

シナプス構築の形成機構

—小脳プルキンエ細胞を中心に—

市川量一, 岩村広太, 菊池真, 新見隆彦, 二宮孝文, 辰巳治之

札幌医科大学医学部解剖学第一講座 (主任 辰巳治之 教授)

Mechanism underlying proper synaptic organization on cerebellar Purkinje cell

Ryoichi ICHIKAWA, Kouta IWAMURA, Shin KIKUCHI, Takahiko SHIMMI,
Takafumi NINOMIYA, Haruyuki TATSUMI

Department of Anatomy, Sapporo Medical University School of Medicine
(Chief: Prof. Haruyuki Tatsumi)

ABSTRACT

Proper synaptic organization contributes crucial role in generating proper neuronal output. This article reviews a series of experiments aimed at investigating mechanism of formation of proper synaptic organization in cerebellar Purkinje cell (PC). Maturated PC receives two types of excitatory inputs, parallel fibers (PF) and climbing fiber, in segregated dendritic domain. During developing period, PF synapses induce elongation of PC dendrites and move to the elongated portion, and CF translocates along PC dendrite after PF synapses. PF and CF compete for spine to form synaptic contact and newly formed synapse is likely to be stabilized if it is to be proper. Furthermore, occupation of spines by PF synapses prevents from multiply CF innervation on PC dendrites. At adult, CF acts to maintain completed synaptic organization. In addition, the molecular that involve in the stabilization of excitatory synapses on PC have been reported.

(Accepted December 22, 2008)

Key words: Synapse, Dendrite, Purkinje cell, Climbing fiber, Parallel fiber

1 はじめに

中枢神経では、神経細胞が1つの素子を構成する神経回路網により情報処理が遂行され、メインルートの情報伝達は、化学シナプスにより一方向性になされる。具体的には、神経細胞の軸索終端に「シナプス前部」が、細胞体-樹状突起に「シナプス後部」が形成され、互いにシナプス結合する。「前部」より放出された神経伝達物質により「後部」に局在する受容体が作用を受け、後部内の膜電位が変化し神経細胞内に伝わる。細胞体ではそれらの個々のシナプスより伝えられた膜電位の変化および spike backpropagation など他の因子からの作用が統合され最終的な出力が産出する^{1,2)}。その過程の中で、個々のシナプスの膜電位変化が互いに時間的、空間的に協調、あるいは反発しあうことは、一連の情報の統合活動に大きな影響を及ぼす。それゆえ、神経細胞が適切な(のぞましい)情報処理を遂行するためには、適切な様式をもつシナプス構築が形成されること、具体的には細胞体-樹状突起上の適切な位置に適切な入力線

維がシナプス結合することが必要となる³⁾。筆者は、中枢神経の中で比較的シナプス構築の解析が容易である小脳プルキンエ細胞(PC)を対象として選び、シナプス構築の成熟段階ごとの解析、あるいは人為的な変異を加えた環境下での解析をすることにより、適切なシナプス構築の形成機構の要因を明らかにしてきた。ここで、それらについて紹介する。

2 PCのシナプス構築

将来的に薄切とセットになった走査型電子顕微鏡あるいは2光子レーザー顕微鏡などを用いた手法が主流となるかもしれないが、現時点においてシナプス構築像を確実に得られる方法は透過電子顕微鏡による連続超薄切片観察である。障害となる点は、1) 入力線維の区分、2) 全樹状突起を収容するに足る容積分の超薄切片作成、の2点である。PCの場合では、入力線維が限定されること、樹状突起(PCD)の広がりか2次的である、などの点から比較的緩和されるために、筆者はシナプス構築の解析対称としてPCを選んだ。

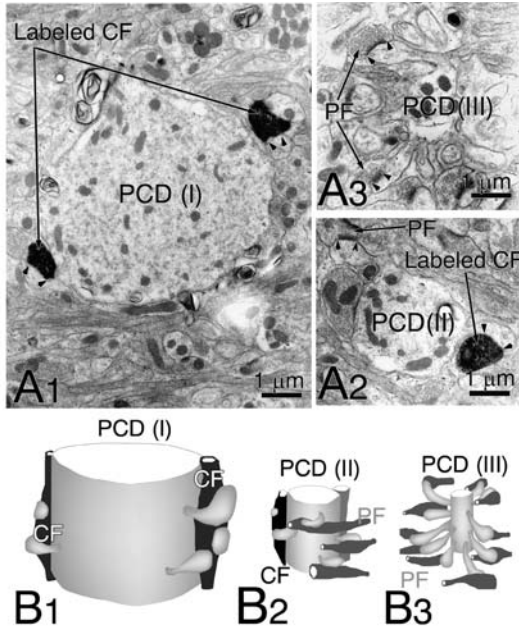


図1 PC樹状突起(PCD)の水平断の電子顕微鏡および模式的シナプス構築像
 A1はPCDの近位(I)型領域, A2は中間(II)型領域, A3は遠位(III)型領域のそれぞれの水平面電子顕微鏡像. CFをBDA (biotinyl dextran amine)によりあらかじめ標識しDABにより濃染を施した. 矢じり間は興奮性シナプスのPSD(シナプス後部)を示す. B1はA1の, B2はA2の, B3はA3のそれぞれ周囲のシナプス構築を模式的に表した図である.

正常の成体のPCを中心とした小脳の組織構築について簡単に説明する. 小脳皮質は表層より分子層, PC層, 顆粒細胞層(GC層)からなる. 分子層には浅層に星状細胞, 深層に籠細胞の細胞体, およびPCD, 平行線維(PF), 登上線維(CF)が分布している. PC層にはPCの細胞体が一つになって配列している. GC層とPCの移行部にはゴルジ細胞が分布しており, GC層にはPFを発するGCの細胞体が分布しており, それに苔状線維がシナプスを形成する. PCは興奮性入力として, CFとPFからの入力を受ける^{4,5}. CF(図2C:赤色)は一本の幹(図2C:矢印)より発した分枝からなり, それらはPCD(図2C:緑色)に伴走するように細胞体から遠位方向に走行し, PCDの途中で終わる. 電子顕微鏡観察から, 一つのPCに形成されたCFシナプスの前線維は全て一本のCF幹由来の枝であることが明らかにした(図2G)^{6,7}. そのことは電気生理学的実験データとも一致した. なお, 一つのPCには数百~数千個のCFシナプスが形成される. 一方, PFシナプスは数万~数十万個形成され, PF一本はPC一個とシナプス結合する. PFとCFシナプスは全てスパイン上に形成されシャフトに形成されない, 一方, 全てのスパイン上にはシナプスが形成され, シナプスの形成されないスパインである自由スパイン(FS)はみられない. また, PCは抑制性入力として, 籠細胞あるいは星状細胞由来のGABAergic線維を受けている. それらの

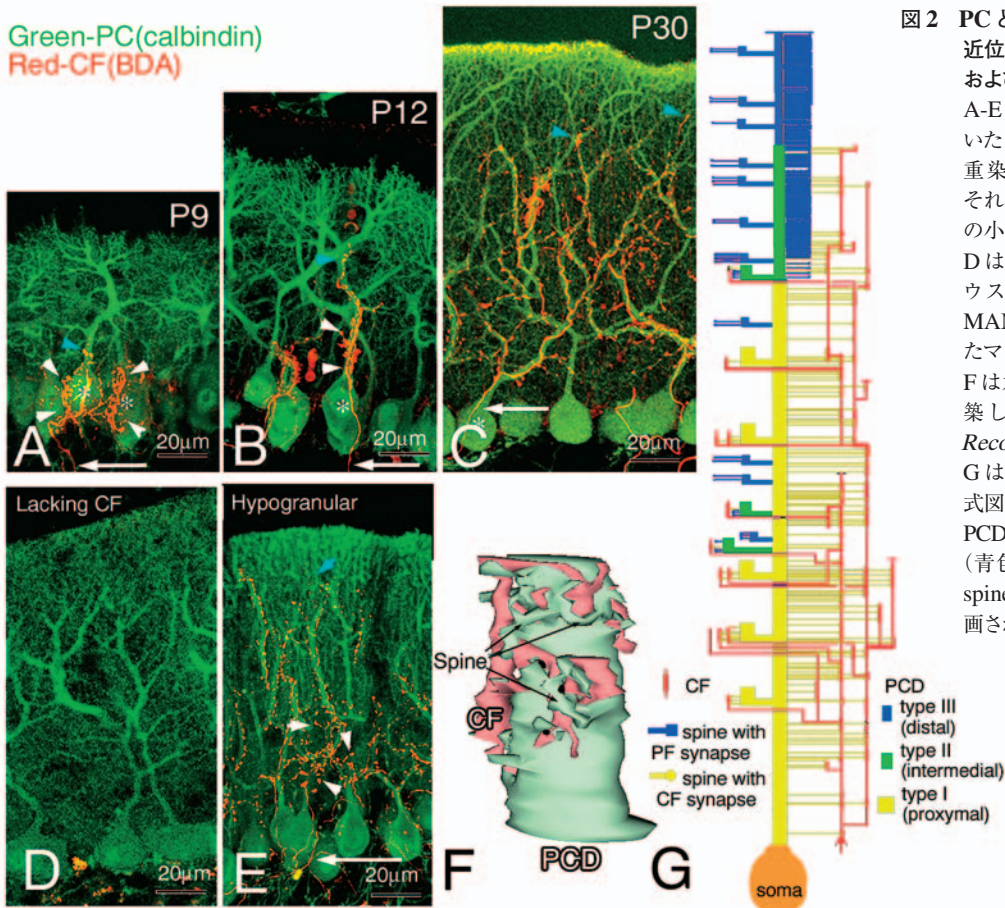


図2 PCとCFの2重染色像(A-E), 近位型領域の3次元再構築像(F), およびシナプス構築の模式図(G)
 A-Eは共焦点レーザー顕微鏡を用いたPC(緑色)とCF(赤色)の2重染色像. A-Cは正常マウスで, それぞれP9, P12, P30のIV-V葉の小脳分子層の矢状断面像である. DはP7にてCFを電気焼却したマウスの成体におけるPC像, EはMAM投与によりPF数を減少させたマウスの成体におけるPC-CF像. Fは水平断連続超薄切片から再構築したPCD近位部の3次元像. Reconstruct^{®23}を用いて作成した. GはPC全体のシナプス構築の模式図. タイプごとに塗り分けられたPCD, PF synapseを構成するspine(青色)とCF synapseを構成するspine(黄色)およびCF(赤)が描画されている.

抑制性線維は、スパインを介さずに細胞体あるいはPCDのシャフトに対称型を呈するシナプス結合する^{8,9)}。

電子顕微鏡を用いてPCのシナプス構築について観察すると、興奮性シナプスの入力線維の種類によってPCを4領域、①細胞体、②PCD近位型 (type I) 領域、③PCD中間型 (type II) 領域、④PCD遠位型 (type III) 領域に区分できる。以下にこれらの各領域のシナプス構築について記述する^{6,7)}。

2・1 細胞体 (図2G-橙色)

細胞体では、抑制性シナプスだけが細胞体表面にみられる。それらの大部分は籠細胞からの入力であり、一部がPCの反回側枝からなる。成熟期にはスパインが発現しCFシナプスを形成するが、成体では消失しスパインはみられない。ただし、稀にCFからの痕跡的なシナプスを形成するスパインを見かけることがある。

2・2 PCD Type I領域 (図1A1, 1B1, 図2G-黄色)

この領域の高さはPCDの全高の約半分を占め、分布する興奮性シナプス (非対称性シナプス) はCFシナプスのみからなる。その領域は細胞体から連なり、1~数回ほど等分岐した後にType IIへと移行するが、途中で側枝 (Type IIあるいはType III) を発する。また、CFシナプスは全て

スパイン上 (図2G-黄色) に形成される。抑制性シナプスは星状細胞あるいは籠細胞由来である。

2・3 PCD Type II領域 (図1A2, 1B2, 図2G-緑)

この領域は全高の約1/4を占め、CFまたはPFの両者がシナプス入力を形成する領域である。type I領域より連なり、本幹は1~数回ほど等分岐した後にtype IIIへと移行するが、途中で側枝 (type III) を分枝することもある。CF, PFシナプスは全てスパイン上 (図2G-黄, 青) に形成されるが、1つのスパイン上に両者が混在することはない。なお、PCDの高さあたりのスパイン密度は、type Iに比べ約3倍増加している。その内約1/3がCFシナプス、約2/3がPFシナプスである。すなわち、Type IIのCFシナプスの密度はtype Iとほぼ一致し、PFシナプスが新たに加わることにより、全スパイン密度が増加したことを示している。また、星状細胞より抑制性入力を受ける。

2・4 PCD Type III領域 (図1A3, 1B3, 図2G-青)

この領域の高さも全高の約1/4を占め、興奮性シナプスが全てPFシナプスである。Type IIより移行する以外に、type I領域より発する側枝にもみられる。PFシナプスは全てスパイン上 (図2G-青) にある。PFシナプスの密度はtype IIと比べ増加し、加えて、PCDの径が細くなるため、

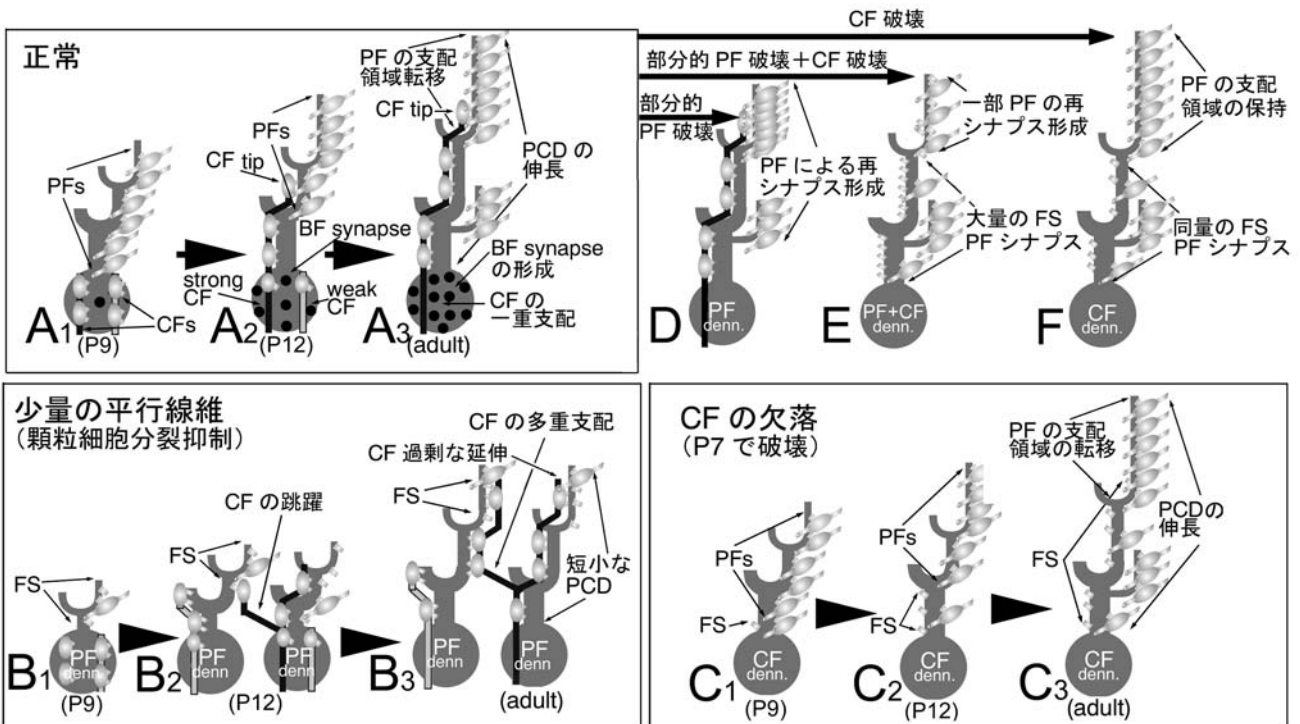


図3 PCのシナプス構築形成過程についての模式図

A1-A3は正常のPCの細胞体と樹状突起 (PCD) 上のシナプス構築形成過程を模式的に示している。B1-B3はP0よりPF (PF) が減少した環境下での、C1-C3はP7よりCF (CF) がP7より欠落した環境下でのシナプス構築形成過程を模式的に示している。D-Fは、成体の正常マウスに障害を加えた際のシナプス構築の変化を示した模式図である。DはPFに切開を加えることで部分的に破壊した場合、FはCFを焼却することで完全に破壊した場合、Eは両者を組み合わせた場合である。FSはシナプスを形成しないスパインを示す。

spiny branchlet と呼ばれる。また, type II 同様に星状細胞より抑制性を受ける。

3 プルキンエ細胞シナプス構築の発生 (図 3A)

小脳は出生直後にも分子層の表層に外 GC 層がみられ, そこでは GC が細胞分裂を産生している。産生された GC は, 軟膜に平行な方向に 2 本の軸索 (PF) 伸ばしながら, 軟膜に対し鉛直である髄質方向に細胞移動しプルキンエ細胞層の深部にある (内) GC 層に至る, その結果 GC からのびる軸索は T 字型を呈する。GC 層には, 小脳外からの求心性線維である苔状線維が進入しており, 下降してきた GC とシナプスを形成する。PF が PCD 上に形成するシナプスが観察されるのはマウスで生後 7 日 (P7) 以降である。一方, CF は延髄下オリーブ核にある神経細胞の軸索であるが, 下小脳脚より小脳に進入し, 髄質より PC 層に向かう。胎性 19 日 (E19) には, PC の細胞体に興奮性シナプスを形成する¹⁰⁾。

E19 では複数の細胞から発した CFs が一つの PC の細胞体にシナプス入力するが, 成体では一つの細胞由来の CF のみが一つの PC の PCD に入力する (図 2G, 3A)^{6, 11, 12)}。胎生期より生後第一週までは CF は細胞体あるいは原始神経突起 (第一週以内に消失する) に複数の CF はシナプスを形成し, 経時的にシナプスの数, 大きさがともに増加, 増大する。電気生理学的な実験より得られたデータ¹²⁾とともに考察すると, 第一週後半より各 CF に innervation の強度に相違が生じ, 第二週の始めにはシナプスや EPSC などの点から優性な CF と劣勢な CF の間に明瞭な差が形成される (図 3A1 - 2)。そして, 細胞体における CF シナプスがある水準まで成熟すると, CF の translocation が始まる。これは, CF シナプスの形成部位が, 細胞体から PCD の遠位方向へと移動し始めることである (図 2A - C, 白矢がしら)。第二週では, PCD も成長とともに長さが伸びるが, その速度以上に CF は伸長し樹状突起の遠位部の基部にまで達しシナプス形成をおこなう (図 2A - C, 3A)。同時にそれまでに形成された細胞体シナプスの消褪も進行し, 第二週の終わり頃には完全に消失する (図 3A3)。その過程において劣勢 CF は経時的にシナプス数が減少し, 最終的に全シナプスが喪失し, 一重支配が完成する (図 3A3)。なお, 細胞体では, 籠細胞の軸索が CF と交代するように抑制性シナプスを増加させ, 第二週の終わりには抑制性シナプス形成がほぼ終了する^{8, 9)} (図 3A3 - ●)。

一方, PF は P7 に PC の細胞体-樹状突起の移行部に出現するが⁴⁾, CF の translocation とともに, その支配領域は樹状突起の遠位部に移行する。また, 成長段階で近位型樹状突起から細い側枝様の突起が突出するようになり, そこには PF シナプスが形成される (図 3A3)。そのことは, PF シナプスもまた, translocation あるいは reinnervate している可能性を示している。

4 入力線維に障害がある環境下でのシナプス構築の発生過程

PC には, PF と CF の両者の入力を受けるが, シナプス構築を形成する際に互いにどのような作用をするか不明である。そこで, それぞれに障害を加えた環境下でのシナプス構築形成過程を調べた。

4・1 PF に障害を加えた場合 (図 3B)

GC は生後細胞分裂により増加することが知られている。そのため, 生後 X 線を照射もしくは MAM (methylaloxymethanol acetate) を投与することでその産生を抑制し, GC より発する PF の数を減少することができる^{4, 13)}。しかし, 大量に投与すると PCD が発育不全となる。そこで, PC 層が単層を保つことの出来る MAX 量をもとめ, その量の MAM を生後 0 日に投与することにより観察した。P7, P9 の PCD は PCD の分枝数も長さも対照と比べると少なく短く, CF が到達しない部位はほとんど僅かであり, そこには少数の FS と PF シナプスが混在している。P12 になると, 分枝は増えるものの枝の長さは短いままである。CF は PCD の先端近くまで伸長しており, また, 周囲に側枝を伸ばし, 隣接する別の PCD とともにシナプスを形成している。PCD の遠位部では FS と PF シナプスが混在している。P15 あるいは成体においても, PCD の長さは対照に比べ有意に短く, CF は PCD の終端近傍にまで到達し, そこでは FS, PF シナプスと混在して CF シナプスを形成している。このことは, CF が PF の支配領域に侵入するものの不安定なシナプスしか形成できないことを示唆している。また, P12 と同様に, PCD に伴走する CF は隣接する別の PCD に側枝を伸ばしシナプスを形成している。また, 細胞体の CF シナプスは消失していることから, 成体で報告された hypogranular マウスの CF による多重支配¹⁴⁾は隣接する PCD に CF が跳躍しシナプスを形成することにより形成される, 可能性が高い。

4・2 CF に障害を加えた場合 (図 3C)

CF は P7 までは細胞体に留まっているため, P7 にて下オリーブ核を焼却し PCD に CF が伸展しないようにして, シナプス構築の発達段階を調べた。CF を破壊した成体での PCD の分枝, 長さは, 対照と差が見られない¹⁴⁾。発達過程を追跡すると, PF シナプスが密に分布する領域の相対的位置は対照と各齢でほぼ一致し, 成長と共に PCD の遠位部に移行する傾向を示した。このことは, CF の作用とは関係なく, PF シナプスについても translocation あるいは reinnervation が起きている蓋然性が高いことを示している。CF を欠落させた PC における対照で CF が支配する領域に対応する部位には, CF シナプスとほぼ一致した密度の FS と少数の PF シナプスの混在がみられる。そのことは, PF が CF の支配領域に侵入するものの安定化されないことを示唆している。

5 成体で、興奮性線維に障害を加えた場合

5・1 PF に障害を加えた場合 (図 3D)

平行線維は、PCD の分布する面と垂直にすなわち小脳の分子層の表層を内外側方向に走行しているため、矢状方向に表面から切開を加えることで平行線維を部分的に破壊することができる¹⁵⁾。破壊後1日では、FS が近位部も含む PCD 全体に発現するが、7日後には FS は 99% 消失し、PCD の遠位部では PF シナプスが再形成される。また、PCD の遠位部の長さは短くなるが、反比例するように PF シナプス密度が増加する。CF が PF の領域である遠位部に侵入したか否か、を確認するため、CF に特異的に発現する VGLT2 (小胞性グルタミン酸トランスポーター2型) を用いて標識して調べたが、CF が PF の支配領域を侵して伸長した形跡はみられなかった。30日後には、PF が分子層内に満ち、切開前とほぼ同様の超微形態像を示した。

5・2 CF に障害を加えた場合 (図 3E)

マウスと異なりラットでは 3-acetyl-pyridine (3-AP) を投与すると下オリブ核が破壊され CF が消失する。そのため、大部分の CF 破壊実験はラットを用いられてきた¹⁶⁻¹⁸⁾。今回の実験では一連の実験系あるいは遺伝子欠損マウスからのデータと比較検討するためにマウスを使用した。CF をマウス成体で電気焼却により破壊すると、CF を P7 で破壊して成熟した成体と同じ様式のシナプス構築が観察される。つまり、遠位の PF シナプスで占められる領域に変化がなく、近位部では CF シナプスとほぼ一致する密度の FS と PF シナプスが分布する。しかし、ラットの実験系からは、CF の喪失した部位には CF シナプスよりも有意に高い数の FS と PF シナプスが形成されると報告されている。それについては、マウス、ラットの種差というよりは、CF 除去の方法すなわち薬剤投与と部分焼却の影響の違いによる可能性が高い。また、TTX など活動電位発生に障害を与えると類似の結果が得られるとの報告もある¹⁹⁾。これらのことから、CF の領域の保持は電気活動に依存することを示している。また、CF 領域が欠落した場合には、基本的に PF シナプスの構築は保たれ、しかも PF シナプスの伝達に減少がみられなければ欠落領域のスパイン密度は一定に保たれる。しかし、PF シナプスの伝達が減少すると崩壊した領域に多数の FS と PF シナプスが出現することになる。いずれにせよ、その領域に PF は侵入しシナプスを形成するものの安定化しない。

5・3 CF と PF の両者に障害を加えた場合 (図 3F)

CF 除去と PF 部分除去を同時に行った系である。それを、個々に行った場合と比較すると、1) 近位部に多数の FS と PF シナプスの出現、2) 遠位部の PF シナプスの再形成が 30 日を経ても未完である、ことがおもな相違点であった。前者については、PF を除去した直後の FS の出現を考慮す

ると、PC に対する興奮性シナプスの減少がもたらしたことであろうと推察される。後者については、CF が PF のシナプス再形成において促進する役割を担っていることを示していることを示唆し、言い換えると完成されたシナプス構築を維持するように作用することを示している。CF を部分破壊したところ、CF を失った PCD に向け生き残った CF が側枝を jump させて再 innervate するとの報告もある^{16, 17)}。今回は、PF は一部生存し CF は完全に消滅した状態での実験系であったが、CF の側枝の再 innervation について調べた場合 PF の存在がどのように作用するのかが興味のあるところであり、今後の課題となる。

6 おわりに

プルキンエ細胞について、適切なシナプス構築するための形成機序を求めめるための一連の実験系を紹介してきた。発生期についてまとめると、1) 発生期では PF が PCD の成長を促す役目を果たし同時に延伸した PCD とともに PF の支配領域も遠位に移動し、CF がその後を追いかけるように PCD 上を伸長しシナプスを形成する。2) PF と CF の間にシナプス形成に関して競合がみられ、そこで形成されたシナプスが適切であると安定化作用を受ける。ただし、一方の線維に障害が生じると残りの線維が支配領域を越えて侵入するが、形成されたシナプスは安定化しない。3) 幼若期の細胞体における CF の多重支配は消失するが、PCD における CF の一重支配形成には PF シナプスがスパインを占有し FS が存在しないことが必要となる。一方、成体期においては、PF は CF の欠除した領域に侵入するものの、CF は PF の領域に侵入せず逆にシナプス構築を維持するよう作用することが明らかとなった。これは発達段階で CF の一重化およびシナプスの安定化作用を受けたためであると考えられる。なお、PF の CF の再 innervation にどのような役割を果たすのかが今後の課題である。本稿では省略したが、プルキンエ細胞でシナプスを安定化させる分子が発見されており、PF シナプスに対しては、PC に発現するグルタミン酸受容体 $\delta 2$ サブユニット⁴⁾、PF に発現する CB1n1 分子、CF シナプスに対してはカルシウムチャンネル P/Q 型 $1A\alpha$ サブユニット²⁰⁾、などが報告されている。他に、CF の一重支配を導く分子としては、mGluR1、 $G\alpha q$ 、PLC $\beta 4$ 、PKC γ 、^{21), 22)} なども報告されている。

今後、シナプス構築の形成機構については分子レベルからの探索が必要となるため、筆者は、分子生物学あるいは分子組織学の分野の研究者と連携をより一層深めようと考えている。また、形成機構とは別に、シナプス構築がおこなう情報処理の作用機序を解明すべく、シナプス構築の解析により得られた形態学的な情報を電気生理学的データと照らし合わせながら神経数理学的な面からも検討するために、その方面の研究者との共同研究も模索しつつある。一方、筆者のシナプス構築を解析するための技術が本プロジェクトを実行する中でより向上したため、神経系の最高次中枢で

ある皮質-視床系の情報処理の機序解明を目指して視床中継核神経細胞を対象としてシナプス構築解析を試みるプロジェクトをも企画している。

参考文献

1. Shepherd G. M. ed. The synaptic organization of the brain 5th ed. New York: Oxford Univ. Press; 2004.
2. 甘利俊一監修, 古市貞一編. 分子・細胞・シナプスからみる脳. 東京: 東京大学出版会; 2008. (シリーズ脳科学 5)
3. Spruston N, Stuart G, Hausser M. Dendritic integration. In: Stuart G, Spruston N, Hausser M, editors. Dendrites 2nd ed. New York: Oxford Univ. Press; 2008. p. 351-400.
4. Altman J, Bayer SA. Development of the cerebellar system: in relation to its evolution, structure, and functions. Boca Raton: CRC Press; 1997.
5. Palay S, Chan-Palay V. Cerebellar cortex. Cytology and organization. New York: Springer-Verlag; 1974.
6. Ichikawa R, Miyazaki T, Kano M, Hashikawa T, Tatsumi H, Sakimura K, Mishina M, Inoue Y, Watanabe M. Distal extension of climbing fiber territory and multiple innervation caused by aberrant wiring to adjacent spiny branchlets in cerebellar Purkinje cells lacking glutamate receptor delta 2. *J. Neurosci* 2002; 22: 8487-8503.
7. 市川量一, 二宮孝文, 辰巳治之, 渡辺雅彦. 総説: 小脳ブルキンエ細胞とシナプス構築. *顕微鏡* 2008; 43: 296-299.
8. Larramendi LMH. Analysis of synaptogenesis in the cerebellum of the mouse. In: Llinas R, editor. *Neurobiology of Cerebellar Evolution and Development*. Chicago: American Medical Association / Education and Research Foundation Institute of Biomedical Research; 1969. p. 803-843.
9. Sotelo C. Development of "Pincaux" formations and dendritic translocation of climbing fibers during the acquisition of the balance between glutamatergic and gamma-aminobutyric acid inputs in developing Purkinje cells. *J Comp Neurol* 2008; 506: 240-262.
8. Morara S, van der Want JJ, de Weerd H, Provini L, Rosina A. Ultrastructural analysis of climbing fiber-Purkinje cell synaptogenesis in the rat cerebellum. *Neuroscience* 2001; 108: 655-671.
9. Crepel F. Regression of functional synapses in the immature mammalian cerebellum. *Trends Neurosci* 1982; 5: 266-269.
10. Hashimoto K, Kano M. Functional differentiation of multiple climbing fiber inputs during synapse elimination in the developing cerebellum. *Neuron* 2003; 38: 785-796.
13. Mariani J, Benoit P, Hoang MD, Thomson MA, Delhaye-Bouchaud N. Extent of multiple innervation of cerebellar Purkinje cells by climbing fibers in adult X-irradiated rats. Comparison of different schedules of irradiation during the first postnatal week. *Dev Brain Res* 1990; 57: 63-70.
14. Sotelo C, Arsenio-Nunes ML. Development of Purkinje cells in absence of climbing fibers. *Brain Res* 1976; 111: 289-295.
15. Chen S, Hillman DE. Plasticity of the parallel fiber-Purkinje cell synapse by spine takeover and new synapse formation in the adult rat. *Brain Res* 1982; 240: 205-220.
16. Rossi F, Bravin M, Buffo A, Fronte M, Savio T, Strata P. Intrinsic properties and environmental factors in the regeneration of adult cerebellar axons. *Prog Brain Res* 1997; 114: 283-296.
17. Strata P, Rossi F. Plasticity of the olivocerebellar pathway. *Trends Neurosci* 1998; 21: 407-413.
18. Sotelo C, Hillman DE, Zamora AJ, Llinas R. Climbing fiber deafferentation: its action on Purkinje cell dendritic spines. *Brain Res* 1975; 98: 574-581.
19. Cesa R, Strata P. Axonal and synaptic remodeling in the mature cerebellar cortex. *Prog Brain Res* 2005; 148: 45-56.
20. Miyazaki T, Hashimoto K, Shin HS, Kano M, Watanabe M. P/Q-type Ca²⁺ channel alpha1A regulates synaptic competition on developing cerebellar Purkinje cells. *J Neurosci* 2004; 24: 1734-1743.
21. Hashimoto K, Ichikawa R, Takechi H, Inoue Y, Aiba A, Sakimura K, Mishina M, Hashikawa T, Konnerth A, Watanabe M, Kano M. Roles of glutamate receptor delta 2 subunit (GluRdelta 2) and metabotropic glutamate receptor subtype 1 (mGluR1) in climbing fiber synapse elimination during postnatal cerebellar development. *J Neurosci* 2001; 21: 9701-9712.
22. Hashimoto K, Kano M. Postnatal development and synapse elimination of climbing fiber to Purkinje cell projection in the cerebellum. *Neurosci Res* 2005; 53: 221-228.
23. Fiala JC. *Reconstruct*: a free editor for serial section microscopy. *J Microsc* 2005; 218: 52-61.

別刷請求先: 市川 量一

〒060-8556 札幌市中央区南1条西17丁目
札幌医科大学医学部解剖学第一講座
TEL: 011-611-2111 (内線 2632)
FAX: 011-640-3002