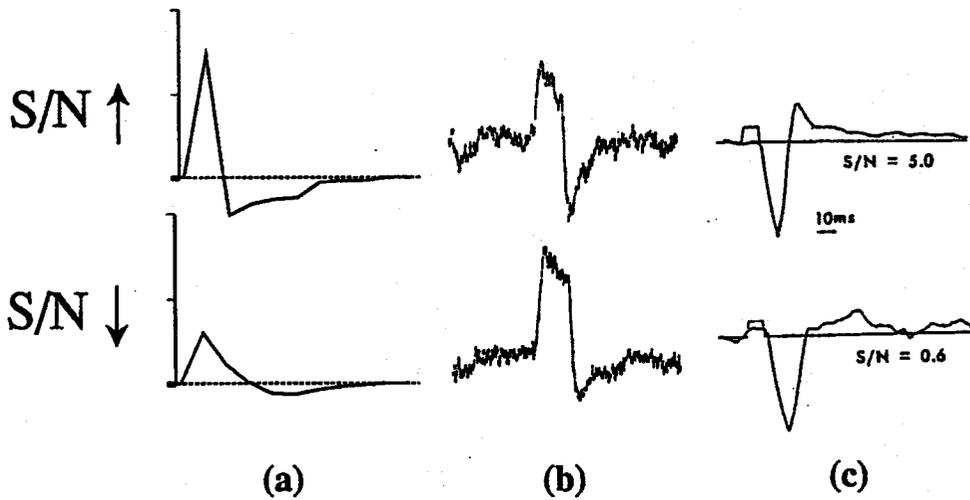


図 8.10: 人工ニューラルネット, 脊椎動物網膜の双極細胞, 昆虫複眼の LMC が持つフラッシュ応答特性と S/N による変化. LMC のデータは Dubs による^{46,102)}

多くの生物種は、それぞれの行動様式や視覚環境、中枢における高次情報処理の複雑さなどに応じて多彩な神経特性を発達させている。そして類似の行動や視覚環境を持つ種間では、分類学的な枠組みを越えてよく似た視覚特性を持つことがしばしば見られる。このように種を越えて共通する視覚特性を生物の視覚環境や行動様式に帰着し、情報处理的な観点で最適性を論じるのは興味深いことである。しかし同時に視覚がその生物にとって果たす意味を考えずに拡大解釈することに対しては注意を払う必要があるだろう。なぜなら生物の視覚系はあくまでも外界の情報を得るための器官であり、ビデオカメラのように正確な画像を取り込んで画像処理するための装置ではないからだ。生物が「生きていく上で」どのような視覚特性を必要とするかを考えることが重要であると思われる。本論文の第I部では色情報処理と空間情報処理の関係が順応によって制御されることを示したが、このようなメカニズムの果たす役割も生物が生きていく上で視覚系が果たすべき役割を考えることで本当の機能的意義が明らかになると考える。

第9章

視覚画像中の運動検出を行う線形時空間 フィルタの機能と構造

9.1 はじめに

視覚神経系における画像中の運動検出・認識の第1段階は視野内の局所的な運動の検出であり、これは光刺激の特定の移動方向に関して選択的に応答を示すニューロン、すなわち方向選択性ニューロンによって行われる。このような細胞は視覚系の比較的初期段階から現れ、小型の脳をもつ脊椎動物の網膜や昆虫の複眼などで見出されており^{3,10,69,70}、またネコやサルなどでは大脳の1次視覚野でこのような細胞が見出されている(図9.1)^{25,79}。これら方向選択性ニューロンがどのような回路や機構によって実現されているかの問題については、理論・生理の双方からさまざまな研究がなされている。

方向選択特性を実現するには非線形性と非対称な空間特性が不可欠である。Reichardtは昆虫の方向選択性ニューロンの特性をもとに correlation model を提案した¹⁴⁸。このモデルでは網膜上の異なる2点からの入力時間が時間遅れを伴って乗算処理される。またGrzywaczらはウサギ網膜の方向選択性ニューロンの特性を解析し、shunting inhibitionによる除算的な空間相互作用をもつモデルを提案した^{59,4}。これらのモデルでは空間特性の非対称性自体が非線形的である。一方AdelsonとBergenはこのような非線形な空間相互作用がなくても方向選択性を表現できるとして motion energy model を提案した(図9.2)¹。彼らのモデルは線形な時空間フィルタ群とそれに続く単純な非線形関数(2乗関数)によって構成されており、空間的あるいは時間的に非線形な相互作用は必要としない。同様な線形時空間フィルタを用いた生体の運動検出機能のモデルはほかにも提案されている^{60,206}。

線形時空間フィルタを用いたモデルであっても、複数のフィルタと非線形関数を組み合わせることで等価的に非線形な空間相互作用のあるモデルを実現することができる。一般に線形時空間フィルタを用いたモデルは周波数解析などの特性解析が容易でかつ工学的にも実現しやすく、方向選択性の本質的な理解や応用という点で優れている。さらに視覚の初期段階は比較的線形が高く、生体との対応を考える上でも都合がよい。実際、ネコの1次視覚野の方向選択性ニューロンは光刺激に対して線形な膜電位応答を示すという報告もなされている⁷⁹。

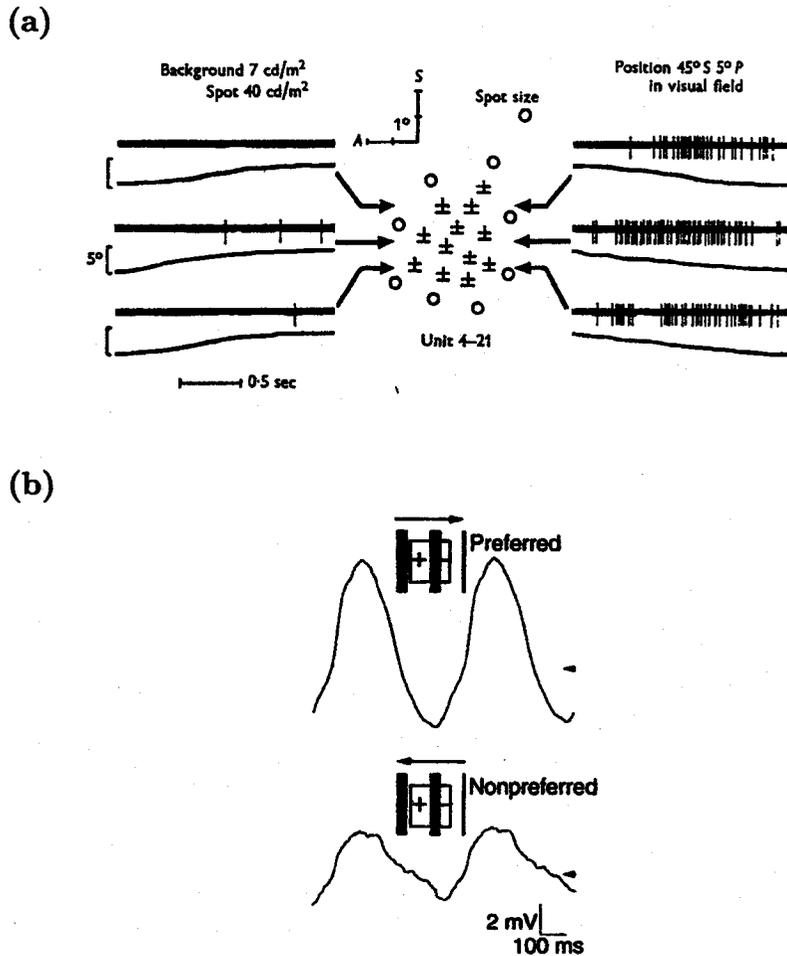


図 9.1: 方向選択性ニューロンの応答例. (a) ウサギ網膜の神経節細胞 (b) ネコ大脳視覚野の単純型細胞のシナプス後電位. ウサギ網膜の方向選択性ニューロンはきわめて非線形的であるのに対し, ネコ大脳視覚野の方向選択性ニューロンは線形的な特性を持つ.

ところで, このような線形時空間フィルタで方向選択性ニューロンを実現するにはいくつかの解決されるべき問題が存在する. まず Adelson と Bergen 自身が指摘しているとおり, 線形時空間フィルタの出力は入力画像のコントラストや極性, 位相 (光刺激とフィルタとの相対位置関係) をそのまま反映する¹⁾. 従って線形時空間フィルタのみでは光刺激の運動方向に関する情報を正しく抽出することができない. この問題を解決するため, motion energy model では位相の異なる複数の線形時空間フィルタの出力の2乗和という演算をとっている. しかしこの方法ではフィルタの種類が増える上, 生体神経系における2乗関数という演算の実現性についても議論の余地が残る. 更に過去のモデルでは線形時空間フィルタの特性や非線形関数を

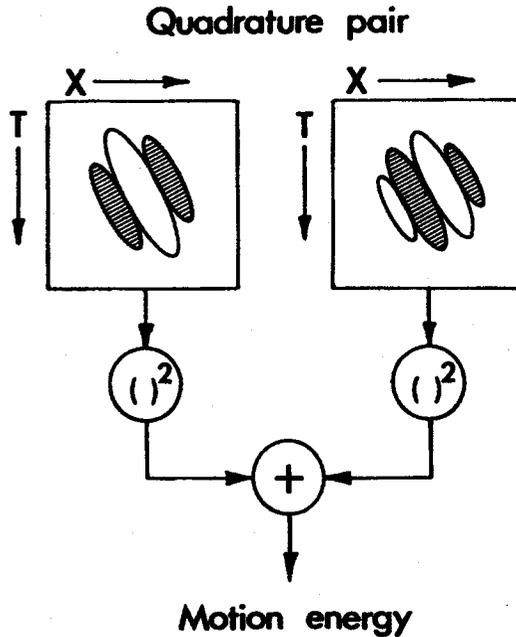


図 9.2: Motion energy model の概念図¹⁾.

アプリアリに与えるのみであり、どのような線形フィルタや非線形関数が運動方向や速さの検出にとって最適であるのかについての議論も十分ではない。

では線形時空間フィルタとそれに続く単純非線形関数(時間的・空間的に相互作用をもたない、1入力1出力の非線形関数)の組合せによって光刺激の運動方向や速さを検出する問題と考えた場合、どの程度まで望ましい出力を得ることができるのか、そのような出力を与える線形フィルタと非線形関数の組合せはどのようなものなのか、あるいはミニマムな構造なのか。さらに神経生理から見て現実性のある素材のみで構成し得るのか。線形時空間フィルタを用いた方向選択性ニューロンモデルの問題点をまとめると次のようになる: (i) 光刺激の運動方向以外の要因、例えばコントラストなどに対する依存性をどのように取り除くか (ii) 線形時空間フィルタの数は最低限いくつ必要なのか (iii) 最適な線形時空間フィルタをどのように設計するか (iv) どのような非線形関数が必要とされるのか、またそれは生体にとって実現が容易であるか (v) 線形時空間フィルタと単純非線形関数という組合せだけでどの程度の演算が可能なのか。例えば運動方向のみしか検出できないのか、あるいは速さの情報も検出できるのか。これらの問題にある程度の解答を与えることが本章の目的である。

近年、人工ニューラルネットワーク (NN) を用いて画像中の運動情報を抽出する試みがなされている。一次遅れのメモリをもつユニットをフィードバックループをもつようにつなげたモデルや^{72,195)}、階層型 NN による仮現運動認識の学習モデルなどが既に提案されている⁷⁾。階層型 NN の場合、一つの層に属するユニット群の出力の線形和が次の層の入力となり、同一の

層に属するユニット間での非線形な相互作用は存在しない。またユニット一つひとつの入出力関係はシグモイド関数で記述されるが、シグモイド関数は結合係数やバイアス値を適当に調節することで1次関数・整流関数・しきい値関数などを近似することができる。これらの単調増加型の非線形関数は生体においても実現性が高いものと考えられる。すなわち線形時空間フィルタと単純非線形関数の組合せで方向選択ニューロンを実現するという問題は、階層型 NN による視覚画像中の運動方向検出問題と等価に置き換えることができる。

以上を踏まえ、ここでは時空間に拡張した階層型 NN に運動方向検出課題を課し、学習によって発現した内部構造を解析することにより、方向選択性ニューロンを実現するミニマムでかつ最適な表現を得ることを目的とした。但しここで言う学習は2乗誤差を最小とするフィルタ構造を得るための手段であり、生体の視覚神経系における可塑性や自己組織化等との関連付けを意図するものではない。

本章ではまず時空間パターンを扱うための階層型 NN の拡張と、このネットワークに課した学習パラダイムについて述べる。続いて学習によって現れたネットワークの内部構造とその解析を行う。更に異なる学習パラダイムを用いて、線形時空間フィルタと単純非線形関数という枠組みの範囲でどのような運動情報の抽出が可能であるかについて検討する。またコントラスト依存性など線形フィルタに特有の問題点について考察し、最後に生体の方向選択性ニューロンとの対応について考察を行う。

9.2 ネットワークモデルと学習パラダイム

9.2.1 ネットワーク構成

動画像を扱うためには、階層型 NN を時空間に拡張しなければいけない。階層型 NN で時系列パターンを扱うための拡張はリカレントネットをはじめ数多くあるが、ここでは効率良く時空間パターンを扱うことが目的ではなく、むしろ内部構造の解析の容易さの方が重要である。そこでフィードバック結合のあるネットワーク構造は避け、バッファ型モデルを用いた。

視覚情報は一般に網膜という2次元平面上に投影された明暗パターンの時間変化、すなわち空間2次元、時間1次元の計3次元のディメンジョンをもつ。しかしここでは問題を単純化するため、空間1次元の網膜を考え、時間1次元と合わせて2次元空間を入力とするシステムについて考えた。

本ネットワークは、ごく一般的な階層型 NN と同様の3層構造になっている。入力層ユニットは網膜上の光受容器に相当する。すなわち網膜の x 軸上に N 個の入力層ユニットを等間隔に配置し、これらのユニットは網膜上の光刺激の強度をそのまま出力するものとする。入力層ユニットの出力は時空間の線形加重をとった上、 M 個の中間層ユニットに伝えられる。網膜上の位置 x にある入力層ユニットの離散時刻 t における出力値を $X(x, t)$ 、 i 番目の中間層ユニットの入力値を $y_i(t)$ とし、システムの時不変性、因果性を仮定すると、 $y_i(t)$ は離散化されたコンボリューションを用いて以下のように表される。

$$y_i(t) = \sum_{x=1}^N \sum_{\tau=0}^{T-1} h_i(x, \tau) X(x, t - \tau) - b_i \quad (9.1)$$

$$= \sum_{x=1}^N h_i(x, t) * X(x, t) - b_{1i} \quad (9.2)$$

但し T は入力層ユニットのメモリ長、すなわち過去の入力がある中間層ユニットに及ぼす範囲を表し、 b_{1i} は i 番目の中間層ユニットのバイアス値を表す。重み関数 $h_i(x, \tau)$ は τ 時刻前の x における光刺激が i 番目の中間層ユニットに及ぼす影響の大きさを表しており、これが「線形時空間フィルタ」の時空間インパルス応答に相当する。以下、 $h_i(x, \tau)$ を spatio-temporal linear filter: STLFL と呼ぶことにする。ネットワークが M 個の中間層ユニットをもつということは、すなわち M 個の STLFL が並列に存在することを意味する。中間層ユニットの出力 $Y_i(t)$ は、シグモイド関数 $f(\cdot)$ を用いて次のように表される。

$$f(\cdot) = (1 - \exp(-\cdot)) / (1 + \exp(-\cdot)) \quad (9.3)$$

$$Y_i(t) = f(y_i(t)) \quad (9.4)$$

M 個の中間層ユニットの出力は再び時空間の線形和をとって出力ユニットに収束する。本ネットワークの出力ユニットは1個である。 i 番目の中間層ユニットから出力ユニットへの重み関数を $g_i(\tau)$ 、バイアス値を b_2 とし、中間層ユニットのメモリ長も入力層に同じく T であるとすれば、出力ユニットの入出力値 $z(t)$ 、 $Z(t)$ は次式で表される。

$$z(t) = \sum_{i=0}^M \sum_{\tau=0}^{T-1} g_i(\tau) Y_i(t - \tau) - b_2 \quad (9.5)$$

$$= \sum_{i=0}^M g_i(t) * Y_i(t) - b_2 \quad (9.6)$$

$$Z(t) = f(z(t)) \quad (9.7)$$

本研究の目的は STLFL とそれに続く非線形関数のみで方向選択性を実現することであり、従って出力ユニットに非線形な入出力特性は本来不要である。しかし学習課題として「右に動いたか否か」などの YES-or-NO 型課題を用いるためネットワークの出力を2値化して教師信号と比較する必要があったこと、また出力ユニットのシグモイド入出力特性がないと学習時の挙動が不安定になり学習効率が低下したことから、上式のように出力ユニットにも非線形な入出力関係を与えた。但し後述するように、この非線形性は方向選択性の実現に関して本質的ではなかった。

ネットワークの出力 $Z(t)$ を実際に計算する際には、過去 T 時刻分の中間層の出力値 $Y(t - T + 1), \dots, Y(t)$ を参照が必要であり、更にこれらを計算するには過去 $2T - 1$ 時刻分の入力層ユニットの出力値 $X(t - 2T + 2), \dots, X(t)$ を参照する必要がある。従って本ネットワークの構造は図9.3のように表される。ネットワークの最適化は通常の誤差逆伝搬による学習アルゴリズムを、式(9.1)～(9.7)の定義に従って導出し直したものをを用いた。なおここでは簡便のため、時間と空間の離散化単位をそれぞれ 1sec, 1cm と呼ぶことにする。

9.2.2 学習パラダイム

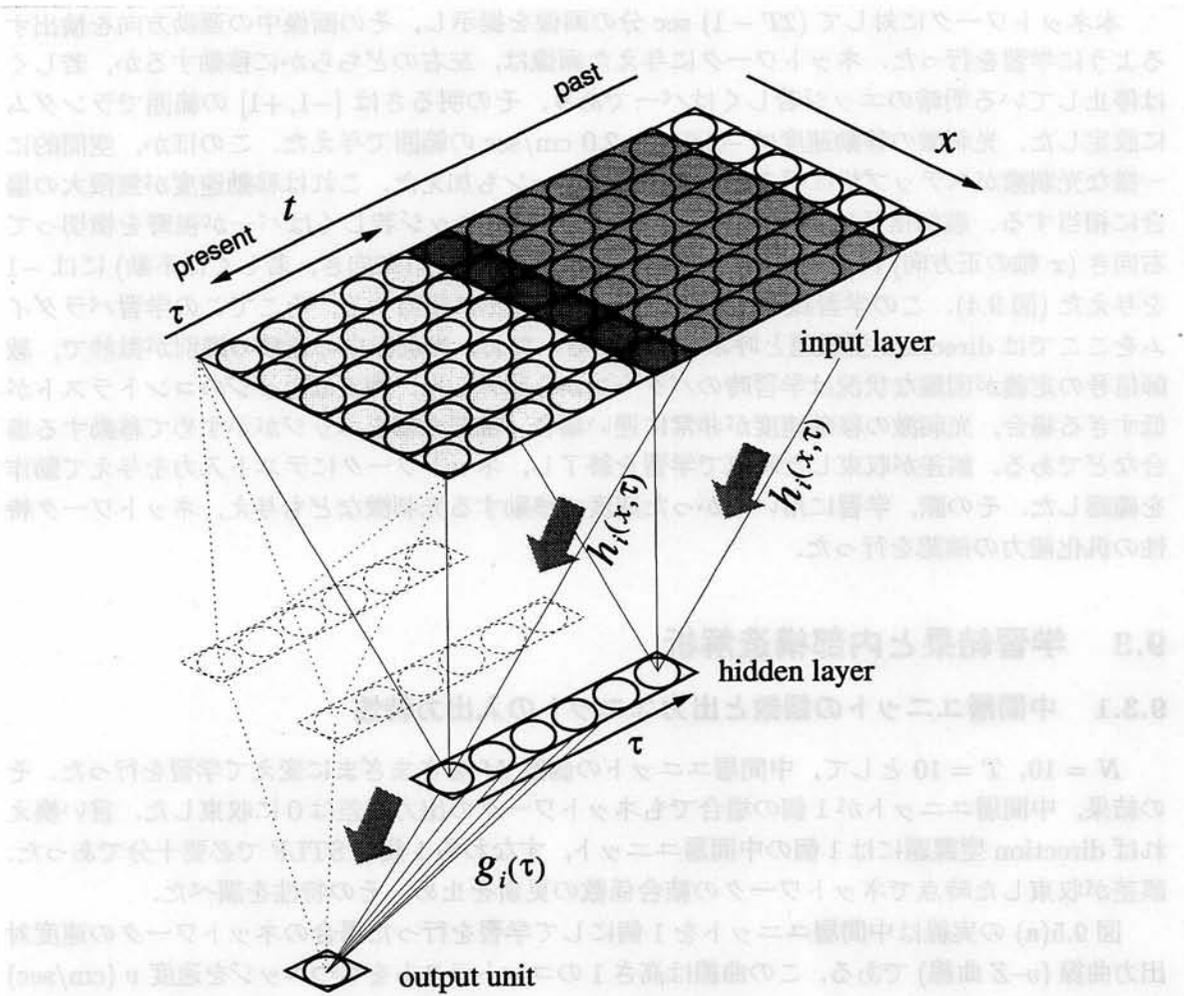


図 9.3: 運動方向検出を学習するネットワークの構造.

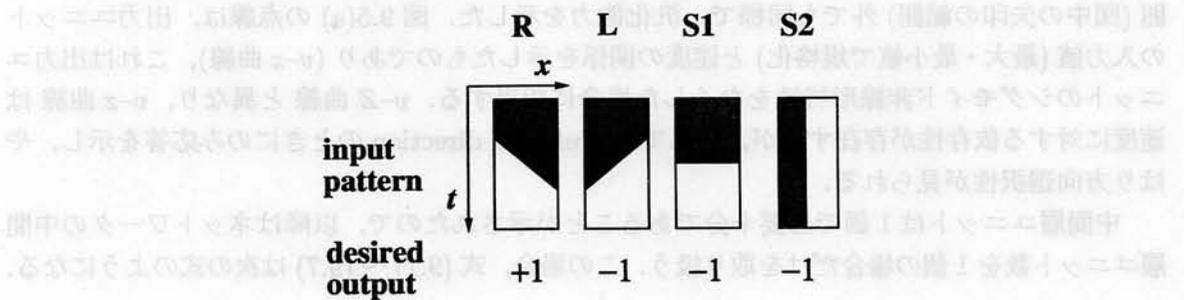


図 9.4: direction 型学習課題

本ネットワークに対して $(2T - 1)$ sec 分の画像を提示し、その画像中の運動方向を検出するように学習を行った。ネットワークに与えた画像は、左右のどちらかに移動するか、若しくは停止している明暗のエッジ若しくはバーであり、その明るさは $[-1, +1]$ の範囲でランダムに設定した。光刺激の移動速度は $-2.0 \sim +2.0$ cm/sec の範囲で与えた。このほか、空間的に一様な光刺激がステップ状に明るさを変えるパターンも加えた。これは移動速度が無限大の場合に相当する。教師信号は、過去 $(2T - 1)$ sec の間にエッジ若しくはバーが視野を横切って右向き (x 軸の正方向) に動いた場合に $+1$ 、それ以外の場合 (左向き、若しくは不動) には -1 を与えた (図 9.4)。この学習課題は画像の運動方向検出に相当する。そこでこの学習パラダイムをここでは *direction* 型課題と呼ぶことにする。なお、光刺激中の運動の識別が微妙で、教師信号の定義が困難な状況は学習時のパターンから除外した。例えばエッジのコントラストが低すぎる場合、光刺激の移動速度が非常に遅い場合、視野の端をエッジがかすめて移動する場合などである。誤差が収束した時点で学習を終了し、ネットワークにテスト入力を与えて動作を確認した。その際、学習に用いなかった速度で移動する光刺激なども与え、ネットワーク特性の汎化能力の確認を行った。

9.3 学習結果と内部構造解析

9.3.1 中間層ユニットの個数と出力ユニットの入出力特性

$N = 10$, $T = 10$ として、中間層ユニットの個数 M をさまざまに変えて学習を行った。その結果、中間層ユニットが 1 個の場合でもネットワークの出力誤差は 0 に収束した。言い換えれば *direction* 型課題には 1 個の中間層ユニット、すなわち 1 個の STLF で必要十分であった。誤差が収束した時点でネットワークの結合係数の更新を止め、その特性を調べた。

図 9.5(a) の実線は中間層ユニットを 1 個にして学習を行った場合のネットワークの速度対出力曲線 (v - Z 曲線) である。この曲線は高さ 1 のコントラストをもつエッジを速度 v (cm/sec) で動かしたときのネットワークの出力値 (Z) をプロットしたものである (但しエッジが視野の中央を横切った時刻から T sec 後の出力値を測定)。エッジを左方向 ($v < 0$: null direction) に動かした場合、ネットワークの出力は常に -1 、一方、右方向 ($v > 0$: preferred direction) の場合は常に $+1$ となり、方向選択性が実現された。この特性は学習時に提示した運動速度の範囲 (図中の矢印の範囲) 外でも同様で、汎化能力を示した。図 9.5(a) の点線は、出力ユニットの入力値 (最大・最小値で規格化) と速度の関係を示したものであり (v - z 曲線)、これは出力ユニットのシグモイド非線形特性をなくした場合に相当する。 v - Z 曲線と異なり、 v - z 曲線は速度に対する依存性が存在するが、それでも preferred direction のときにのみ応答を示し、やはり方向選択性が見られる。

中間層ユニットは 1 個で必要十分であることが示されたので、以降はネットワークの中間層ユニット数を 1 個の場合だけを取り扱う。この場合、式 (9.1) ~ (9.7) は次の式のようになる。

$$y(t) = \sum_{x=1}^N \sum_{\tau=0}^T h(x, \tau) X(x, t - \tau) - b_1 \quad (9.8)$$

$$Y(t) = f(y(t)) \quad (9.9)$$

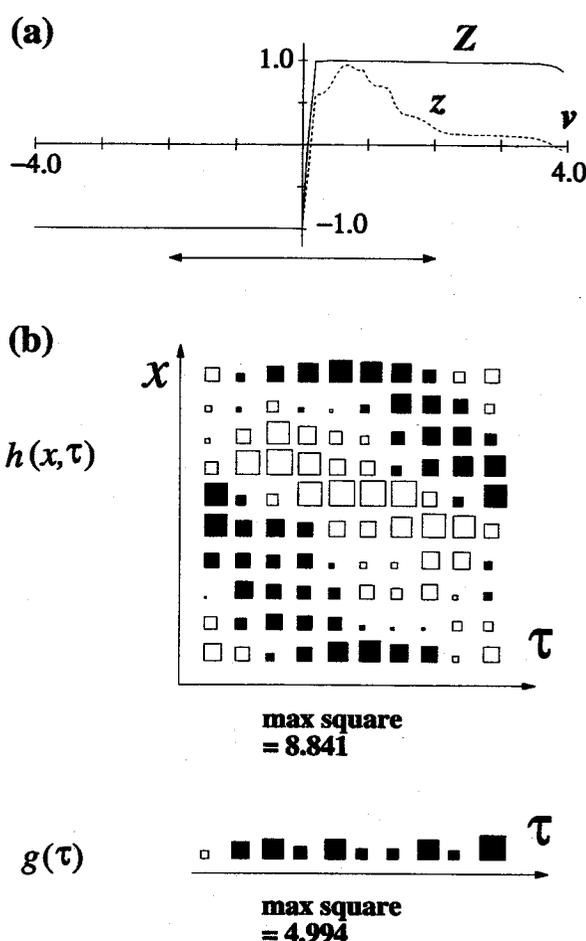


図 9.5: 学習完了後のネットワークの速度-出力曲線 (a), および発現した内部構造 (b)

$$z(t) = \sum_{\tau=0}^T g(\tau) Y(t-\tau) - b_2 \quad (9.10)$$

$$Z(t) = f(z(t)) \quad (9.11)$$

ここで $X(x, t)$, $Y(t)$, $Z(t)$ がそれぞれ入力層, 中間層ユニット, 出力ユニットの出力値で, $y(t)$, $z(t)$ はそれぞれ中間層, 出力ユニットの入力値である. $h(x, \tau)$ が時空間線形フィルタ: STLF であり, 従って $y(t)$ は中間ユニットの入力値であると同時に STLF の出力値でもある. $g(\tau)$ は中間層ユニットから出力ユニットへのインパルス応答関数に相当する.

9.3.2. 線形時空間フィルタ (STLF) の発現構造

中間層ユニットが 1 個の場合のネットワークの内部構造を解析し, どのように運動方向検出が行われるかを調べた. 図 9.5(b) は学習によって形成された STLF: $h(x, \tau)$ と中間層から出

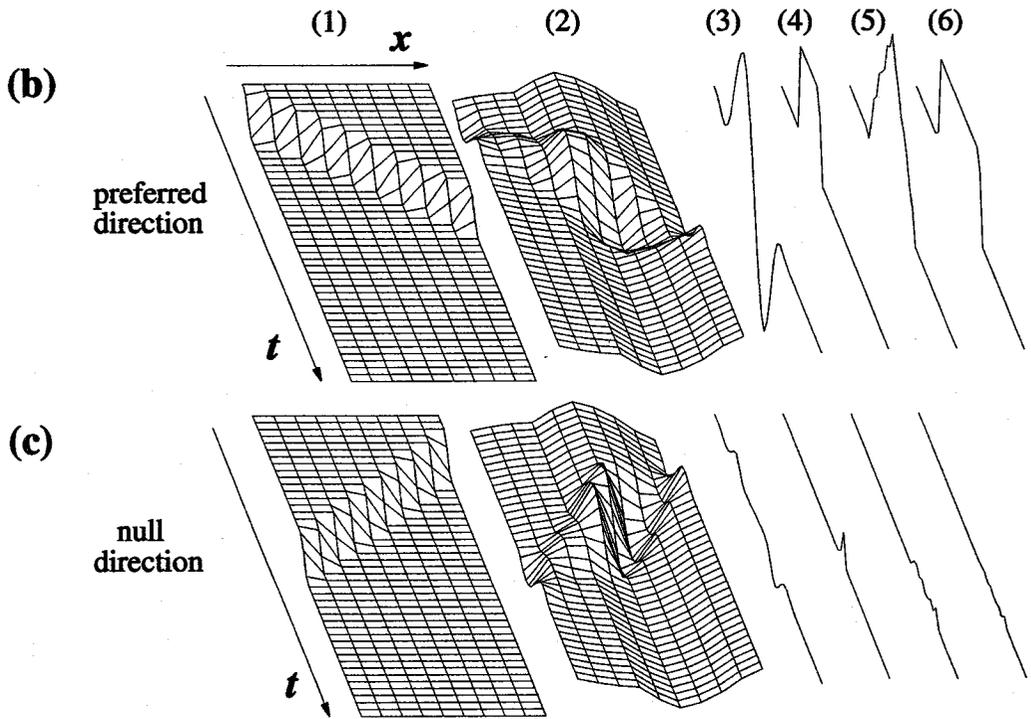
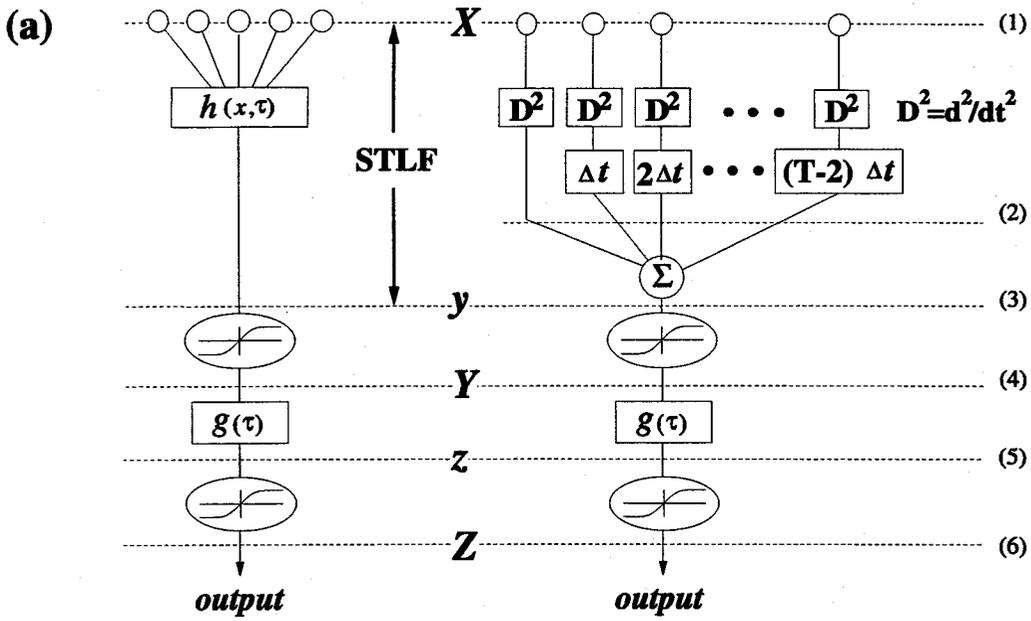


図 9.6: 形成されたネットワークの内部構造 (a), およびエッジが移動した場合の各部の応答波形 (b), (c)

力ユニットへのインパルス応答関数: $g(\tau)$ である。STLF は興奮領域と抑制領域が交互に並んだ、斜めの縞模様を形成した。さまざまな初期値から学習を繰り返したが、ネットワークの内部構造はこの縞状構造をはじめとして基本的に変わらなかった。

図 9.6 はエッジが左向き (null direction) および右向き (preferred direction) に移動したときの、ネットワーク各層の値の時間変化を見たものである。preferred direction の場合、STLF の出力 $y(t)$ は大きな振動波形を示し (図 9.6(b3))、null direction の場合と対照的である (図 9.6(c3))。これは次のように説明できる。STLF は N 個の線形な時間フィルタの出力を空間加算したものとみなすことができる (図 9.6(a) 右)。一つひとつの時間フィルタは、エッジの通過に伴って 2 相性の出力を出すことから (図 9.6(b2)(c2))、おおむね 2 次の時間微分的なフィルタになっていると考えられる。これは STLF が時間軸方向に 3 相性の構造をとっていることから理解できる。但し各時間フィルタには位相的な時間遅れが伴っている。エッジの通過に伴う各時間フィルタの 2 相性の出力は、エッジが preferred direction に移動した場合 (図 9.6(b1)) に各々の位相が一致し (図 9.6(b2))、それらを空間加算することによって大きな振動出力が得られる (図 9.6(b3))。一方 null direction の場合は各時間フィルタの出力の位相がずれており、互いに打ち消し合って小さな出力しか得られない (図 9.6(c2)(c3))。

以上のことは、エッジの代わりに正弦波状の明暗パターンを動かすことでより明確に知ることができる。図 9.7 は正弦波状の明暗パターンを preferred direction および null direction に動かした場合の個々の 2 次微分フィルタの出力波形である。preferred direction の場合には位相がそろっており、一方 null direction の場合は位相が一致していないのがいっそう見てとれる。但し位相が完全に一致するのは、光刺激の移動速度が STLF の縞状構造と一致する速度で動いた場合であり、それ以外の場合では preferred direction であっても位相がずれてくる。図 9.8 は $+1$ (実線) および -1 (点線) のエッジを動かした場合の STLF の最大出力値 ($\max y$) を速度の関数としてプロットしたものである (v - $\max y$ 曲線) である。エッジの移動速度が負の場合、STLF の出力は非常に小さいが、移動速度が負から正に転じると共に STLF の出力は増加し、STLF の縞状構造の傾きとほぼ同じ速度でその出力振幅は最大となる。そしてそれ以上の速度では徐々に出力が減少する。このようにして光刺激の運動方向の情報は、STLF によって振動波形の振幅という形に変換される。

9.3.3 中間層, 出力ユニットでの処理

図 9.6(b3) で示されるような STLF の出力は、中間層ユニットのシグモイド関数によって図 9.6(b4) のように振動成分の一定の値を超えた部分だけが切り取られる。図 9.8 の v - $\max y$ 曲線の右に中間層ユニットの入出力特性を示した。光刺激が preferred direction へ動くとき STLF の出力は大きく振動し、その最大値は中間層ユニットのバイアス値 (図 9.8 破線) を超える。一方 null direction の場合は全くしきい値を超えることがない。

中間層から出力ユニットへの結合 $g(\tau)$ の波形は、比較的単調に変化するプラス値のみをとる (図 9.5(b))。すなわち $g(\tau)$ は積分的な低域フィルタとして働き、STLF やしきい値処理によって生じた振動成分を滑らかに整形している (図 9.6(b5))。最後に出力ユニットのシグモイド特性により、ネットワークの出力値が ± 1 の 2 値に振り分けられる (図 9.6(b6)(c6))。図 9.6 ではエッジを動かした場合の応答を示したが、バーを動かした場合でも正しい出力が得られる

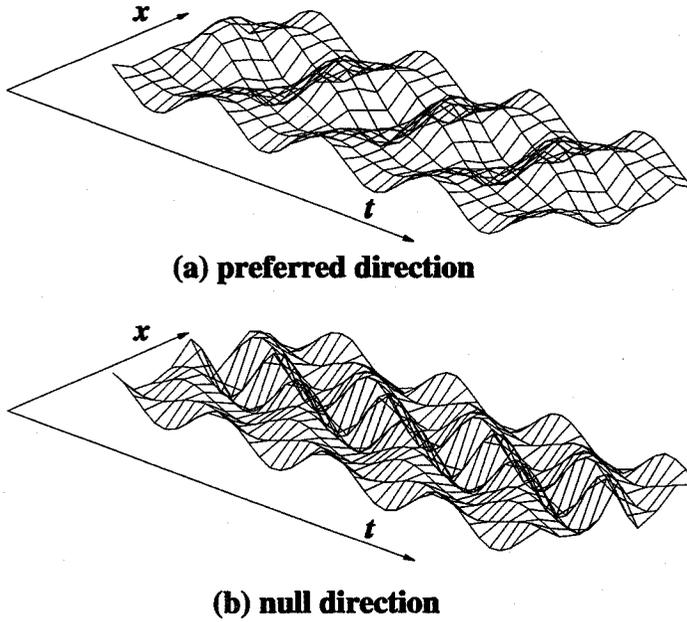


図 9.7: 正弦波状の移動光刺激に対する時間 2 次微分フィルタの各出力

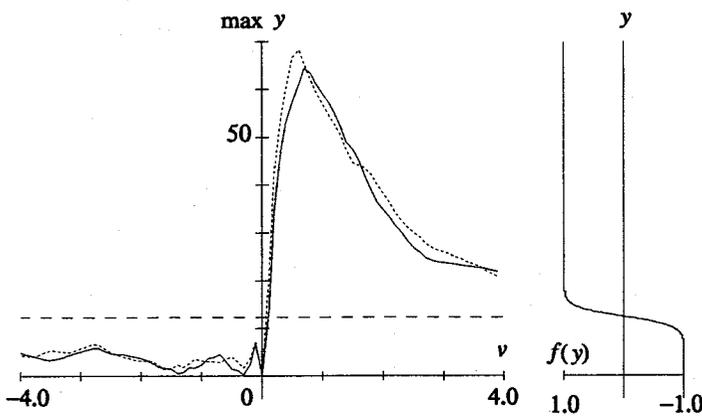


図 9.8: 速度-最大 STLF 出力曲線 (v -max y 曲線)

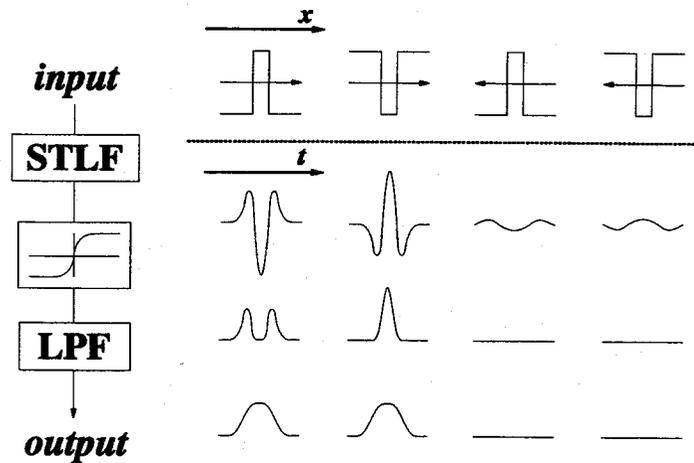


図 9.9: ネットワーク構造と各部分の応答の模式図

(図 9.9).

以上をまとめると、本ネットワークは以下のように運動方向を検出していると言える。(i) 各入力ユニットに与えられた光刺激は位相的な時間遅れを伴う時間 2 次微分フィルタで処理された後、空間加算される。その際、エッジなどのコントラストが preferred direction に移動した場合は各 2 次微分フィルタの出力の位相が近接し、大きな振幅の振動波形が得られる。一方 null direction の場合は位相が不ぞろいになって小さな振幅しか得られない。すなわち STLF は速度を振幅に変換する働きがある。(ii) STLF の出力はしきい値関数によって正のピーク値が切り取られる。null direction の場合は全くしきい値を超えることができない。(iii) 最後にローパスフィルタで不要な振動成分が除去される。おおざっぱに見れば、STLF → しきい値関数 → 低域フィルタという、線形-非線形-線形のサンドイッチ構造で処理されていると言える(図 9.9)。

9.4 速さ情報の検出

以上で述べたように、1 個の STLF としきい値関数の組合せで視覚画像中の運動方向選択性を実現することができた。しかし direction 型課題で学習したネットワークは単に運動の方向を検出しているだけであって、決して「速さ」なども含めた速度ベクトルを抽出しているわけではない。それでは 1 個の STLF と単純非線形関数という組合せで、方向と速さの両者を弁別することが可能だろうか。そこで次のようなパラダイムを用いてネットワークの学習を行った。

- (a) 光刺激の運動速度 v が特定の速度 v_θ 以上のときに限り教師信号は +1 になり、それ以外のときは -1 になる (threshold 型課題)。
- (b) 光刺激の運動速度 v が特定の速度 v_p の付近である場合に教師信号が +1 になり、それ以外の場合は -1 になる。すなわち $(v_p - \Delta v) < v < (v_p + \Delta v)$ の場合に限り教師信号が

+1 になる (bandpass 型課題).

以上の二つの課題を, direction 型課題と同じく中間層ユニットが1個のネットワークに課したところ, どちらの課題についても学習に成功した. 図 9.10は異なるいくつかの v_θ のもとで threshold 型課題で学習を行った結果である. 同様に図 9.11は異なる v_p 下で bandpass 型課題で学習を行った結果である. どちらの学習課題においても, 目指す v - Z 曲線を得ることができた (図 9.10(a), 図 9.11(a)). 従って1個の STLF と非線形関数の組合せという構成で, 光刺激の運動方向のみならず, その速さ情報も検出し得ることが示された. ネットワークが示したこれらの光刺激の速さに特異的な応答は, 既に STLF の段階で作られている. 図 9.10(b), 図 9.11(b) はそれぞれの課題によって形成された STLF の速度-出力曲線 (v -max y 曲線) である. これらの曲線がそのまま v - Z 曲線に反映されていることが見てとれる.

どの学習課題によって形成された STLF の形状も direction 型課題の場合と同様の, 斜めの縞状構造が形成され (図 9.10(c), 図 9.11(c)), ネットワーク全体の構造は課題にかかわらずほぼ同じものとなった. 但し STLF の示した縞の細かさや角度の点においては課題間で違いが見られた. また縞状構造と言っても一様な太さをもつ単純な縞ではなく, その幅や強度は STLF 上の位置によって異なるものとなった. これらの STLF の縞状構造の違いは v -max y 曲線の差異となって反映される. 例えば STLF の縞状構造の傾きは v -max y 曲線の最大感度を示す速度とほぼ一致する (図 9.10(c), 図 9.11(c) 破線). また bandpass 課題によって形成された STLF の縞状構造は, threshold 型課題のものよりも細い.

以上のことから以下のことが結論づけられる. (1) 縞状の構造をもった STLF によって, 光刺激の運動方向や速さ情報を抽出することができる. (2) このような STLF は特定の運動速度に対して最大感度をもつ, 山型の速度-出力曲線をもつ. この最大感度速度は STLF の縞の角度と一致する. (3) STLF の縞の太さやこう配などを変えることにより, 速度-出力曲線の山型特性のこう配を調整することができる. これによって望ましい速度-出力曲線を得ることができる.

9.5 討論

9.5.1 形成されたネットワーク構造の検討

本ネットワークはランダムな初期状態から出発して, 運動方向や速さの検出課題を通してこれまで示してきた特定の内部構造を最終的に形成した. したがってこの構造は与えられた課題に対する誤差最小の意味で最適なものとなっていると考えられる. 本課題を通して得られた線形時空間フィルタ: STLF は最適速度方向に傾きをもつ縞状の構造を示した. この構造は STLF をアプリオリに与えている他のモデルと基本的に同じである. 速度検出の問題を時空間領域におけるエッジ検出問題ととらえれば, このような時空間の縞状構造は1次視覚野の単純型細胞を時空間で表現したものとみなすことができる¹⁾. 従って STLF にこのような縞状構造をもたせることは妥当なことかもしれないが, 本ネットワークが同じ構造を示したことでその最適性が示されたと考えられる. エッジ認識課題によって階層型 NN に中心-周辺拮抗型受容野が発現することを8章に示したが, 本ネットワークが示した STLF の構造はそれを時空間

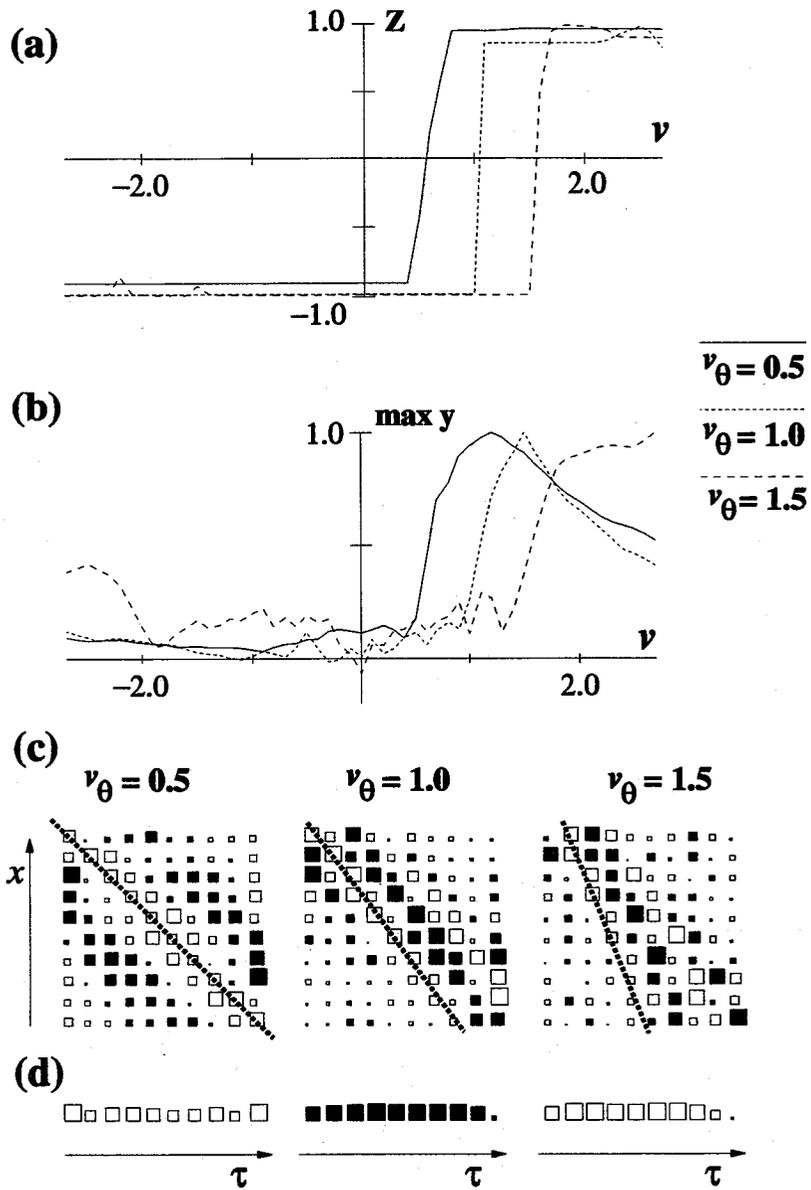


図 9.10: threshold 型課題による学習結果. v - Z 曲線(a), 規格化した v - $\max y$ 曲線(b), STLF: $h(x, \tau)$ (c), $g(\tau)$ (d)

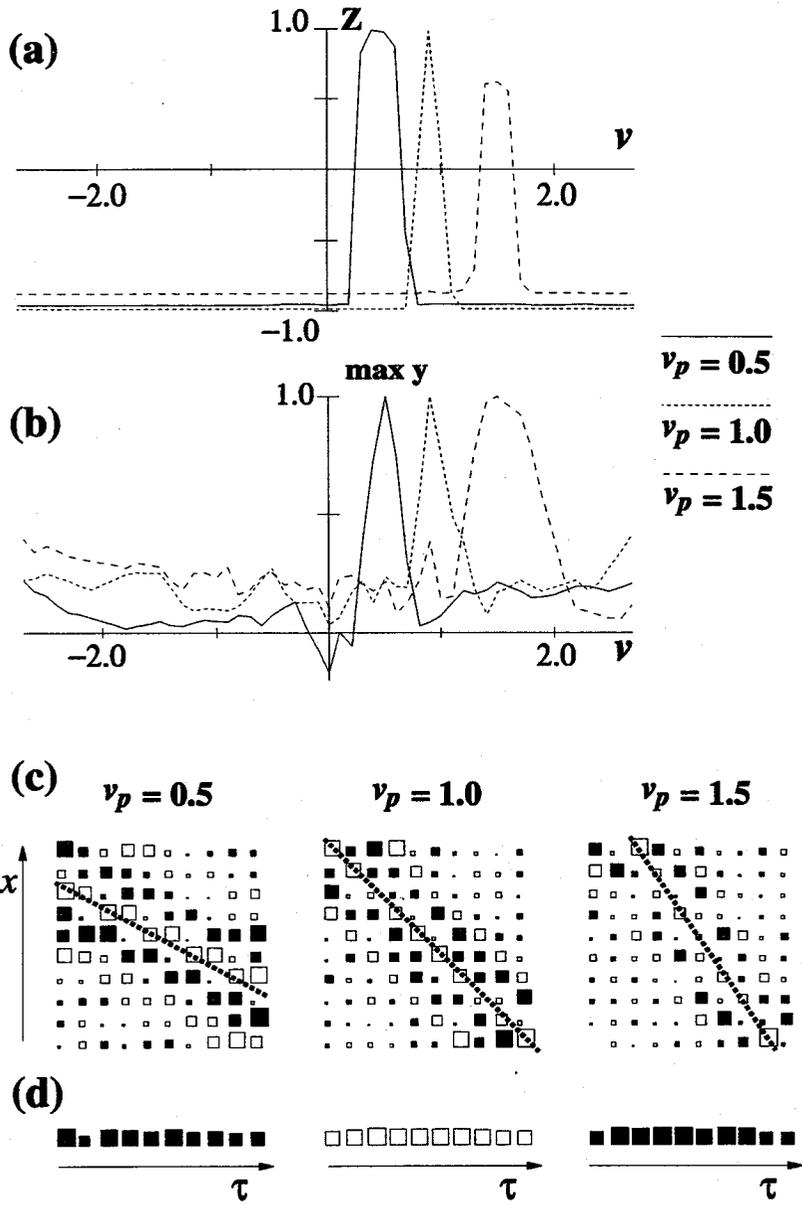


図 9.11: bandpass 型課題による学習結果. v - Z 曲線(a), 規格化した v - $\max y$ 曲線(b), STLF: $h(x, \tau)$ (c), $g(\tau)$ (d)

に拡張したものと考えることができる。また種々の速さ検出課題を通じて同様な縞状構造の STLF が得られたが (図 9.10, 図 9.11), これら STLF の縞の一つひとつは STLF 上の位置によって太さが変化する複雑なものであった。このような構造の STLF は, 単純な縞状構造をもつ他のモデル, 例えば Gabor 関数を用いた STLF モデル⁶⁰⁾ などでは作ることができない。本ネットワークを用いることで望ましい速度-出力特性をもつ STLF の形状を知ることができた。

本ネットワークで得られた STLF を時間軸方向に見ると, 位相的時間遅れをもつ 2 次微分状の時間特性をもつフィルタが空間上に並んでいると見ることができた。時間遅れは縞状の構造を作るのに必要であるが, ではなぜ時間 2 次微分的なのか。この理由は次のように考えられる。光刺激の強度は有限の範囲でしか時間変化できないため, 必ず極大値・極小値をもつ。この条件下において時間 2 次微分フィルタの出力を光刺激強度の極値から極値まで積分すると必ず値は 0 になる。すなわち 2 次微分フィルタの正の出力の積分値と負の出力の積分値は常に等しい。時間 2 次微分フィルタを組み合わせで作った STLF もまた, 同様の特性をもつ。すなわち, preferred direction のときは大きな振動波形を, null direction のときは小さな振動波形を STLF は生成するが, その波形の正の部分と負の部分は常に同じ面積に保たれている。従って null direction のときは単に振動成分の振幅が小さくなるだけでなく, STLF の出力が 0 に近い値に抑えられることになる。このような STLF の出力は, 整流関数やしきい値関数などで一方の符号側のみを切り出し, その後十分な長さの区間で積分値をとることで STLF の出力のエネルギー (2 乗積分) を近似的に計算することができる。この構造はまさしく本ネットワークが示した構造にほかならない (図 9.9)。なお, STLF 全体の出力の正と負の面積が同じであれば, 必ずしも個々の時間フィルタが正確な 2 次微分フィルタである必要はない。従って速さ検出課題で得られた各 STLF のような場合でも同様のことが成り立つ。

なお本ネットワークに与えた入力 (光刺激) は空間 1 次元であったが, これは移動方向に垂直な方向に対しては一樣な 2 次元の光刺激と考えることもできる。従って光刺激を空間 2 次元に拡張した場合でも本質は変わらない。またその場合は後述するような inseparable な単純型細胞と同様な時空間特性が得られると予想される。但しネットワークの拡張自体は容易であるが, 光刺激の移動方向も 360 度に拡張されるため, 適切な学習課題の設定が煩雑になる。

9.5.2 本ネットワークの入力非依存性

視覚画像から運動方向や速度を検出する素子は, 画像中の物体の移動方向や速度に対してのみ反応し, 他のパラメータ, 例えばコントラストや物体の形状などによって出力が左右されない方が望ましい。Adelson と Bergen は, 線形時空間フィルタを用いて画像の運動検出を行う場合, 速度以外の三つの要素に対する出力の依存性を指摘し, これを解決する必要があるとした¹⁾。(1) 位相依存性: これは物体が一定の速度で視野を横切っているにもかかわらず, 物体の位置と線形時空間フィルタとの相対位置関係 (位相) によって出力値が変化することである。例えばエッジが横切ったときに発生するフィルタの振動性の出力がこれに該当する。(2) 極性依存性: 線形時空間フィルタの出力の符号は, 視野を横切るエッジの極性 (明→暗あるいは暗→明) によって反転する。従ってエッジの極性が異なると, しきい値処理などの非線形関数の処理結果が異なることになる。これは広い意味で次のコントラスト依存性に含まれる。(3) コントラスト依存性: 光入力の強度が変わると, それに比例して線形時空間フィルタの出力も変化

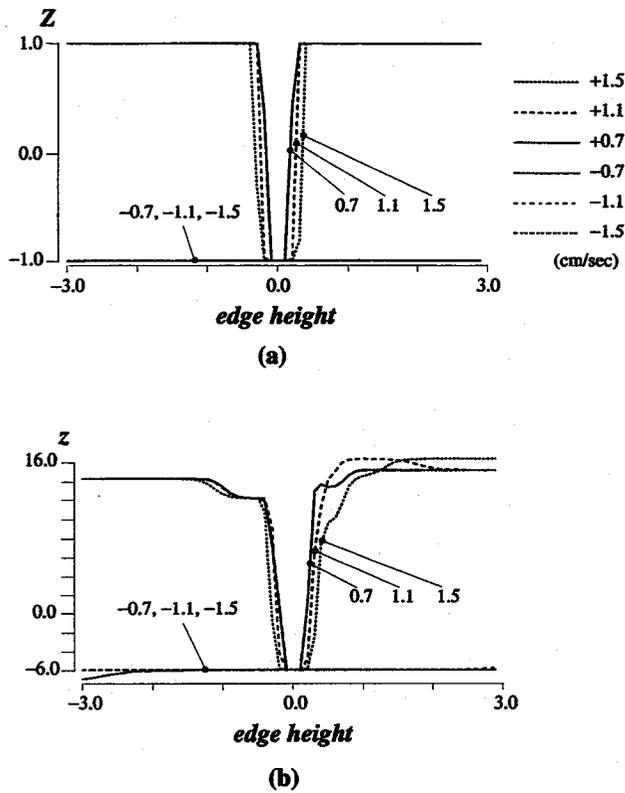


図 9.12: ネットワーク出力のコントラスト非依存性 (a) ネットワーク内部信号 z のコントラスト非依存性 (b)

する。そのため、大きなエッジが null direction に移動した場合と、小さなエッジが preferred direction に移動した場合の区別がつかなくなる。そこで本ネットワークで得られた運動検出回路においてこれら三つの依存性がみられるかを調べ、検討を行った。

[位相非依存性] 本ネットワークでは中間層ユニットから出力ユニットの間で時間的低域特性があり、これによってエッジの時々刻々の位置に依存した振動成分が取り除かれている。この働きにより位相に対して依存しない出力が得られる。但しその代償として細かい時間解像度は失われている。

[極性非依存性] エッジが preferred direction に移動したとき、本ネットワークの STLIF は大きな振動応答を示す (図 9.6(b3))。この振動成分の正と負のピークの高さは極めて対称性が高い (図 9.8の実線と点線)。従って STLIF に続くしきい値関数では、エッジの極性にかかわらず等しい出力が得られ、極性依存性の問題は生じない。同じことは図 9.12からも理解できる。

[コントラスト非依存性] 図 9.12(a) はエッジの移動速度を一定にしてコントラストを変えたときの direction 型ネットワークの出力値を示したものである。コントラストが 0 の場合は

当然ながら動きは検出されないが、それ以外の部分ではコントラストが変化しても出力値 Z は変わらず、理想的な井戸型関数状の曲線となった。すなわち本ネットワークの出力はコントラストに対して非依存性である。このようなコントラストに対する非線形な応答特性を作るのは、中間層および出力ユニットの非線形特性であると考えられる。図 9.12(b) は出力ユニットの入力値 z のコントラスト依存性を示したものであるが、この段階でも既に井戸型関数状の特性を示している。すなわち出力ユニットの非線形性はコントラスト非依存性にとって本質的でないことを示しており、中間層ユニットのシグモイド特性が重要であると考えられる。中間層ユニットのシグモイド特性はしきい値関数として働いており、そのため光刺激のコントラストが変化してもそれをネットワーク出力に及ぼさないのだろう。

以上、光刺激の三つの属性に対するネットワーク出力の非依存性について述べた。当然のことではあるが、最初に線形フィルタで処理をしている以上、極端にコントラストを大きくしたり、あるいは逆に小さくしたりした場合はその影響をこうむり、誤った出力を出すことは避けられない。しかしネットワークの入力が一定のダイナミックレンジ内におさまっている限りにはその問題を生じない。網膜神経系が最初に行う視覚情報処理にはダイナミックレンジを一定の範囲内におさめる働きがあると考えられており、実際の神経系でもその範囲内での非依存性が保証されていれば十分であると考えられる。また本ネットワークでは一つしか出力ユニットがなかったが、異なる運動方向や速度に应答するニューロンがある場合はそれぞれの出力を比較することでより正確な情報を引き出すことができる。従って方向選択性ニューロンの入力非依存性は極端な条件下においてまで厳密に成り立っている必要はないと考える。

9.5.3 出力ユニットの非線形特性の意味

本研究では線形な時空間フィルタとそれに続く単純非線形関数によって画像中の運動情報を抽出することを目的としている。一方、本ネットワークでは通常の階層型 NN と同様に中間層と出力ユニットの双方に非線形な入出力特性が与えられている。本来の目的に従えば出力ユニットの非線形特性は不要のはずである。実際、ネットワーク内部の構造解析によれば、出力ユニットのシグモイド特性は方向選択性や contrast independency にとって本質的でなく、単にネットワークの出力を学習課題が要求する 2 値出力に整形しているにすぎないことが示された。

出力ユニットの非線形性が方向選択性にとって本質的でないことを示すため、出力ユニットのシグモイド特性をなくしたネットワークでも同じように学習を行った。すなわち式 (9.7) の代わりに $Z(t) = z(t)$ とおいて学習を行った。図 9.13 が direction 型課題の学習結果である。この場合でも図 9.5 と全く同様の結果が得られた。また threshold 型課題や bandpass 型課題でも同様の結果が得られた。これらのことから、出力ユニットの非線形性の存在は本質的でなかったと言える。但し出力ユニットの非線形性をなくした場合、学習時のネットワークの挙動が不安定になりやすく、学習効率が極度に低下した。また学習によって発現する STLF の形状も一貫性はあるものの試行ごとのばらつきが大きく、結論を導くのが容易ではなかった。本ネットワークに出力ユニットに非線形特性を与えた最大の理由はこの点にある。これらは誤差逆伝

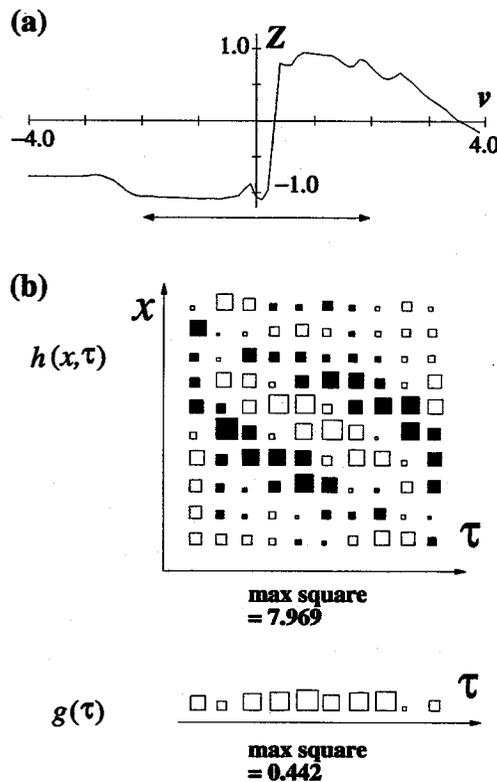


図 9.13: 出力ユニットが線形な入出力特性をもつネットワークの速度-出力曲線 (a), および発現した内部特性 (b)

搬アルゴリズム上の問題であり、この点を除けば出力ユニットの非線形特性の有無が結果に大きな影響を及ぼすことはなかった。

9.5.4 生体との比較

Dinse らおよび DeAngelis らはネコ 1 次視覚野の単純型細胞の時空間受容野を調べた^{29,26)}。そして単純型細胞のうち inseparable 型と呼ばれるものは方向選択性をもち、本ネットワークの STLF と同様な縞状の時空間特性をもっていることを示した。また Jagadeesh らは同じくネコ 1 次視覚野の方向選択性をもつ単純型細胞を細胞内記録法で調べ、その細胞の膜電位応答が光刺激の強度に対して線形に応答することを示した⁷⁹⁾。Jagadeesh らは縞状の時空間受容野を直接的に示してはいないが、網膜上の異なる位置への光刺激が位相の異なる応答を生じることを示しており、間接的に縞状の時空間受容野が存在することを示唆している。ネコ 1 次視覚野の方向選択性ニューロンが本質的に線形であるというこの結論は、本ネットワークに得られた構造と強い類似を意味している。なぜなら非線形な空間特性をもつモデルではもちろん、motion energy model のように線形時空間フィルタを複数個必要とするモデルでも方向選択性ニューロンのこのような線形性を説明することはできないからである。

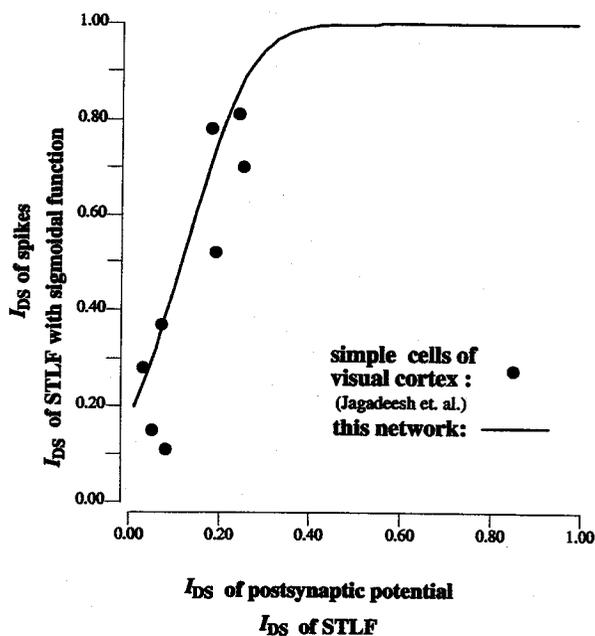


図 9.14: 方向選択性指標

Jagadeesh らは更に、方向選択性ニューロンのシナプス後電位は線形的であるが、それによって発生するスパイク頻度との間にはしきい値関数的な非線形性があり、それによって方向選択性がより強められるのではないかと述べている。図 9.14 は Jagadeesh らが測定したニューロンの方向選択性指標 I_{DS} を再プロットしたもので、横軸が膜電位についての指標、縦軸がスパイク密度についての指標である。方向選択性指標 I_{DS} は次式で定義され、1 のとき方向選択性が最大、0 のとき方向選択性がないことを意味する。

$$I_{DS} = \frac{A_P - A_N}{A_P + A_N} \quad (9.12)$$

ここで A_P は正弦波状の光刺激を preferred direction に動かしたときの応答振幅、 A_N は null direction のときの応答振幅である。図で示されるとおり、膜電位とスパイク密度の間の非線形性によって指標は約 3 倍以上に増えている。direction 型課題で学習させた本ネットワークについて、光刺激の速度を変えながらこの指標を測定したところ、STLF の出力 $y(t)$ と中間層ユニットの出力 $Y(t)$ の間に同様の関係が示された (図 9.14 実線)。以上のことから、しきい値関数は STLF によって生じた方向選択性の指標を増加させる働きがあると言える。更にまた、本ネットワークの構造と 1 次視覚野の方向選択性ニューロンとの間には強い類似性があると考えられる。

では実際の神経細胞がどのように縞状の時空間受容野を形成しているのだろうか。最も単純な方法は図 9.6 に示した時間 2 次微分フィルタと位相的な時間遅れを用いて STLF を実現することである。しかし微分型フィルタであれば必ずしも時間微分である必要はない。例えば中心-周辺拮抗型の空間 2 次微分フィルタを並べることにより同様な STLF を形成すること

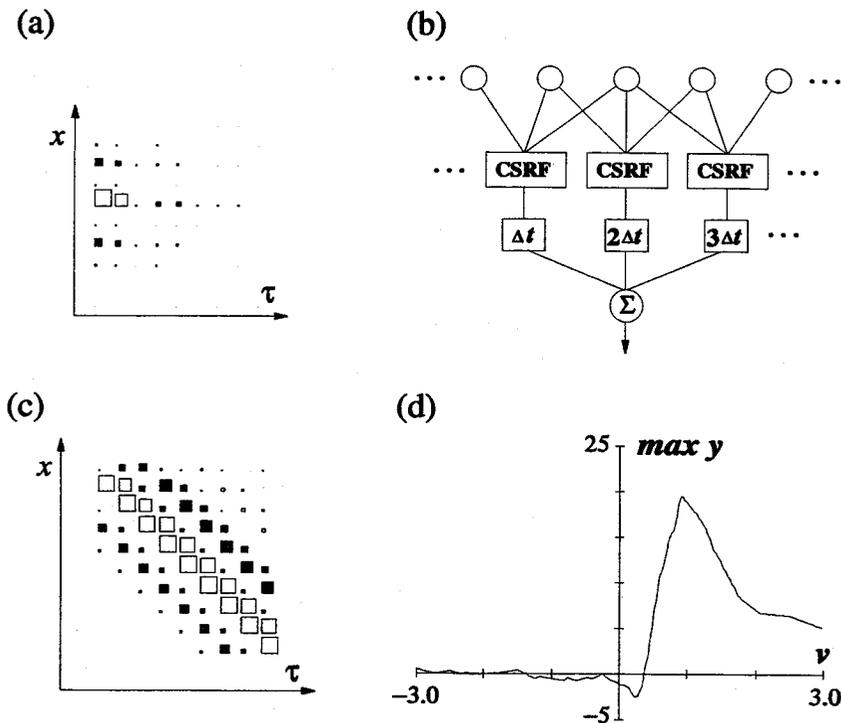


図 9.15: 中心-周辺拮抗型受容野細胞の組合せにより等価的に構成された STLF. 中心-周辺拮抗型受容野 (CSRf) の時空間受容野 (a) が時間遅れ Δt で結合したネットワーク (b) の持つ時空間線形フィルタ (STLF) 特性は (c) になる. その v -max y 曲線 (d) は方向選択性を持つ.

ができる. 図 9.15(a) は典型的な中心-周辺拮抗型の時空間受容野 (center-surround opponent receptive field: CSRf) である. このような特性をもつ細胞は網膜の双極細胞や神経節細胞および外側膝状体などで見られる. CSRf のような微分型の時空間受容野を時間遅れとともに空間加算することで縞状の STLF を形成することができる (図 9.15(b)(c)). 図 9.15(d) はこの STLF の v -max y 曲線であり, 適切なしきい値をもつ非線形関数を用意することで方向選択性が実現できることが予想される. このことは 1 次視覚野で縞状の STLF を構成することが生理学的に必ずしも困難ではないことを示唆している. 外側膝状体ではこのように時間遅れを伴う細胞 (lagged 型) が存在することも示されており²⁶⁾, 位相の異なる細胞の出力の総和を取ることによって STLF を実現することができる (図 9.16).

本ネットワークで得られた結論は motion energy model とは異なるものであったが, 本 motion energy model に相当する生体の視覚神経細胞は存在するのだろうか. 本方法で得られた方向選択性回路はネコ一次視覚野の DS ニューロンと類似の性質を示した. つまり本ネットワークは大腦視覚野の単純型細胞に相当するといえるだろう (図 9.17(a)). 複数の単純型細胞の出力は集まって方向選択性を持つ複雑型細胞へと投射される (図 9.17(b)). これは motion

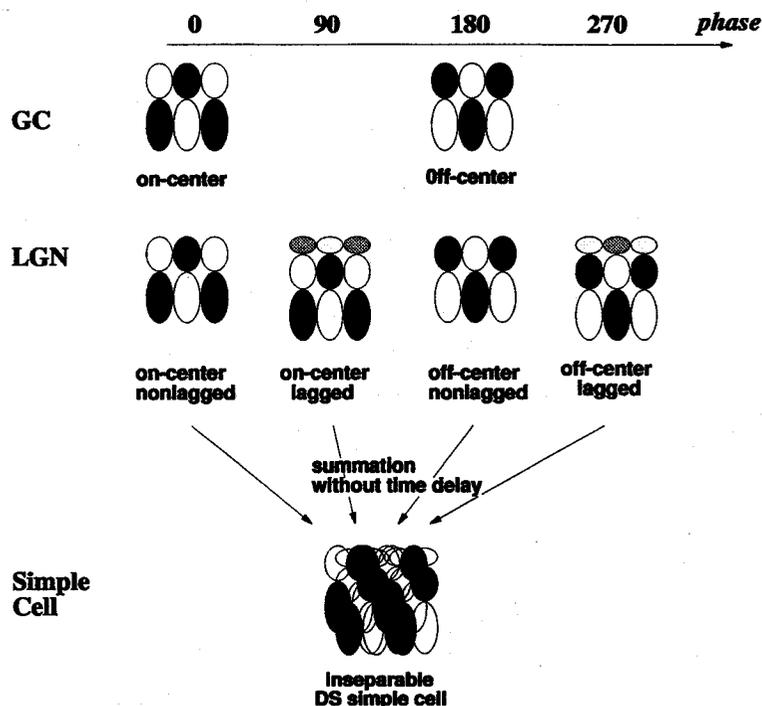


図 9.16: 中心-周辺拮抗型受容野を持つ外側膝状体細胞の組合せによる STLF 構成法.

energy model (図 9.17(c)) にまったく異ならない. すなわち本ネットワークが単純型細胞の DS ニューロンを実現したのに対し, motion energy model は複雑型細胞の DS ニューロンを記述したことに相当する. 本ネットワークと motion energy model とは互いに反するモデルではなく, 視覚神経系の異なるレベルを記述した共存可能なモデルと考えられるだろう.

本ネットワークで得られた方向選択性は大脳視覚野の DS ニューロンと同じ構造を示した. しかし視覚初期過程における方向選択性ニューロンは視覚野のみならず網膜の神経節細胞でも見出されている. そしてその特性は視覚野の DS ニューロンと異なり, 非線形な空間相互作用を持つことが示されている⁴⁾. 従って本ネットワークで示した構造をそのまま網膜神経節細胞にあてはめることはできない. おそらくメカニズムとしてはまったく異なるものと思われるが, しかしながら非線形な空間特性を線形近似することで近似的に等価性が成り立っている可能性はあるだろう.

9.6 まとめ

本章では時空間に拡張したニューラルネットワークに視覚画像中の運動方向や速度情報の抽出する課題を課すことを通じて, これらの情報処理に必要な神経回路の構成について述べてきた. 課題に対して誤差最小を示したネットワーク内部の構造解析から, これらの処理には 1 個の線形な時空間フィルタと, それに続くしきい値関数, および低域フィルタによって実現

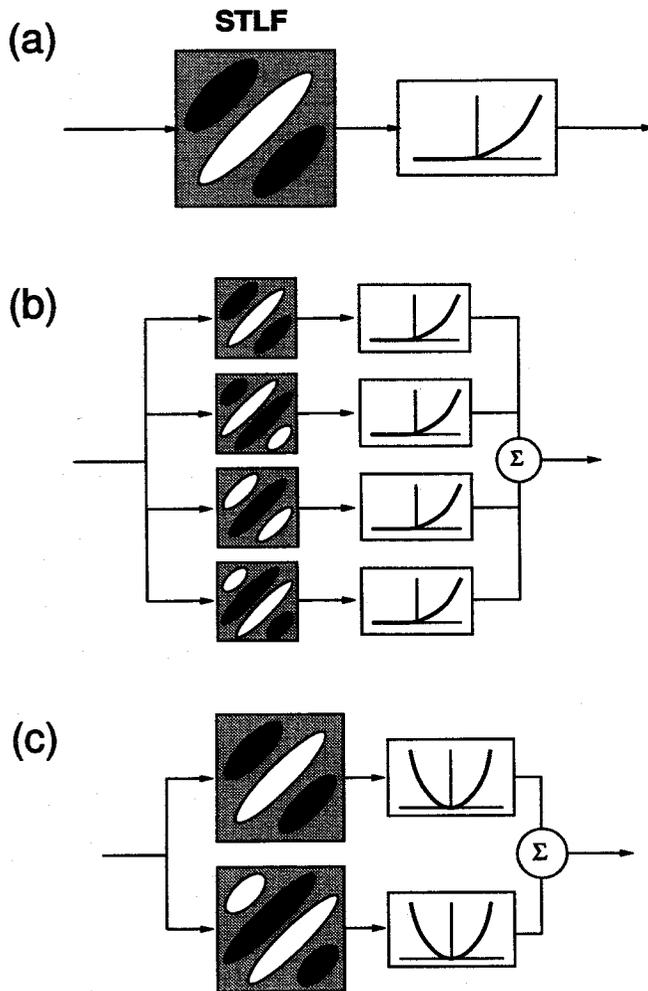


図 9.17: 本ネットワークのモデル (a) は単純細胞に相当する。複雑細胞 (b) は motion energy モデル (c) と本質的に等価である。

されることを示した。更に生体と比較を行い、本ネットワークが脳1次視覚野の方向選択性ニューロンと非常に類似したものであることを示した。

線形な時空間フィルタ (STLF) を用いた視覚画像中の運動検出については、既に多くの研究者により提案がなされている。しかし従来のモデルではフィルタの特性やそれに続く非線形関数がアприオリに与えられているのに対し、本方法で得られた構造は速度検出課題を通してランダムな初期状態から得られたものであり、課題に対して誤差最小の意味で最適なものである。また適切な速さの検出課題を与えることで望ましい速度-出力特性をもつ STLF を得ることもできたが、それらは単純な縞状構造を用いた従来のモデルでは表現できないものであった。しかし非線形な空間相互作用をもつ方向選択性ニューロンとの関係をはじめ、生体における速度検出のメカニズムを明らかにするにはなお多くの課題が残されている。

参考文献

- [1] Adelson, E. H. and Bergen, J. R. (1985), Spatiotemporal energy models for the perception of motion. *J. Opt. Soc. Am. A*, Vol. 2, No. 2, pp. 284-299.
- [2] Ahmad, I., Leinders-Zufall, T., Kocsis, J. D., Shepherd, G. M., Zufall, F. and Barnstable, C. J. (1994), Retinal ganglion cells express a cGMP-gated cation conductance activatable by nitric oxide donors. *Neuron*, Vol. 12, pp. 155-165.
- [3] Ammermüller, J. and Kolb, H. (1995), The organization of the turtle inner retina. II. Analysis of color-coded and directionally selective cells. *J. Comp. Neurol.*, Vol. 358, pp. 35-62.
- [4] Amthor, F. R. and Grzywacz, N. M. (1991), The nonlinearity of the inhibition underlying retinal directional selectivity. *Visual Neurosci.*, Vol. 6, pp. 197-206.
- [5] Amthor, F. R. and Grzywacz, N. M. (1993), Directional selectivity in vertebrate retinal ganglion cells. In Miles, F. A. and Wallman, J., editors, *Visual Motion and its Role in the Stabilization of Gaze*, chapter 4, pp. 79-99. Elsevier Science Publishers.
- [6] Atick, J. J. and Redlich, A. N. (1992), What does the retina know about natural scenes? *Neural Computation*, Vol. 4, pp. 196-210.
- [7] 渥美栄司, 横澤和彦, 安田靖彦, 高木幹雄, (1992), ニューラルネットによる動き検出とその内部表現. JNNS 第3回全国大会論文集, pp. 175-176.
- [8] Ayoub, G. S. and Lam, D. M.-K. (1984), The release of γ -aminobutyric acid from horizontal cells of the goldfish (*Carassius auratus*) retina. *J. Physiol.*, Vol. 355, pp. 191-214.
- [9] Baldridge, W. H. and Ball, A. K. (1991), Background illumination reduces horizontal cell receptive-field size in both normal and 6-hydroxydopamine-lesioned goldfish retina. *Visual Neurosci.*, Vol. 7, pp. 441-450.
- [10] Barlow, H. B. and Levick, W. R. (1965), The mechanism of directionally selective units in rabbit's retina. *J. Physiol.*, Vol. 178, pp. 477-504.
- [11] Barnstable, C. J. (1993), Glutamate and GABA in retinal circuitry. *Current Opinion in Neurobiology*, Vol. 3, pp. 520-525.
- [12] Blute, T. A., Mayer, B. and Eldred, W. D. (1997), Immunocytochemical and histochemical localization of nitric oxide synthase in the turtle retina. *Visual Neurosci.*, Vol. 14, pp. 717-729.
- [13] Bowmaker, J. K., Thorpe, A. and Douglas, R. H. (1991), Ultraviolet-sensitive cones in the goldfish. *Vision Res.*, Vol. 31, No. 3, pp. 349-352.
- [14] Brecht, D. S. and Snyder, S. H. (1992), Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron*, Vol. 8, pp. 3-11.
- [15] Bugnon, O., Schaad, N. C. and Schorderet, M. (1994), Nitric oxide modulates endogenous dopamine release in bovine retina. *NeuroReport*, Vol. 5, pp. 401-404.

- [16] Burnside, B. and Dearry, A. (1986), Cell motility in the retina. In Adler, R. and Farber, D., editors, *The Retina. A Model for Cell Biological Studies*, pp. 151–206. Academic Press.
- [17] Conn, P. J., Winder, D. and Gereau, R. W. (1994), Regulation of neuronal circuits and animal behavior by metabotropic glutamate receptor. In Conn, P. J. and Patel, J., editors, *The Metabotropic Glutamate Receptors*, pp. 195–229. Humana Press.
- [18] Cook, J. E. and Becker, D. L. (1995), Gap junctions in the vertebrate retina. *Microscopy Research and Technique*, Vol. 31, pp. 408–419.
- [19] Copenhagen, D. R. and Jahr, C. E. (1989), Release of endogenous excitatory amino acids from turtle photoreceptors. *Nature*, Vol. 341, pp. 536–539.
- [20] Cramer, K. S., Angelucci, A., Hahm, J.-O., Bogdanov, M. B. and Sur, M. (1996), A role for nitric oxide in the development of the ferret retinogeniculate projection. *J. Neurosci.*, Vol. 16, No. 24, pp. 7995–8004.
- [21] Cramer, K. S. and Sur, M. (1996), The role of NMDA receptors and nitric oxide in retinogeniculate development. *Progress in Brain Research*, Vol. 108, pp. 235–244.
- [22] Culotta, E. and Koshland, D. E. (1992), NO news is good news. *Science*, Vol. 258, pp. 1862–1865.
- [23] Dan, Y., Atick, J. J. and Reid, C. (1996), Efficient coding of natural scenes in the lateral geniculate nucleus: Experimental test of a computational theory. *J. Neurosci.*, Vol. 16, No. 10, pp. 3351–3362.
- [24] Daw, N. W. (1968), Colour-coded ganglion cells in the goldfish retina. *J. Physiol.*, Vol. 197, pp. 567–592.
- [25] De Valois, R. L., Yund, E. W. and Hepler, H. (1982), The orientation and direction selectivity of cells in macaque visual cortex. *Vision Res.*, Vol. 22, pp. 531–544.
- [26] DeAngelis, G. C., Ohzawa, I. and Freeman, R. D. (1995), Receptive-field dynamics in the central visual pathways. *TINS*, Vol. 18, No. 10, pp. 451–458.
- [27] Dearry, A. and Burnside, B. (1986), Dopaminergic regulation of cone retinomotor movement in isolated teleost retinas: I. Induction of cone contraction is mediated by D₂ receptors. *J. Neurochem.*, Vol. 46, pp. 1006–1021.
- [28] DeVries, S. H. and Schwartz, E. A. (1989), Modulation of an electrical synapse between solitary pairs of catfish horizontal cells by dopamine and second messengers. *J. Physiol.*, Vol. 414, pp. 351–375.
- [29] Dinse, H. R., Krüger, K. and Best, J. (1990), A temporal structure of cortical information processing. *Concepts in Neurosci.*, Vol. 1, No. 2, pp. 199–23.
- [30] Djamgoz, M. B. A. (1984), Electrophysiological characterization of the spectral sensitivities of horizontal cells in cyprinid fish retina. *Vision Res.*, Vol. 24, No. 11, pp. 1677–1687.
- [31] Djamgoz, M. B. A. (1995), Diversity of GABA receptors in the vertebrate outer retina. *TINS*, Vol. 18, No. 3, pp. 118–120.
- [32] Djamgoz, M. B. A., Aguilo, R., Greenstreet, E. H. and Reynolds, R. (1996), Histochemistry of NADPH-diaphorase — a marker for neuronal nitric oxide synthase — in the carp retina. *Neurochem. Int.*, Vol. 28, No. 3, pp. 283–291.
- [33] Djamgoz, M. B. A., Cunningham, J. R., Davenport, S. L. and Neal, M. J. (1995), Nitric oxide inhibits depolarization-induced release of endogenous dopamine in the rabbit retina. *Neurosci. Lett.*, Vol. 198, pp. 33–36.

- [34] Djamgoz, M. B. A., Downing, J. E., Kirsch, M., Prince, D. J. and Wagner, H. J. (1988), Plasticity of cone horizontal cell functioning in cyprinid fish retina: effects of background illumination of moderate intensity. *J. Neurocytol.*, Vol. 17, No. 5, pp. 701-710.
- [35] Djamgoz, M. B. A., Fitzgerald, E. M. and Yamada, M. (1996), Spectral plasticity of H1 horizontal cells in carp retina: Independent modulation by dopamine and light-adaptation. *European J. Neurosci.*, Vol. 8, pp. 1571-1579.
- [36] Djamgoz, M. B. A. and Laming, P. J. (1987), Micro-electrode measurements and functional aspects of chloride activity in cyprinid fish retina: extra cellular activity and intracellular activities of L- and C-type horizontal cells. *Vision Res.*, Vol. 27, pp. 1481-1489.
- [37] Djamgoz, M. B. A., Petruv, R., Furukawa, T., Yasui, S. and Yamada, M. (1998), Modulation of chromatic difference in receptive field size of h1 horizontal cells in carp retina: Dopamine- and APB-sensitive mechanisms. *Neurosci. Res.*, Vol. 30, pp. 13-24.
- [38] Djamgoz, M. B. A. and Wagner, H.-J. (1992), Localization and function of dopamine in the adult vertebrate retina. *Neurochem. Int.*, Vol. 20, No. 2, pp. 139-191.
- [39] Djamgoz, M. B. A. and Yamada, M. (1990), Electrophysiological characteristics of retinal neurones: synaptic interactions and functional outputs. In Douglas, R. H. and Djamgoz, M. B. A., editors, *The Visual System of Fish*, chapter 6. Chapman and Hall.
- [40] Djamgoz, M. B. A. and Yamada, M. (1992), Dopamine and light adaptation sharpen the spectral response of H1 horizontal cells in carp retina. *Neurosci. Res. Comm.*, Vol. 10, No. 3, pp. 149-153.
- [41] Dong, C.-J. and McReynolds, J. S. (1989), APB increases apparent coupling between horizontal cells in mudpuppy retina. *Vision Res.*, Vol. 29, No. 5, pp. 541-544.
- [42] Dong, C.-J. and McReynolds, J. S. (1991), The relationship between light, dopamine release and horizontal cell coupling in the mudpuppy retina. *J. Physiol.*, Vol. 440, pp. 291-309.
- [43] Dong, C.-J. and McReynolds, J. S. (1992), Comparison of the effects of flickering and steady light on dopamine release and horizontal cell coupling in the mudpuppy retina. *J. Neurophysiol.*, Vol. 67, No. 2, pp. 364-372.
- [44] Dowling, J. E. (1987), *The retina, an approachable part of the brain*. Belknap press of Harvard University Press.
- [45] Dowling, J. E., Ehinger, B. and Hedden, W. L. (1976), The interplexiform cell: a new type of retinal neuron. *Investigative Ophthalmology*, Vol. 15, No. 11, pp. 916-926.
- [46] Dubs, A. (1982), The spatial integration of signals in the retina and lamina of the fly compound eye under different conditions of luminance. *J. Comp. Physiol.*, Vol. 146, pp. 321-343.
- [47] 江角浩安, 渋木克栄, 谷口直之 (編) (1995), NO 研究最前線, 実験医学増刊, 第13卷. 羊土社.
- [48] Famiglietti, E. V., Kaneko, A. and Tachibana, M. (1977), Neuronal architecture of ON and OFF pathways to ganglion cells in carp retina. *Science*, Vol. 198, pp. 1267-1269.
- [49] Famiglietti, E. V. and Kolb, H. (1975), A bistratified amacrine cell and synaptic circuitry in the inner plexiform layer of the retina. *Brain Res.*, Vol. 84, pp. 293-300.
- [50] Fesenko, E. E., Kolesnikov, S. S. and Lyubarsky, A. L. (1985), Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segment. *Nature*, Vol. 313, pp. 310-313.

- [51] 袋谷賢吉 (1990), 網膜色覚神経回路における環境適応的波長コーディング. 電子情報通信学会論文誌 D-II, Vol. J73-D-II, No. 8, pp. 1233-1241.
- [52] Furukawa, T., Yamada, M., Petruv, R., Djamgoz, M. B. A. and Yasui, S. (1997), Nitric oxide, 2-amino-4-phosphonoputyric acid and light/dark adaptation modulate short-wavelength-sensitive synaptic transmission to retinal horizontal cells. *Neurosci. Res.*, Vol. 27, pp. 65-74.
- [53] Furukawa, T., Yamada, M., Saito, T. and Yasui, S. (1992), Analogous adaptive functions that exists in vertebrate, invertebrate and artificial neural systems for vision. In *Proceedings of International Symposium on Neural Information Processing (ISKIT '92)*, pp. 142-145.
- [54] Furukawa, T. and Yasui, S. (1990), Development of center-surround opponent receptive fields in a neural network model through backpropagation training. In *Proceedings of International Conference on Fuzzy Logic & Neural Networks*, Vol. 1, pp. 473-479.
- [55] Gally, J. A., Montague, P. R., Reeke, Jr., G. N. and Edelman, G. M. (1990), The NO hypothesis: Possible effects of a short-lived, rapidly diffusible signal in the development and function of the nervous system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 87, pp. 3547-3551.
- [56] Gilbertson, T. A., Scobey, R. and Wilson, M. (1991), Permeation of calcium ions through non-NMDA glutamate channels in retinal bipolar cells. *Science*, Vol. 251, pp. 1613-1615.
- [57] Goldstein, I. M., Ostwald, P. and Roth, S. (1996), Nitric oxide: a review of its role in retinal function and disease. *Vision Res.*, Vol. 36, No. 18, pp. 2979-2994.
- [58] Greenstreet, E. H. and Djamgoz, M. B. A. (1994), Nitric oxide induces light-adaptive morphological changes in retinal neurones. *NeuroReport*, Vol. 6, pp. 109-112.
- [59] Grzywacz, N. M., Harris, J. M. and Amthor, F. R. (1994), Computational and neural constraints for the measurement of local visual motion. In Smith, A. T. and Snowden, R. J., editors, *Visual detection of motion*, pp. 19-50. Academic Press, London.
- [60] Grzywacz, N. M. and Yuille, A. L. (1990), A model for the estimate of local image velocity by cells in the visual cortex. *Proc. R. Soc. Lond. B*, Vol. 239, pp. 129-161.
- [61] Haamedi, S. N. and Djamgoz, M. B. A. (1996), Effects of different patterns of light adaptation on cellular and synaptic plasticity in teleost retina: comparison of flickering and steady lights. *Neurosci. Lett.*, Vol. 206, pp. 93-96.
- [62] Hare, W. A. and Owen, W. G. (1990), Spatial organization of the bipolar cell's receptive field in the retina of the tiger salamander. *J. Physiol.*, Vol. 421, pp. 223-245.
- [63] Hare, W. A. and Owen, W. G. (1992), Effects of 2-amino-4-phosphonobutyric acid on cells in the distal layers of the tiger salamander's retina. *J. Physiol.*, Vol. 445, pp. 741-757.
- [64] Harosi, F. I. and MacNichol, E. F. J. (1974), Visual pigments of goldfish cones. Spectral properties and dichroism. *J. Gen. Physiol.*, Vol. 63, pp. 109-204.
- [65] 橋本葉子 (1989), 紫外光受容視細胞 —コイ科魚類の視細胞を中心に—. 蛋白質 核酸 酵素, Vol. 34, No. 5, pp. 614-621.
- [66] Hashimoto, Y., Abe, M. and Inokuchi, M. (1980), Identification of the interplexiform cell in the dace retina by dye-injection method. *Brain Res.*, Vol. 197, pp. 331-340.
- [67] Hashimoto, Y., Harosi, F. I., Ueki, K. and Fukurotani, K.-K. (1988), Ultra-violet-sensitive cones in the color-coding systems of cyprinid retinas. *Neurosci. Res.*, Suppl. 8, S81-95.
- [68] 橋本葉子, 神山暢夫, 植木キク子, 袋谷 賢吉 (1986), 脊椎動物網膜における tetrachromacy の研究 II. ウグイ網膜水平細胞のスペクトル特性と視細胞-水平細胞間結合 様式. 東女医大誌, Vol. 56, No. 8, pp. 647-661.

- [69] Hausen, K. (1982), Motion sensitive interneurons in the optomotor system of the fly. I. The horizontal cells: structure and signals. *Biol. Cybern.*, Vol. 45, pp. 143-156.
- [70] Hausen, K. (1982), Motion sensitive interneurons in the optomotor system of the fly. II. Receptive field organization and response characteristics. *Biol. Cybern.*, Vol. 46, pp. 67-79.
- [71] 日高聡, 田内雅規, 盧陽, 橋本葉子 (1994), 魚類網膜におけるドーパミン作動性 interplexiform 細胞—細胞形態とその多様性, 分布およびシナプス—. *東女医大誌*, Vol. 64, pp. 534-549.
- [72] Hirahara, M. and Nagano, T. (1993), A neural network model for visual motion detection that can explain psychophysical and neurophysiological phenomena. *Biol. Cybern.*, Vol. 68, pp. 247-252.
- [73] Hisatomi, O., Satoh, T., Barthel, L. K., Stenkamp, D. L., Raymond, P. A. and Tokunaga, F. (1996), Molecular cloning and characterization of the putative ultraviolet-sensitive visual pigment of goldfish. *Vision Res.*, Vol. 36, No. 7, pp. 933-939.
- [74] Holmgren-Taylor, I. (1983), Synapses of the inner plexiform layer in a cyprinid fish. *Cell and Tissue Res.*, Vol. 229, pp. 337-350.
- [75] Hölscher, C. (1997), Nitric oxide, the enigmatic neuronal messenger: its role in synaptic plasticity. *TINS*, Vol. 20, No. 7, pp. 298-303.
- [76] Huang, E. P. (1997), Synaptic plasticity: a role for nitric oxide in LTP. *Current Biology*, Vol. 7, pp. 141-143.
- [77] Ishida, A. T. and Fain, G. L. (1981), D-Aspartate potentiates the effects of L-glutamate on horizontal cells in goldfish retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 78, No. 9, pp. 5890-5894.
- [78] Jack, J. J. B., Noble, D. and Tsien, R. W. (1975), *Electrical current flow in excitable cells*. Carendon Press.
- [79] Jagadeesh, B., Wheat, H. S. and Ferster, D. (1993), Linearity of summation of synaptic potentials underlying direction selectivity in simple cells of the cat visual cortex. *Science*, Vol. 262, pp. 1901-1904.
- [80] Joshi, A. and Lee, C.-H. (1993), Backpropagation learns Marr's operator. *Biol. Cybern.*, Vol. 70, pp. 65-73.
- [81] Kamermans, M. (1989), *The functional organization of the horizontal cell layers in carp retina*. PhD thesis, University of Amsterdam, Amsterdam, Netherlands.
- [82] Kamermans, M., Haak, J., Habraken, J. B. A. and Spekrijse, H. (1996), The size of the horizontal cell receptive fields adapts to the stimulus in the light adapted goldfish retina. *Vision Res.*, Vol. 36, No. 24, pp. 4105-4119.
- [83] Kamermans, M. and Werblin, F. S. (1992), GABA-mediated positive autofeedback loop controls horizontal cell kinetics in tiger salamander retina. *J. Neurosci.*, Vol. 12, No. 7, pp. 2451-2463.
- [84] 神山齊己, 石井宏幸, 白井支朗 (1991), イオン電流モデルによる網膜 R/G 型水平細胞応答ダイナミックスの解析. 信学論 (D-II), Vol. J74-D-II, No. 6, pp. 819-827.
- [85] Kaneko, A. (1971), Electrical connections between horizontal cells in the dogfish retina. *J. Physiology*, Vol. 213, pp. 95-105.
- [86] Kaneko, A. (1973), Receptive field organization of bipolar and amacrine cells in the goldfish retina. *J. Physiol.*, Vol. 235, pp. 133-153.
- [87] 金子章道 (1978), 脊椎動物網膜の機能構造. 塚田裕三 (編), 神経系の統合機構, 第3章, pp. 52-75. 共立出版.

- [88] Kaneko, A. (1987), The functional role of retinal horizontal cells. *Jpn. J. Physiol.*, Vol. 37, pp. 341-358.
- [89] Kaneko, A. and Stuart, A. E. (1984), Coupling between horizontal cells in the carp retina revealed by diffusion of Lucifer yellow. *Neurosci. Lett.*, Vol. 47, pp. 1-7.
- [90] Kaneko, A. and Tachibana, M. (1981), Retinal bipolar cells with double colour-opponent receptive fields. *Nature*, Vol. 293, pp. 220-222.
- [91] Kaneko, A. and Tachibana, M. (1985), Electrophysiological measurements of the spectral sensitivity of three types of cones in the carp retina. *Jpn. J. Physiol.*, Vol. 35, pp. 355-365.
- [92] Kaneko, A. and Tachibana, M. (1986), Effects of gamma-aminobutyric acid on isolated cone photoreceptors of the turtle retina. *J. Physiol.*, Vol. 373, pp. 443-461.
- [93] Kaneko, A. and Tachibana, M. (1987), GABA mediates the negative feedback from amacrine to bipolar cells. *Neurosci. Res.*, Suppl. 6, S239-S252.
- [94] Kaneko, A., Yang, X.-L. and Tauchi, M. (1982), Interaction between red-sensitive and green-sensitive cones in the goldfish retina: an observation made in L-type external horizontal cells. *Biomedical Res. (Supplement)*.
- [95] Kirsch, M., Wagner, H. J. and Djamgoz, M. B. A. (1991), Dopamine and plasticity of horizontal cell function in the teleost retina: regulation of a spectral mechanism through D1-receptors. *Vision Res.*, Vol. 31, No. 3, pp. 401-412.
- [96] Knapp, A. G. and Dowling, J. E. (1987), Dopamine enhances excitatory amino acid-gated conductances in cultured retinal horizontal cells. *Nature*, Vol. 329, pp. 437-439.
- [97] Krausz, H. I. and Naka, K.-I. (1980), Spatiotemporal testing and modeling of catfish retinal neurons. *Biophys. J.*, Vol. 29, pp. 13-36.
- [98] Kurenyy, D. E., Moroz, L. L., Turner, R. W., Sharkey, K. A. and Barnes, S. (1994), Modulation of ion channels in rod photoreceptors by nitric oxide. *Neuron*, Vol. 13, .
- [99] Lamb, T. D. (1976), Spatial properties of horizontal cell responses in the turtle retina. *J. Physiol.*, Vol. 263, pp. 239-255.
- [100] Lasater, E. M. (1990), Properties of non-NMDA excitatory amino acid-activated channels in isolated retinal horizontal cells. *J. Neurosci.*, Vol. 10, No. 5, pp. 1654-1663.
- [101] Lasater, E. M. and Dowling, J. E. (1985), Carp horizontal cells in culture respond selectively to L-glutamate and its agonists. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 82, pp. 3025-3029.
- [102] Laughlin, S. B. (1989), Coding efficiency and design in visual processing. In Stavenga, D. G. and Hardie, R. C., editors, *Facets of Vision*, chapter 11, pp. 213-234. Springer-Verlag.
- [103] Lipetz, L. E. and Kaneko, A. (1984), Receptive field properties of the photopic luminosity horizontal cell of carp retina. *Vision Res.*, Vol. 24, No. 12, pp. 1947-1950.
- [104] Loew, E. R. and McFarland, W. N. (1990), The underwater visual environment. In Douglas, R. H. and Djamgoz, M. B. A., editors, *The visual system of fish*, chapter 1. Chapman and Hall.
- [105] Lu, C. and McMahon, D. G. (1997), Modulation of hybrid bass retinal gap junctional channel gating by nitric oxide. *J. Physiol.*, Vol. 499.3, pp. 689-699.
- [106] Man, D. and Lam, K. (1997), Neurotransmitters in the vertebrate retina. *Invest. Ophthalmol. and Visual Sci.*, Vol. 38, No. 3, pp. 553-556.

- [107] Marc, R. E. and Lam, D. M. K. (1981), Uptake of aspartic and glutamic acid by photoreceptors in the goldfish retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 78, pp. 7185-7189.
- [108] Marc, R. E. and Liu, W.-L. S. (1984), Horizontal cell synapses onto glycine-accumulating interplexiform cells. *Nature*, Vol. 311, pp. 266-269.
- [109] Marc, R. E., Liu, W.-L. S., Kalloniatis, M., Raiguél, S. F. and Haesendonck, E. V. (1990), Patterns of glutamate immunoreactivity in the goldfish retina. *J. Neurosci*, Vol. 10, No. 12, pp. 4006-4034.
- [110] Marc, R. E. and Sperling, H. G. (1976), The chromatic organization of the goldfish cone mosaic. *Vision Res.*, Vol. 16, pp. 1211-1224.
- [111] Marc, R. E. and Sperling, H. G. (1976), Color receptor identities of goldfish cones. *Science*, Vol. 191, pp. 487-489.
- [112] Marc, R. E., Stell, W. K., Bok, D. and Lam, D. M. K. (1978), GABA-ergic pathways in the goldfish retina. *J. Comp. Neur.*, Vol. 182, pp. 221-246.
- [113] Matthews, G., Ayoub, G. S. and Heidelberger, R. (1994), Presynaptic inhibition by GABA is mediated via two distinct GABA receptors with novel pharmacology. *J. Neurosci.*, Vol. 14, No. 3, pp. 1079-1090.
- [114] McMahon, D. G. and Ponomareva, L. V. (1996), Nitric oxide and cGMP modulate retinal glutamate receptors. *J. Neurophysiol.*, Vol. 76, No. 4, pp. 2307-2315.
- [115] Meister, M., Lagnado, L. and Baylor, D. A. (1995), Concerted signaling by retinal ganglion cells. *Science*, Vol. 270, pp. 1207-1210.
- [116] Mills, S. L. and Massey, S. C. (1995), Differential properties of two gap junctional pathways made by AII amacrine cells. *Nature*, Vol. 377, pp. 734-737.
- [117] 宮地栄一 (1992), 網膜ニューロンにおける細胞間連絡と細胞内情報伝達系. *Jpn. J. Psychopharmacol.*, Vol. 12, pp. 129-134.
- [118] Miyachi, E.-I. and Murakami, M. (1989), Decoupling of horizontal cells in carp and turtle retinae by intracellular injection of cyclic amp. *J. Physiol*, Vol. 419, pp. 213-224.
- [119] Miyachi, E.-I., Murakami, M. and Nakaki, T. (1990), Arginine blocks gap junctions between retinal horizontal cells. *NeuroReport*, Vol. 1, pp. 107-110.
- [120] Miyachi, E.-I. and Nishikawa, C. (1994), Blocking effect of L-arginine on retinal gap junctions by activating guanylate cyclase via generation of nitric oxide. *Biogenic Amines*, Vol. 10, No. 5.
- [121] Murakami, M., Shimoda, Y., Nakatani, K., Miyachi, E.-I. and Watanabe, S.-I. (1982), GABA-mediated negative feedback and color opponency in carp retina. *Jpn. J. Physiol.*, Vol. 32, pp. 927-935.
- [122] Murakami, M., Shimoda, Y., Nakatani, K., Miyachi, E.-I. and Watanabe, S.-I. (1982), GABA-mediated negative feedback from horizontal cells to cones in carp retina. *Jpn. J. Physiol.*, Vol. 32, pp. 911-926.
- [123] Naka, K.-I. (1981), Direct electrical connections between transient amacrine cells in the catfish retina. *Science*, Vol. 214, pp. 462-464.
- [124] Naka, K.-I. and Rushton, W. A. H. (1966), S-potential from luminosity units in the retina of fish (Cyprinidae). *J. Physiol.*, Vol. 185, pp. 587-599.
- [125] Naka, K.-I. and Rushton, W. A. H. (1967), The generation and spread of S-potentials in fish (Cyprinidae). *J. Physiol.*, Vol. 192, pp. 437-461.

- [126] Nakajima, Y., Iwakabe, H., Akazawa, C., Nawa, H., Shigemoto, R., Mizuno, N. and Nakanishi, S. (1993), Molecular characterization of a novel retinal metabotropic glutamate receptor mGluR6 with a high agonist selectivity for L-2-amino-4-phosphonobutyrate. *J. Biol. Chem.*, Vol. 268, pp. 11,868-11,873.
- [127] 中満竹千代, 古川徹生, 安井湘三 (1998), 網膜神経ネットワークにおける一酸化窒素の機能: 順応調節信号としての役割. 信学技報 [MEとバイオサイバネティクス], Vol. 97, No. 525, pp. 7-12.
- [128] Nawy, S. and Jahr, C. E. (1990), Suppression by glutamate of cGMP-activated conductance in retinal bipolar cells. *Nature*, Vol. 346, pp. 269-271.
- [129] Nawy, S., Sie, A. and Copenhagen, D. R. (1989), The glutamate analog 2-amino-4-phosphonobutyrate antagonizes synaptic transmission from cones to horizontal cells in the goldfish retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 86, pp. 1726-1730.
- [130] Negishi, K., Teranishi, T. and Kato, S. (1990), The dopamine system of the teleost fish retina. *Progress in Retinal Research*, Vol. 9, pp. 1-48.
- [131] Neuenschwander, S. and Singer, W. (1996), Long-range synchronization of oscillatory light responses in the cat retina and lateral geniculate nucleus. *Nature*, Vol. 379, pp. 728-733.
- [132] Nöll, G. N., Billek, M., Pietruck, C. and Schmidt, K.-F. (1994), Inhibition of nitric oxide synthase alters light responses and dark voltage of amphibian photoreceptors. *Neuropharmacology*, Vol. 33, No. 11, pp. 1407-1412.
- [133] O'Dell, T. J. and Christensen, B. N. (1986), N-methyl-D-aspartate receptors coexist with kainate and quisqualate receptors on single isolated catfish horizontal cells. *Brain Res.*, Vol. 381, No. 2, pp. 359-362.
- [134] O'Dell, T. J. and Christensen, B. N. (1989), Horizontal cells isolated from catfish retina contain two types of excitatory amino acid receptors. *J. Neurophysiol.*, Vol. 61, pp. 1097-1109.
- [135] 大黒浩, 秋野豊秋 (1994), 視細胞における情報. 視覚情報処理, 第2章. メジカルビュー社.
- [136] 大柳善彦 (1993), NOと医学 — 一酸化窒素の生理作用と薬理作用. 共立出版.
- [137] Osborne, N. N., Barnett, N. L. and Herrera, A. J. (1993), NADPH diaphorase localization and nitric oxide synthetase activity in the retina and anterior uvea of the rabbit eye. *Brain Res.*, Vol. 610, pp. 194-198.
- [138] Perlman, I. and Ammermüller, J. (1994), Receptive-field size of L1 horizontal cells in the turtle retina: effects of dopamine and background light. *J. Neurophysiol.*, Vol. 72, No. 6, pp. 2786-2795.
- [139] Perlman, I. and Normann, R. A. (1990), The effect of GABA and related drugs on horizontal cells in the isolated retina. *Visual Neurosci.*, Vol. 5, pp. 469-477.
- [140] Peters, B. N. and Masland, R. H. (1996), Responses to light of starburst amacrine cells. *J. Neurophysiol.*, Vol. 75, No. 1, pp. 469-480.
- [141] Petruv, R. (1996). PhD thesis, Imperial Collage, London, U.K.
- [142] Petry, H. M. and Murphy, H. A. (1995), Differentiation of short-wavelength-sensitive cones by NADPH diaphorase histochemistry. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 92, pp. 5121-5123.
- [143] Piccolino, M., Neyton, J. and Gerschenfeld, H. M. (1984), Decrease of gap junction permeability induced by dopamine and cyclic adenosine 3':5'-monophosphate in horizontal cells of turtle retina. *J. Neurosci.*, Vol. 4, No. 10, pp. 2477-2488.

- [144] Pottek, M., Schultz, K. and Weiler, R. (1997), Effects of nitric oxide on the horizontal cell network and dopamine release in the carp retina. *Vision Res.*, Vol. 37, No. 9, pp. 1091-1102.
- [145] Pourcho, R. G. (1996), Neurotransmitters in the retina. *Current Eye Res.*, Vol. 15, No. 7, pp. 797-803.
- [146] Qian, H. and Dowling, J. E. (1993), Novel GABA responses from rod-driven retinal horizontal cells. *Nature*, Vol. 361, pp. 162-164.
- [147] Raviola, E. and Gilula, N. B. (1975), Intermembrane organization of specialized contacts in the outer plexiform layer of the retina: a freeze-fracture study in monkeys and rabbits. *J. Cell Biol.*, Vol. 65, pp. 192-222.
- [148] Reichardt, W. (1961), Autocorrelation, a principle for evaluation of sensory information by the central nervous system. In Rosenblith, W. A., editor, *Principles of sensory communication*, chapter 17. Wiley, New York.
- [149] Rowe, J. S. (1987), Effects of external calcium on horizontal cells in the superfused goldfish retina. *Neurosci. Res.*, Vol. 6, S147-164.
- [150] Saito, T. and Kujiraoka, T. (1982), Physiological and morphological identification of two types of on-center bipolar cells in the carp retina. *J. Comp. Neurol.*, Vol. 205, pp. 161-170.
- [151] Saito, T. and Kujiraoka, T. (1988), Characteristics of bipolar-bipolar coupling in the carp retina. *J. Gen. Physiol.*, Vol. 91, pp. 275-287.
- [152] Saito, T., Kujiraoka, T. and Toyoda, J.-I. (1984), Electrical and morphological properties of off-center bipolar cells in the carp retina. *J. Comp. Neurol.*, Vol. 222, pp. 200-208.
- [153] Saito, T., Kujiraoka, T. and Yonaha, T. (1983), Connections between photoreceptors and horseradish peroxidase-injected bipolar cells in the carp retina. *Vision Res.*, Vol. 23, No. 4, pp. 353-362.
- [154] Saito, T., Kujiraoka, T., Yonaha, T. and Chino, Y. (1985), Reexamination of photoreceptor-bipolar connectivity patterns in carp retina: HRP-EM and Golgi-EM studies. *J. Comp. Neurol.*, Vol. 236, pp. 141-160.
- [155] Sakai, C. M. and Ball, A. K. (1994), Regulation of on-bipolar cell gap junction coupling by nitric oxide in goldfish retina. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, Vol. 35, p. 2624.
- [156] Salvador, V., Djamgoz, M. B. A., Vallerga, S., Cunningham, J. R. and Neal, M. J. (1995), NO synthase activity in the carp retina. In *Proc. of the Satellite Symposium of the Meeting of the European Neuroscience Association: The dynamics of the outer retina*.
- [157] Savchenko, A., Barnes, S. and Kramer, R. H. (1997), Cyclic-nucleotide-gated channels mediate synaptic feedback by nitric oxide. *Nature*, Vol. 390, pp. 694-698.
- [158] Schmidt, K.-F., Nöll, G. N. and Yamamoto, Y. (1992), Sodium nitroprusside alters dark voltage and light responses in isolated retinal rods during whole-cell recording. *Visual Neurosci.*, Vol. 9, pp. 205-209.
- [159] Schwartz, E. A. (1987), Depolarization without calcium can release γ -aminobutyric acid from a retinal neuron. *Science*, Vol. 238, pp. 350-355.
- [160] Sherry, D. M. and Yazulla, S. (1993), Goldfish bipolar cells and axon terminal patterns: a golgi study. *J. Comp. Neurol.*, Vol. 329, pp. 188-200.
- [161] Shiells, R. A. and Falk, G. (1990), Glutamate receptors of rod bipolar cells are linked to a cyclic gmp cascade via a G-protein. *Proc. R. Soc. Lond. B*, Vol. 242, pp. 91-94.

- [162] Shiells, R. A. and Falk, G. (1992), The glutamate-receptor linked cGMP cascade of retinal on-bipolar cells is pertussis and cholera toxin-sensitive. *Proc. R. Soc. Lond. B*, Vol. 247, pp. 17-20.
- [163] Shiells, R. A. and Falk, G. (1992), Properties of the cGMP-activated channel of retinal on-bipolar cells. *Proc. R. Soc. Lond. B*, Vol. 247, pp. 21-25.
- [164] Shiells, R. A. and Falk, G. (1992), Retinal on-bipolar cells contain a nitric oxide-sensitive guanylate cyclase. *NeuroReport*, Vol. 3, pp. 845-848.
- [165] Shigematsu, Y. and Yamada, M. (1988), Effects of dopamine on spatial properties of horizontal cell responses in the carp retina. *Neurosci. Res.*, Suppl. 8, S69-80.
- [166] Shimbo, K., Kondo, H. and Toyoda, J. (1997), Color-opponent bipolar cells in the carp retina. *Jpn. J. Physiol.*, Vol. 47, Suppl. 2, S158.
- [167] 新保清, 豊田順一 (1997), 色対立型小型双極細胞. 視覚科学フォーラム 第一回研究会予稿集.
- [168] Shimoda, Y., Hidaka, S., Maehara, M., Lu, Y. and Hashimoto, Y. (1992), Hyperpolarizing interplexiform cell of the dace retina identified physiologically and morphologically. *Visual Neurosci.*, Vol. 8, pp. 193-199.
- [169] Skrzypek, J. (1984), Electrical coupling between horizontal cell bodies in the tiger salamander retina. *Vision Res.*, Vol. 24, No. 7, pp. 701-711.
- [170] Slaughter, M. and Miller, R. F. (1981), 2-amino-4-phosphonobutyric acid: a new pharmacological tool for retinal research. *Science*, Vol. 211, pp. 182-185.
- [171] Snyder, S. H. and Brecht, D. S. (1992), Biological roles of nitric oxide. *Scientific American*, pp. 28-35.
- [172] Srinivasan, M. V., Laughlin, S. B. and Dubs, A. (1982), Predictive coding: a fresh view of inhibition in the retina. *Proc. R. Soc. Lond. B*, Vol. 216, pp. 427-459.
- [173] Stell, W. K. and Hárosi, F. I. (1976), Cone structure and visual pigment content in the retina of goldfish. *Vision Res.*, Vol. 16, pp. 647-657.
- [174] Stell, W. K. and Lightfoot, D. O. (1975), Color-specific interconnections of cones and horizontal cells in the retina of the goldfish. *J. Comp. Neur.*, Vol. 159, pp. 473-502.
- [175] Tachibana, M. (1985), Permeability changes induced by L-glutamate in solitary retinal horizontal cells isolated from *Carassius auratus*. *J. Physiol.*, Vol. 358, pp. 153-167.
- [176] Tachibana, M. and Kaneko, A. (1988), Retinal bipolar receive negative feedback input from GABAergic amacrine cells. *Visual Neurosci.*, Vol. 1, pp. 297-305.
- [177] Tachibana, M. and Okada, T. (1991), Release of endogenous excitatory amino acids from ON-type bipolar cells isolated from the goldfish retina. *J. Neurosci.*, Vol. 11, No. 7, pp. 2199-2208.
- [178] Takahashi, K.-I. and Copenhagen, D. R. (1992), APB suppresses synaptic input to retinal horizontal cells in fish: a direct action on horizontal cells modulated by intracellular pH. *J. Neurophysiol.*, Vol. 67, No. 6, pp. 1633-1642.
- [179] Takahashi, K.-I., Miyoshi, S.-I. and Kaneko, A. (1995), GABA-induced chloride current in catfish horizontal cells mediated by non-GABA_A receptor channels. *Jpn. J. Physiol.*, Vol. 45, pp. 437-456.
- [180] Takahashi, K.-I., Miyoshi, S.-I., Kaneko, A. and Copenhagen, D. R. (1995), Actions of nipepicotic acid and SKF89976A on GABA transporter in cone-driven horizontal cells dissociated from the catfish retina. *Jpn. J. Physiol.*, Vol. 45, pp. 457-473.

- [181] Tauchi, M., Yang, X.-L. and Kaneko, A. (1984), Depolarizing responses of L-type external horizontal cells in the goldfish retina under intense chromatic background. *Vision Res.*, Vol. 24, No. 8, pp. 867-870.
- [182] Teranishi, T. (1983), Lateral spread of light-induced response at the cell body and axon terminal levels of external horizontal cells in the carp retina. *Jpn. J. Physiol.*, Vol. 33, pp. 417-428.
- [183] Teranishi, T. and Negishi, K. (1994), Double-staining of horizontal and amacrine cells by intracellular injection with lucifer yellow and biocytin in carp retina. *Neurosci.*, Vol. 59, No. 1, pp. 217-226.
- [184] Teranishi, T., Negishi, K. and Kato, S. (1983), Dopamine modulates S-potential amplitude and dye-coupling between external horizontal cells in carp retina. *Nature*, Vol. 301, pp. 243-246.
- [185] Teranishi, T., Negishi, K. and Kato, S. (1987), Functional and morphological correlates of amacrine cells in carp retina. *Neurosci.*, Vol. 20, No. 3, pp. 935-950.
- [186] Thoreson, W. B. and Burkhardt, D. A. (1990), Effects of synaptic blocking agents on the depolarizing response of turtle cones evoked by surround illumination. *Visual Neurosci.*, Vol. 5, pp. 571-583.
- [187] 戸田昇 (編) (1995), NO: 生命現象を修飾する細胞間メッセンジャー, 最新医学からのアプローチ, 第12巻. メジカルビュー社.
- [188] Tomita, T. (1965), Electrophysiological study of the mechanisms subserving color coding in the fish retina. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, Vol. 30, pp. 559-566.
- [189] Tomita, T., Kaneko, A., Murakami, M. and Pautler, E. L. (1967), Spectral response curves of single cones in the carp. *Vision Res.*, Vol. 7, pp. 519-531.
- [190] Tsukamoto, Y., Smith, R. G. and Sterling, P. (1990), "Collective coding" of correlated cone signals in the retinal ganglion cell. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 87, No. 5, pp. 1860-1864.
- [191] Tsukamoto, Y., Yamada, M. and Kaneko, A. (1987), Morphological and physiological studies of red-driven horizontal cells with special reference to the question of whether they have axons and axon terminals. *J. Comp. Neurol.*, Vol. 255, pp. 305-316.
- [192] Tsuyama, Y., Nöll, G. N. and Schmidt, K.-F. (1993), L-arginine and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate alter dark voltage and accelerate light response recovery in isolated retinal rods of the frog (*Rana temporaria*). *Neurosci. Lett.*, Vol. 149, pp. 95-98.
- [193] Uchiyama, H. (1989), Centrifugal pathways to the retina: influence of the optic tectum. *Visual Neurosci.*, Vol. 3, No. 3, pp. 183-206.
- [194] Uchiyama, H., Yamamoto, N. and Ito, H. (1996), Tectal neurons that participate in centrifugal control of the quail retina: a morphological study by means of retrograde labeling with biocytin. *Visual Neurosci.*, Vol. 13, No. 6, pp. 1119-1127.
- [195] 海野恭弘, 内田憲宏, 下平美文 (1992), 運動検出神経回路網のモデル. JNNS 第3回全国大会論文集, pp. 179-180.
- [196] Usui, S., Mitarai, G. and Sakakibara, M. (1983), Discrete nonlinear reduction model for horizontal cell response in the carp retina. *Vision Res.*, Vol. 23, No. 4, pp. 413-420.
- [197] Hateren, van J. H. (1992), Real and optimal neural images in early vision. *Nature*, Vol. 360, pp. 68-70.
- [198] Verweij, J., Kamermans, M., Negishi, K. and Spekrijse, H. (1998), GABA sensitivity of spectrally classified horizontal cells in goldfish retina. *Visual Neurosci.*, Vol. 15, pp. 77-86.

- [199] Verweij, J., Kamermans, M., Aker, van den E. C. and Spekrijse, H. (1996), Modulation of horizontal cell receptive fields in the light adapted goldfish retina. *Vision Res.*, Vol. 36, No. 24, pp. 3913-3923.
- [200] Villani, L. and Guarnieri, T. (1996), Localization of nitric oxide synthase in the goldfish retina. *Brain Res.*, Vol. 743, pp. 353-356.
- [201] Vollrath, L. and Spiwox-Becker, I. (1996), Plasticity of retinal ribbon synapses. *Microscopy Research and Technique*, Vol. 35, pp. 472-487.
- [202] Wagner, H. G., E. F. MacNichol, J. and Wolbarsht, M. L. (1960), The response properties of single ganglion cells in the goldfish retina. *J. General Physiol.*, Vol. 43, pp. 43-62.
- [203] Wagner, H.-J. (1990), Retinal structure of fishes. In Douglas, R. H. and Djamgoz, M. B. A., editors, *The Visual System of Fish*, chapter 5. Chapman and Hall.
- [204] Wagner, H.-J. and Djamgoz, M. B. A. (1993), Spinules: a case for retinal synaptic plasticity. *TINS*, Vol. 16, No. 6, pp. 201-206.
- [205] Wässle, H., Yamashita, M., Greferath, U., Grunert, U. and Muller, F. (1991), The rod bipolar cell of the mammalian retina. *Visual Neurosci.*, Vol. 7, pp. 99-112.
- [206] Watson, A. B. and A. J. Ahumada, J. (1985), Model of human visual-motion sensing. *J. Opt. Soc. Am. A*, Vol. 2, No. 2, pp. 322-341.
- [207] Weiler, R. and Kewitz, B. (1993), The marker for nitric oxide synthase, NADPH-diaphorase, co-localizes with GABA in horizontal cells and cells of the inner retina in the carp. *Neurosci. Lett.*, Vol. 158, pp. 151-154.
- [208] Weiler, R., Schultz, K. and Janssen-Bienhold, U. (1996), Ca^{2+} -dependency of spinule plasticity at dendrites of retinal horizontal cells and its possible implication for the functional role of spinules. *Vision Res.*, Vol. 36, No. 24, pp. 3891-3900.
- [209] Weiler, R. and Wagner, H. J. (1984), Light-dependent change of cone-horizontal cell interactions in carp retina. *Brain Res.*, Vol. 298, No. 1, pp. 1-9.
- [210] Weiler, R., Kohler, K., Kirsch, M. and Wagner, H.-J. (1988), Glutamate and dopamine modulate synaptic plasticity in horizontal cell dendrites of fish retina. *Neurosci. Lett.*, Vol. 87, pp. 205-209.
- [211] Wellis, D. P. and Werblin, F. S. (1995), Dopamine modulates GABA_C receptors mediating inhibition of calcium entry and transmitter release from bipolar cell terminals in tiger salamander retina. *J. Neurosci.*, Vol. 15, No. 7, pp. 4748-4761.
- [212] Werblin, F. S. and Dowling, J. E. (1969), Organization of the retina of the mudpuppy, *Necturus maculosus*, II: Intracellular recording. *J. Neurophysiol.*, Vol. 32, pp. 339-355.
- [213] Williams, C. V., Nordquist, D. and McLoon, S. C. (1994), Correlation of nitric oxide synthase expression with changing patterns of axonal projections in the developing visual system. *J. Neurosci.*, Vol. 14, No. 3, pp. 1746-1755.
- [214] Witkovsky, P. and Dearry, A. (1991), Functional roles of dopamine in the vertebrate retina. *Progress in retinal research*, Vol. 11, pp. 247-292.
- [215] Witkovsky, P., Owen, W. G. and Woodworth, M. (1983), Gap junctions among the perikarya, dendrites and axon terminals of L-type horizontal cells of the turtle retina. *J. Comp. Neurol.*, Vol. 216, pp. 359-368.

- [216] Witkovsky, P., Stone, S. and Besharse, J. C. (1988), The effects of dopamine and related ligands on photoreceptor to horizontal cell transfer in the *Xenopus* retina. *Biomedical Res.*, Vol. 9, Suppl. 2, S93-107.
- [217] Wu, H. H., Williams, C. V. and McLoon, S. C. (1994), Involvement of nitric oxide in the elimination of a transient retinotectal projection in development. *Science*, Vol. 265, pp. 1593-1596.
- [218] Wu, S. M. (1991), Signal transmission and adaptation-induced modulation of photoreceptor synapses in the retina. *Progress in Retinal Research*, Vol. 10, pp. 27-44.
- [219] Wu, S. M. (1992), Feedback connections and operation of the outer plexiform layer of the retina. *Current Opinion in Neurobiology*, Vol. 2, pp. 462-468.
- [220] Wu, S. M. (1994), Synaptic transmission in the outer retina. *Annu. Rev. Physiol.*, Vol. 56, pp. 141-168.
- [221] Yagi, T. (1986), Interaction between the soma and the axon terminal of retinal horizontal cells in *Cyprinus carpio*. *J. Physiol.*, Vol. 375, pp. 121-135.
- [222] Yamada, M., Djamgoz, M. B. A., Low, J. C., Furukawa, T. and Yasui, S. (1991), Conductance-decreasing synaptic mechanisms mediating cone input to H1 horizontal cells in carp retina. *Neurosci. Res.*, Suppl. 15.
- [223] Yamada, M., Yasui, S., Furukawa, T., Petruv, R. and Djamgoz, M. B. A. (1995), Control of receptive field size in retinal horizontal cells: Direct modulation of gap junctional conductance and plasticity of photoreceptor synaptic input. *Progress in Cell Res.*, Vol. 4, pp. 269-272.
- [224] Yamashita, M. and Wässle, H. (1991), 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, pp. 2372-2382.
- [225] Yang, X.-L., Tauchi, M. and Kaneko, A. (1982), Quantitative analysis of photoreceptor inputs to external horizontal cells in the goldfish retina. *Jpn. J. Physiol.*, Vol. 32, pp. 399-420.
- [226] Yang, X.-L., Tauchi, M. and Kaneko, A. (1983), Convergence of signals from red-sensitive and green-sensitive cones onto L-type external horizontal cells of the goldfish retina. *Vision Res.*, Vol. 23, No. 4, pp. 371-380.
- [227] Yang, X.-L. and Wu, S. M. (1989), Effects of CNQX, APB, PDA, and kynurenate on horizontal cells of the tiger salamander retina. *Visual Neurosci.*, Vol. 3, pp. 207-212.
- [228] Yang, X.-L. and Wu, S. M. (1991), Feedforward lateral inhibition: input-output relation of the horizontal cell to bipolar cell synapse in the tiger salamander retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 88, pp. 3310-3313.
- [229] 安田稔, 福島邦彦, 長田昌次郎, 山口幸也 (1971), 視覚系の電子回路モデル. *NHK 技術研究*, Vol. 23, No. 5, pp. 368-377.
- [230] 安田稔, 山口幸也, 福島邦彦, 長田昌次郎 (1971), 視覚系受容野の電子回路モデル. *電子通信学会論文誌*, Vol. 54-C, No. 6, pp. 514-521.
- [231] Yasui, S. and Yamada, M. (1989), H1 horizontal cells of carp retina have different postsynaptic mechanisms to mediate short- versus long-wavelength visual signals. *Exp. Brain Res.*, Vol. 74, pp. 256-262.
- [232] Yasui, S., Yamada, M. and Djamgoz, M. B. A. (1990), Dopamine and 2-amino-4-phosphonobutyrate differentially modify spectral responses of H1 horizontal cells in carp retina. *Exp. Brain Res.*, Vol. 83, pp. 79-84.

- [233] Yau, K.-W. and Baylor, D. A. (1989), Cyclic GMP-activated conductance of retinal photoreceptor cells. *Ann. Rev. Neurosci.*, Vol. 12, pp. 289-327.
- [234] Zemel, E., Eyal, O., Lei, B. and Perlman, I. (1996), NADPH diaphorase activity in mammalian retinas is modulated by the state of visual adaptation. *Visual Neurosci.*, Vol. 13, pp. 863-871.

業績リスト

関連論文

1. T. Furukawa, M. Yamada, R. Petruv, M. B. A. Djamgoz, S. Yasui (1997) "Nitric oxide, 2-amino-4-phosphonobutyric acid and light/dark adaptation modulate short-wavelength-sensitive synaptic transmission to retinal horizontal cells", *Neuroscience Research*, Vol.27, pp.65-74.
2. 古川 徹生, 安井 湘三 (1997) 「視覚画像中の運動検出学習により発現する線形時空間フィルタの機能と構造」, 電子情報通信学会論文誌, D-II, Vol.J80-D-II, No.10, pp.2671-2683.
3. M. B. A. Djamgoz, R. Petruv, T. Furukawa, S. Yasui, M. Yamada (1998) "Modulation of chromatic difference in receptive field size of H1 horizontal cells in carp retina: dopamine- and APB-sensitive mechanisms", *Neuroscience Research*, Vol.30, pp.13-24.

参考論文

1. M. Yamada, S. Yasui, T. Furukawa, R. Petruv, M. B. A. Djamgoz (1995) "Control of receptive field size in retinal horizontal cells: Direct modulation of gap junctional conductance and plasticity of photoreceptor synaptic input", *Progress in Cell Research*, Vol.4, pp.269-272.
2. M. Yamada, M. B. A. Djamgoz, J. C. Low, T. Furukawa, S. Yasui (1991) "Conductance-decreasing synaptic mechanisms mediating cone input to H1 horizontal cells in carp retina", *Neuroscience Research*, Suppl.15, S51-S65.

解説記事等

1. 古川 徹生 (1998) 「不可思議な気体性伝達物質 NO: その現状と展望—視覚系における機能を中心にして—」, 日本神経回路学会誌, Vol.5, No.1, pp.10-17.

国際会議 (主要なもののみ)

1. S. Yasui, T. Furukawa, M. Yamada, T. Saito (1995) "Plasticity of center-surround opponent receptive fields in real and artificial neural systems of vision", *Advances in Neural Information Processing Systems*, Vol.8, pp.159-165.
2. T. Furukawa, R. Petruv, S. Yasui, M. B. A. Djamgoz (1994) "Nitric oxide induces chromatic difference in postsynaptic mechanisms of H1 horizontal cells from cones in carp retina", *The Second Joint Meeting of the Physiological Societies of Japan and U.K. and Eire*, p.24.
3. M. B. A. Djamgoz, R. Petruv, T. Furukawa, S. Yasui, M. Yamada (1994) "Spatio-chromatic signalling by the H1 horizontal cell network in the cyprinid fish (carp) retina", *The second Joint Meeting of the Physiological Societies of Japan and U.K. and Eire*, p.24.
4. M. Yamada, S. P. Fraser, K. Katano, T. Furukawa, M. B. A. Djamgoz, S. Yasui (1994) "Nitric oxide mimics the effect of light-adaptation in sharpening spectral sensitivity curve of H1 horizontal cells in carp retina", *The Second Joint Meeting of the Physiological Societies of Japan and U.K. and Eire*, p.25.
5. T. Furukawa, M. Yamada, M. B. A. Djamgoz, S. Yasui (1993) "A new synaptic mechanism which controls the receptive field size of visual second order neurons", *Proceeding of International Joint Conference on Neural Networks, IJCNN '93 Nagoya*, Vol.2, pp.1104-1107.

6. T. Furukawa, K. Furuta, S. Yasui (1993) "BP learning of visual motion detection, and analysis of the internal NN structure that emerges", Proceedings of International Joint Conference on Neural Networks, IJCNN '93 Nagoya, Vol.2, pp.1255-1258.
7. T. Furukawa, M. Yamada, T. Saito, S. Yasui (1992) "Analogous adaptive functions that exist in vertebrate, invertebrate and artificial neural systems for vision", Proceedings of International Symposium on Neural Information Processing (ISKIT '92) pp.142-145.
8. T. Furukawa, S. Yasui, M. Yamada, T. Saito (1992) "S/N-dependent modulation of centre-surround opponent receptive fields: similarities in real and artificial neural networks", Journal of Physiology, Vol.446, p.376. (Proceedings of Physiological Society Joint Meeting with Physiological Society of Japan and Physiological Society of Korea, Cambridge, U.K., p.442, 1991).
9. T. Furukawa, Y. Syozo (1990) "Development of center-surround opponent receptive fields in a neural network model through backpropagation training", Proceedings of International Conference on Fuzzy Logic & Neural Networks, Vol.1, pp.473-479.

謝辞

本文の執筆にあたりお以下の方々にお世話になりました。この場を借りてお礼を申し上げます。

九州工業大学情報工学部制御システム工学科の安井湘三教授には本研究全体を通して数多くの助言・指導を賜りました。また公私にわたって相談に乗っていただきました。本論文の完成をもっとも喜んで下さるとともに、執筆の遅れに心を痛められたことと思います。安井教授に対しては本当に感謝の念が耐えません。心よりお礼を申し上げるとともに、今後自らの未熟さについて一層精進していきたいと思えます。

電子技術総合研究所の山田雅弘氏には共同研究メンバーとして多くの実験を共に致しました。また数々の討論・助言を頂くとともに、実験の技術的な指導を頂きました。大変感謝しております。

イギリス Imperial College の Prof. Djamgoz には共同研究のメンバーとして多くの討論・助言を頂くとともに、実験上の多くの有益なご指導を頂きました。またイギリス滞在中は公私両面にわたって面倒を見ていただきました。この場を借りてお礼申し上げます。同じく Imperial College の Dr. Petruv とは多くの実験を共にし、また数々の討論を致しました。さらにデータ整理については多大な協力を頂きました。たいへん感謝しております。また Dr. Fraser をはじめ、Imperial College のスタッフ・学生の皆様には大変お世話になりました。

同じ研究室のメンバーとして、一緒に研究・実験に取り組んできた九州工業大学・安井研究室の学生諸君、OB にもこの場を借りてお礼を述べたく思います。特に内山孝弘君、今石晃君、中満竹千代君には、こうしてひとつの形になった喜びを伝えたく思います。

九州工業大学情報工学部制御システム工学科の八木哲也助教授には数々のアドバイスを頂くとともに、常日ごろから多くの討論に乗っていただきました。この場を借りて厚くお礼を申し上げます。また八木研究室の林田祐樹君には多くの有用な情報を提供して頂きました。このほか九州工業大学の神経科学グループのメンバーの方々、制御システム工学科のスタッフの皆様にも感謝致します。

本論文の執筆にあたっては大阪大学基礎工学部生物工学科の佐藤俊輔教授より、主査として、またかつての指導教官として多くのアドバイスと励ましを頂きました。佐藤教授は安井教授に並んで本論文の完成をもっとも喜んで下さっていることと思います。深くお礼を申し上げるとともに、これまでの長い期間にわたりご心配をおかけしたことをお詫び申し上げます。同じく大阪大学基礎工学部生物工学科の藤田一郎教授、福島邦彦教授におきましては、副査として有用なご意見・討論を頂きました。お礼を申し上げます。

最後に、本論文の執筆を二人の子どもたちとともに陰から支えてくれた妻・寿代に感謝します。