

グルタミン酸受容体 GluD2 と小脳シナプス回路の発達・維持・再生

Role of Glutamate Receptor GluD2 in Development, Maintenance, and Regeneration of Cerebellar Synaptic Circuits

渡 辺 雅 彦

Masahiko Watanabe

北海道大学大学院医学研究科解剖学講座

要 旨 小脳は、様々な知覚と運動機能の統合を行っているが、情報処理のための神経回路は基本的に同一である。我々は、小脳の回路形成・維持・再生におけるグルタミン酸受容体 GluD2 (GluR δ 2) の働きについて、遺伝子欠損マウスを用いて主に形態学的な研究を行ってきた。ここからわかってきたのは、GluD2 は、プルキンエ細胞と様々な神経線維の間の接着を強化するということである。さらに平行線維シナプスの接着強化は、代謝型のグルタミン酸受容体 mGluR1 を活性化することで、生後早期における細胞体からの余剰な登上線維シナプスを除去し、近位樹状突起からの平行線維シナプスを除去する。したがって、GluD2 により駆動される平行線維シナプスの構築とそれに伴って駆動される mGluR1 依存的なシナプス刈込みが、このニューロンの2つの回路特性を形作る。

キーワード：プルキンエ細胞，平行線維，登上線維，GluD2，mGluR1

神経研究の源流を迎れば、カハールによるゴルジ鍍銀法による解剖学的研究や、ホジキン、ハックスレーによるイカの巨大軸索を用いた電気生理学的研究に遡る。その後、電子顕微鏡や神経トレーサー標識法、免疫組織化学法などの形態解析技術が登場し、解剖学教室は数多くの大学院生や研究生を抱える活気のある時代を向かえた。私が学生だった1980年代は、そのような時代が通り過ぎるとともに、分子生物学という全く新しい切り口の学問領域が勃興してきた時代であった。分子生物学そして細胞生物学の発展は、予想を超える速度と深度で旧来からの生命科学領域を遺伝子・分子に立脚する学問体系へとシフトさせていった。そのような時代のうねり中で、これからどのように研究者として自立生きていくかを模索していた1990年前後に出会ったのがグルタミン酸受容体であり、現在に至るまで最も長く付き合ってきた分子がGluD2 (GluR δ 2) である。この解説では、小脳プルキンエ細胞 Purkinje cell の神経回路の構築と機能発現に深く関係するGluD2について、これまでの研究を振り返りたい。

1. プルキンエ細胞のシナプス回路

小脳には、入出力や神経機能に対応して、異なる解剖学および機能的な区分が存在する。しかし、情報処理のための細胞構築や小脳皮質の内部神経回路は同一で、小脳皮質は6種類のニューロンから構成される。中でも、小脳皮質の分子層と顆粒層の間に一列に配列するプルキンエ細胞は、小脳に

おける中心的な情報処理ニューロンであり、小脳による器用で精緻な運動の実現とその学習過程に関わっている。また、プルキンエ細胞に投射する登上線維 climbing fiber と苔状線維 mossy fiber という、2種類の由来も性格も異なるグルタミン酸作動性入力があり、小脳運動制御の基盤となるシナプス回路を構築している。

登上線維は延髄下オリブを唯一の起源とし、プルキンエ細胞の樹状突起近位部に直接投射する軸索である。その特徴は、1個のプルキンエ細胞を1本の登上線維が支配するという単一支配 mono-innervation にある。登上線維は、支配するプルキンエ細胞に対して数百個にも及ぶ興奮性シナプスを作るため、たった一本であってもその活動は全か無かの反応となってプルキンエ細胞の樹状突起を強く脱分極させ、ここに豊富に発現するP/Q型Ca²⁺チャネルを通して大量のCa²⁺が流入する。この登上線維とプルキンエ細胞との間の結合は、中枢神経系の中で最も強力な興奮性結合の1つである。

もう一つの投射である苔状線維は、脊髄、橋核、三叉神経核、前庭神経核、網様体など多様な領域から起源する軸索投射系であり、小脳の興奮性介在ニューロンである顆粒細胞との間に興奮性シナプスを作る。次に顆粒細胞は上行性軸索を伸ばし、やがてT字形に2分して平行線維 parallel fiber となる。平行線維は、数百のプルキンエ細胞の樹状突起遠位部を串刺しするように支配する。これをプルキンエ細胞の側からみると、1個のプルキンエ細胞は数万～数十万本の平行線維入力を受けるが、1本の平行線維はそのプルキンエ細胞に対してたった1～2個のシナプスを形成するに過ぎない。この登上線維による単一支配と、樹状突起における平行線維と登上線維の分離したテリトリ支配が、小脳の神経回路の2

〒060-8638 札幌市北区北15条西7丁目
TEL: 011-706-5032; FAX: 011-706-5031
E-mail: watamasa@med.hokudai.ac.jp
2016年6月23日受付, 2016年9月29日受理

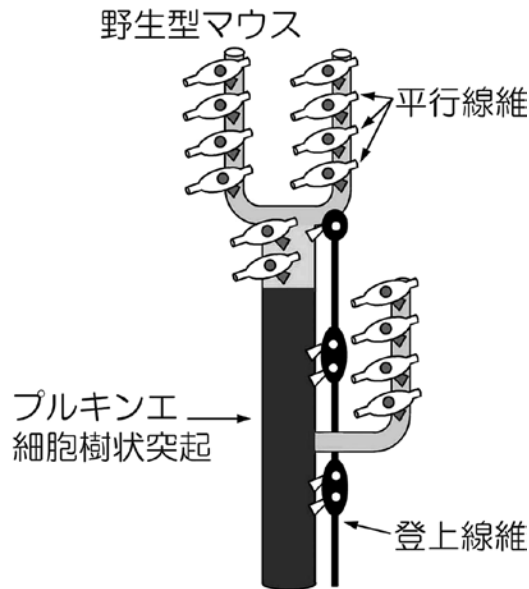


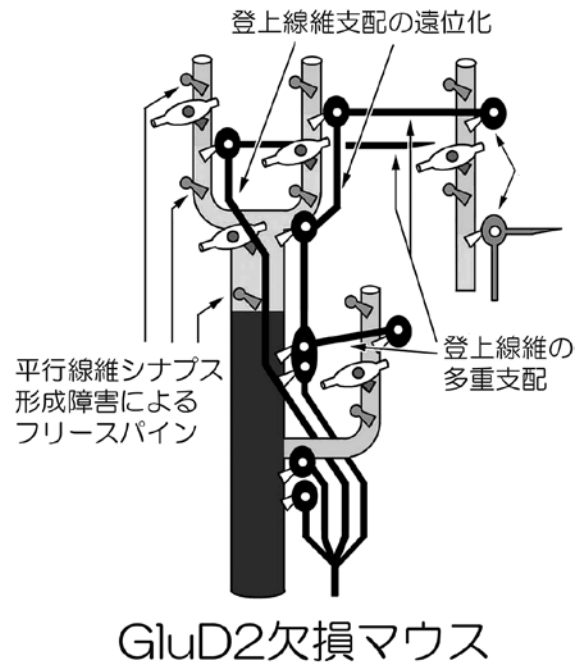
図1 野生型マウスのプルキンエ細胞の登上線維と平行線維支配。成体期において、登上線維の単一支配と、近位・遠位における登上線維と平行線維の分離したテリトリー支配が確立している。

大特性である (図1)。

登上線維も平行線維も、グルタミン酸を伝達物質として、プルキンエ細胞に興奮性シグナルを伝える。上述の2つの回路特性を基盤として、苔状線維・平行線維系は運動の目的と結果に関する神経情報をプルキンエ細胞に伝える。一方、目的と結果との間にズレがあるとそれが誤差信号として登上線維の活動となり、誤った平行線維のシナプス活動を長期抑圧 long-term depression と呼ばれるシナプス可塑性を通して強力に抑制する。これにより、目的に沿った精緻な運動への実現へと近づく¹⁾。幼若期のような複数の登上線維が支配する多重支配 multiple innervation の残存は、小脳長期抑圧機構による運動制御を撓乱すると考えられる。

2. イオンチャネル型グルタミン酸受容体 GluD2

イオンチャネル型グルタミン酸受容体は、AMPA型、カイン酸型、NMDA型、 δ 型の4つのサブファミリーからなる。AMPA型グルタミン酸受容体は神経終末(プレシナプス)から放出されるグルタミン酸と結合してシナプス後部(ポストシナプス)に興奮性シナプス伝達を行ない、NMDA型受容体はシナプス可塑性の誘発に関わる。一方、 δ 型はグルタミン酸との結合能やイオンチャネル活性を持たない奇妙なグルタミン酸受容体であり、GluD1とGluD2の2つのサブタイプが存在する。このうち、GluD2は小脳プルキンエ細胞に選択的に発現すると受容体として1993年に同定された²⁾。特異抗体を用いた免疫電顕解析により、この分子が平行線維シナプスに高いレベルで発現する一方、登上線維シナプスには全く発現しないことが判明し、入力選択的なシナプス発現を示す最初のグルタミン酸受容体となった^{3,4)}。間もなく、GluD2



GluD2欠損マウス

図2 完全欠失型 GluD2 欠損マウスのプルキンエ細胞のシナプス回路の表現型。遠位樹状突起における平行線維シナプス形成が障害されフリースパインが出現する。このフリースパインの異所性支配により登上線維支配の遠位化が誘導され、これが近隣のプルキンエ細胞にまで及ぶことで多重支配が頻発する。

は平行線維シナプス形成と小脳機能にとって重要な分子であることが遺伝子欠損マウスの作成と解析により判明した⁵⁾。

3. 発達期におけるシナプス回路形成と GluD2

3.1 GluD2 は発達期における平行線維シナプス形成を促進する

GluD2 遺伝子を完全欠失するヌルノックアウトマウスの開発とその表現型解析から、この分子が平行線維終末とプルキンエ細胞スパインとの間のシナプス結合を制御することが判明した⁵⁾。連続電子顕微鏡切片を作成して1つ1つのスパインのシナプス結合の有無を検討すると、シナプスを形成するスパインの割合(結合率)は63%で、残る37%はシナプス結合を持たないフリースパインであった(図2)⁶⁾。このフリースパインは、本来の平行線維の支配領域である樹状突起の遠位部に出現することから、平行線維との結合に失敗したため、もしくは結合が外れたために生じたものと考えられる。このような低いシナプス結合率は、生後7日の野生型マウスにも同様に認められた。しかし、平行線維シナプス形成が活発化しGluD2のスパイン局在が顕在化する生後14日になると、野生型マウスでの結合率は100%へと上昇し、GluD2欠損マウスでは低い結合率のまま成体期を向かえた。その結果、プルキンエ細胞当たりの平行線維シナプス数は、GluD2欠損成体マウスでは野生型マウスの約半分程度(54%)にまで減少した。

GluD2欠損マウスの平行線維シナプスに観察されるもう一

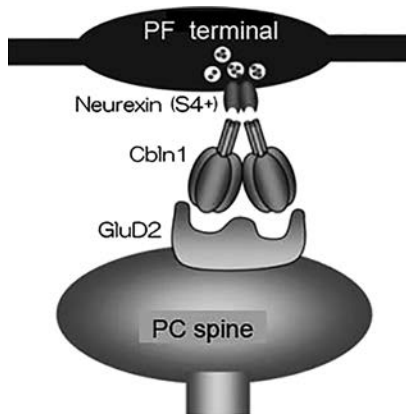


図3 ニューレキシン・Cbln1・GluD2を介した平行線維・プルキンエ細胞シナプスの選択的接着機構。

つの特異な表現型は、プレシナプスとポストシナプスのミスマッチである。通常であれば、伝達物質の放出部位となるプレシナプスのアクティブゾーンと、グルタミン酸受容体が密集するポストシナプスのシナプス後膜肥厚部は、きっちりと正確に向かい合う。GluD2欠損マウスでは、シナプス結合を維持している平行線維シナプスの中に、シナプス後膜肥厚部を越えてアクティブゾーンの方が長くなるシナプス結合のズレが出現する。

このようなミスマッチシナプスでは、GluD2の含量が減少していることから、フリースパインへ移行する前段階と考えられる。これらの事実から、平行線維シナプスに選択的なGluD2は、平行線維とプルキンエ細胞の間のシナプス結合の強化し正しく接合させる分子機構であり、発達期における莫大な数の平行線維シナプスの形成を保証している。

3.2 GluD2は顆粒細胞由来のCbln1を介して平行線維シナプス形成を促進する

グルタミン酸との結合能を失ったGluD2の真のリガンドは長らく不明なままであった。2010年、顆粒細胞の分泌性分子であるCbln1がGluD2のリガンドであることが解明された^{7,8)}。この発見の契機となったのは、やはりフリースパインとミスマッチの出現というGluD2欠損マウスと共通するCbln1欠損マウスの表現型であった。Cbln1は、さらに平行線維終末のアクティブゾーンから突き出るS4セグメントを有するタイプのニューレキシンと選択的に結合し、この3者の分子間相互作用を介して平行線維終末とプルキンエ細胞との間の選択的な結合が媒介され強化される(図3)。

3.3 GluD2は発達期における登上線維支配を抑制的に制御する

GluD2欠損マウスでは、登上線維の支配領域が遠位樹状突起へと広がった(図2)。トレーサーで標識された登上線維を千数百枚の連続電子顕微鏡で追跡した結果、この遠位化は樹状突起遠位部に出現したフリースパインを標的とした支配テリトリーの拡大を反映していた。さらに、このような登上線維支配の遠位拡大は近隣のプルキンエ細胞の遠位樹状突起

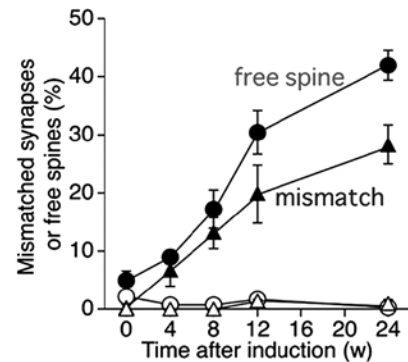
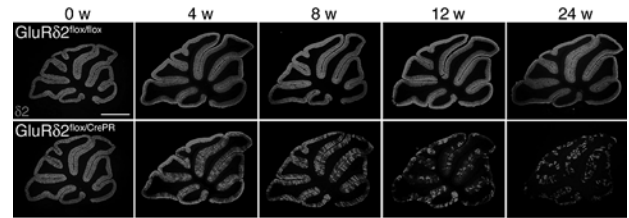


図4 薬剤誘導型GluD2欠損マウス。上図は誘導剤投与後の週数と、小脳におけるGluD2の緩やかな消失を示す。下図は、GluD2減少とともに進行するフリースパインの出現とミスマッチ平行線維シナプスの増加を示す。

にも及び、これがGluD2欠損マウスにおける多重支配を引き起こす主要な原因となっていた¹⁰⁾。この事実は、発達期における平行線維と登上線維によるプルキンエ細胞支配が相互に競合的であり、この動的平衡の中でGluD2は平行線維側の強化分子として機能し、結果的に登上線維支配を抑制する作用も発揮していることを示している。

同時に、登上線維側にもその支配を強化する分子機構があることも暗示し、GluD2欠損マウスではその分子機構が優位になったと考えられる。その後、一本の優勢な登上線維の強化分子機構の実体がP/Q型Ca²⁺チャネルであることも明らかにすることができた^{11~13)}。

4. 成体期におけるシナプス回路維持とGluD2

成体期においても、GluD2は平行線維シナプスに高いレベルで発現しつづける。その役割を調べる目的で薬剤誘導型のGluD2欠損マウスを作製し、正常なシナプス回路網が一旦完成した成体期においてこの分子欠損を誘導した¹⁴⁾。

小脳におけるGluD2含量は誘導剤投与後4週で50%、8週で20%程度に低下し、この漸減は欠損するプルキンエ細胞数の増加を反映していた。この緩やかなタンパク含量の減少は、GluD2が安定的な分子でそのターンオーバーが長いことを示している。GluD2が消失すると、そのプルキンエ細胞の樹状突起の遠位部にフリースパインが出現し、ミスマッチシナプスも生じた(図4)。したがって、成体期においてもGluD2は平行線維シナプス結合の維持に不可欠な分子機構であることが明らかとなった。

この平行線維シナプスの脱落に続いて、登上線維支配も変

化した¹⁵⁾。普段我々が登上線維として理解している樹状突起に沿って上行するシナプス形成性の上行枝は、誘導剤を投与してから月単位で遠位化が進行した。また、登上線維には、この上行枝から側方に伸びるシナプス非形成性の側枝がある。誘導剤の投与後、この側枝は異所性シナプスを形成する活動的な側枝へと変貌し、やはり月単位で小脳の内外方向にどんどん伸びて行った。その結果、登上線維の投射領域は本来のシャープな単一プルキンエ細胞レベルから、周囲のプルキンエ細胞を巻き込む形で周囲に拡大し、相互にオーバーラップして高頻度の多重支配が発生し、小脳性の運動失調も重篤化した。つまり、GluD2による樹状突起遠位部の平行線維シナプス維持機能は、正常な興奮性回路構築と小脳機能の維持にとって不可欠な細胞過程であることが証明された。

5. 変性後のシナプス回路再生と GluD2

末梢神経が切断されると、切断端から神経軸索は徐々に再生・伸長し、元の標的細胞を再支配して手や足が再び動くようになる。しかし、頭部外傷や脳血管障害により中枢神経が断裂すると、障害部位を越えた軸索再生が起こることはほとんどなく、この壁を破ることが、現在の再生医学の大きな課題となっている。最近、平行線維シナプス回路の高い再生能が GluD2 の働きによるものであることを突き止めることができた¹⁶⁾。

この実験では、生後2ヶ月令の野生型マウスと GluD2 欠損マウスの小脳皮質に幅2mmの間隔で2本の切創を加え、周囲の小脳領域から入力してくる平行線維を切断した“小脳の島”を作成した。切断を行わないコントロール群、受傷後1日群、7日群、30日群の小脳の島を解析対象として、平行線維と平行線維シナプスがどのように再生するのかを連続切片を用いた電子顕微鏡立体再構築により解析した。

野生型マウスでは、変性期、肥大型、再編期3つの段階を経て平行線維と平行線維シナプスが再生した(図5)。

1. 変性期：受傷後1日目、平行線維及び平行線維シナプスの数はどちらも半分以下にまで減少した。これは、小脳の島

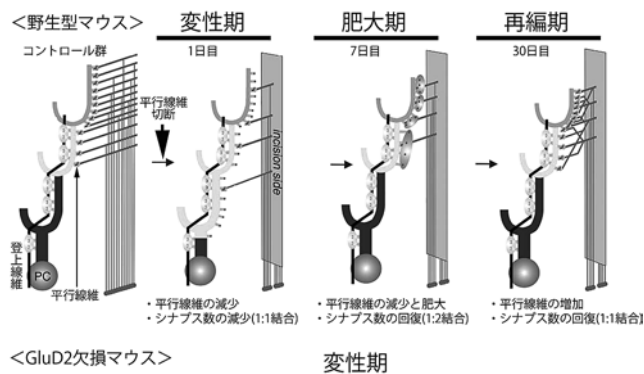


図5 平行線維傷害後の平行線維シナプスの再生過程。野生型マウスでは受傷直後の変性期を脱して、肥大型から再編期へと再生が進行する。このような再生過程は GluD2 欠損マウスでは一切起こらない。

外から投射していた平行線維が切断により変性し、島内からの投射線維は切断から免れ残存していることを意味する。

2. 肥大型：受傷後7日目においても平行線維数は半減以下に減少したままであったが、残存している平行線維が著明に肥大した。コントロール群では一つの平行線維終末は一つのシナプスだけを形成する1:1結合であるのに対して、肥大した平行線維終末は平均2個のシナプス(1:2結合)を形成していた。その結果、平行線維シナプス数が増加し、コントロール群と同じレベルにまで回復した。これは、再生の初期段階は、残存している平行線維が形態を変化させ、結合比を増大させることでシナプス再生を行っていることを物語る。

3. 再編期：受傷後30日目になると、残存していた平行線維から側枝が発芽して伸長し、平行線維数もコントロール群の70%以上にまで回復した。さらに、平行線維の肥大化も解消し、シナプスの結合比も1:1に戻った。これは、再生の後期段階では平行線維自体も再生することで、平行線維シナプスが数的にも形態学的にも受傷前の状態に回復することを意味する。

一方、GluD2欠損マウスでは、肥大型や再編期に見られる再生に向けた変化が全く起こらず、平行線維と平行線維シナプスは変性期の状態のまま続いた。この観察結果は、平行線維・プルキンエ細胞シナプスに選択的なGluD2が、このシナプスに高い再生能力を賦与していることを示している。従って、GluD2はこのシナプス回路の発生から再生までの全ての過程を制御している重要な分子なのである。

6. GluD2 と AMPA 型グルタミン酸受容体の発現制御

興奮性シナプス伝達の根幹となるAMPA型グルタミン酸受容体の入力選択的な発現量の違いは、定常状態におけるシナプス伝達の強さやその標的ニューロンにおけるシナプスの重みを規定する重要な要素である。プルキンエ細胞において、登上線維シナプスには平行線維シナプスの5倍ものAMPA型グルタミン酸受容体が発現しているが、その理由は不明であった。GluD2欠損マウスを包埋後免疫電顕による検討を行うと、平行線維シナプスのAMPA型グルタミン酸受容体含量が野生型の数倍に増加し、登上線維シナプスのそれとほぼ同レベルになっていた(図6)¹⁷⁾。

GluD2は小脳長期抑圧に関与することがわかっている⁵⁾。前述のとおり、登上線維の活動と同期して発火した平行線維シナプスではAMPA型グルタミン酸受容体の発現量が減少して、その伝達効率は半分程度にまで減少する。GluD2欠損マウスでは、この可塑的变化が起こらない。単純に計算すれば、平行線維シナプスのAMPA型グルタミン酸受容体は、GluD2の存在と機能的関与により5分の1から10分の1程度にまで抑制されていることになる。つまり、GluD2は、一方では平行線維シナプスの結合性を構造的に強化し、他方ではこのシナプス伝達強度を定常的および動的に弱めているのである。恐らく、個々の平行線維シナプスの伝達強度を弱めることが小脳による運動制御と運動学習にとって重要であ

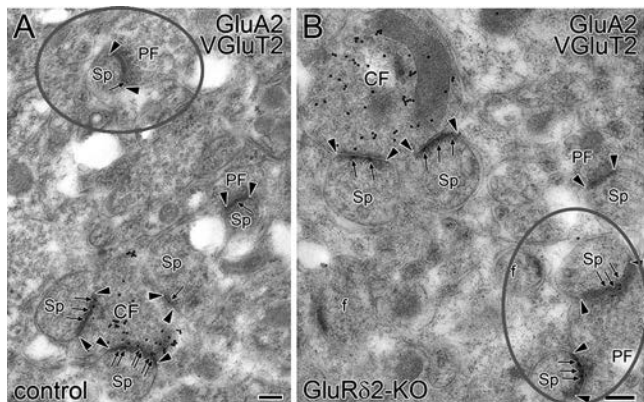


図6 GluD2はAMPA型グルタミン受容体の平行線維シナプス発現を定常的に減少させる。包埋後二重免疫電顕法により登上線維終末(CF)をVGluT2(大型金粒子)で標識し、GluA2小型金粒子で標識した。野生型マウス(A)では登上線維シナプスにおける高いレベルのGluA2標識が観察されるが(→), ○で囲んだ平行線維シナプスでは低い。GluD2欠損マウス(B)では平行線維シナプスにおけるGluA2標識レベルが著明に増強する。

り、それによるシナプスの脱落を防ぐことも重要であり、これらを両立させる解こそが平行線維シナプスに与えられたGluD2の機能的本質なのだろう。

7. GluD2とmGluR1の連携

AMPA型グルタミン酸受容体に加え、平行線維シナプスには代謝型グルタミン酸受容体mGluR1が豊富に発現している。ポストシナプス膜に集積するAMPA型グルタミン酸受容体とは異なり、mGluR1はシナプス膜から排除され、むしろシナプスの周囲に配置している。このため、mGluR1の活性化には、平行線維シナプスという構造的な伝達の場の形成と、シナプス間隙から漏れ出るような十分なグルタミン酸の放出が必要条件となる。つまり、GluD2による平行線維シナプス形成強化機構は十分なmGluR1の活性化の基盤となり、これがmGluR1依存的なシナプスの刈込みを駆動することになる。

7.1 mGluR1と余剰な登上線維シナプスの刈込み

mGluR1はプルキンエ細胞に豊富な代謝型グルタミン酸受容体で、その活性化は細胞内カルシウムストアからのカルシウムイオンの放出や、蛋白質酸化反応を引き起こす。mGluR1遺伝子欠損マウスでは、平行線維シナプスは正常に形成されるにも関わらず、登上線維の多重支配が残存する。同様の表現型は、プルキンエ細胞に豊富なmGluR1下流のシグナル伝達系(GタンパクGaq-フォスホリパーゼPLCβ4-リン酸化酵素PKCγ)でも観察される。野生型マウスでは、一本の優勢な登上線維のみが細胞体から近位樹状突起へと支配領域を拡大し、他の余剰な登上線維は細胞体にとどまりやがて刈込まれ、生後3週までに単一支配へと移行する。しかし、μΓλνP1伝達系の遺伝子欠損マウスでは、余剰な登上線維はプルキンエ細胞の細胞体に残存し、終生多重支配が持続する^{18,19)}。

7.2 mGluR1と近位樹状突起における平行線維シナプス刈込み

野生型マウスでは、平行線維と登上線維の分離した支配様式は生後15日以降に完成し、それまでは平行線維シナプスは樹状突起の全域に広がって登上線維と重複した支配領域を共有していることが判明した。この支配領域の分離化は、近位樹状突起から平行線維シナプスが刈込まれることが要因であった。しかし、mGluR1欠損マウスやPKCγ欠損マウスではこの平行線維シナプスの刈込みは起こらないこと、ウイルスベクターを用いてmGluR1欠損マウスにmGluR1を発現させると平行線維シナプスの刈込みが復活することから、平行線維シナプスの刈込みにもmGluR1シグナル伝達系が関与していることが判明した²⁰⁾。

このように、GluD2依存的に平行線維シナプスの形成が促進され、それによりmGluR1の活性化も促進されることにより、プルキンエ細胞のシナプス回路の2大特性が完成する。すなわち、登上線維による単一支配と樹状突起における平行線維と登上線維の分離したテリトリー支配は、GluD2とmGluR1の機能的連携により実行されているのである。

文 献

- 1) Ito, M.: Cerebellum: The brain for an Implicit Self (Upper saddle river NJ: Pearson Education, Inc. Publishing as FT Press) (2012)
- 2) Araki, K., Meguro, H., Kushiya, E., Takayama, C., Inoue, Y. and Mishina, M.: Selective expression of the glutamate receptor channel δ2 subunit in cerebellar Purkinje cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **197**, 1267-1276 (1993)
- 3) Takayama, C., Nakagawa, S., Watanabe, M., Mishina, M. and Inoue, Y.: Light- and electron-microscopic localization of the glutamate receptor channel δ2 subunit in the mouse Purkinje cell. *Neurosci Lett.*, **188**, 89-92 (1995)
- 4) Landsend, A.S., Amiry-Moghaddam, M., Matsubara, A., Bergersen, L., Usami, S., Wenthold, R.J. and Ottersen, O.P.: Differential localization of δ glutamate receptors in the rat cerebellum: coexpression with AMPA receptors in parallel fiber-spine synapses and absence from climbing fiber-spine synapses. *J. Neurosci.*, **17**, 834-842 (1997)
- 5) Kashiwabuchi, N., Ikeda, K., Araki, K., Hirano, T., Shibuki, K., Takayama, C., Inoue, Y., Kutsuwada, T., Yagi, T., Kang, Y., Aizawa, S. and Mishina, M.: Impairment of motor coordination Purkinje cell synapse formation and cerebellar long-term depression in GluRδ2 mutant mice. *Cell*, **81**, 245-252 (1995)
- 6) Kurihara, H., Hashimoto, K., Kano, M., Takayama, C., Sakimura, K., Mishina, M., Inoue, Y. and Watanabe, M.: Impaired parallel fiber-->Purkinje cell synapse stabilization during cerebellar development of mutant mice lacking the glutamate receptor δ2 subunit. *J. Neurosci.*, **17**, 9613-9623 (1997)
- 7) Matsuda, K., Miura, E., Miyazaki, T., Kakegawa, W., Emi, K., Narumi, S., Fukazawa, Y., Ito-Ishida, A., Kondo, T., Shigemoto, R., Watanabe, M. and Yuzaki, M.: Cbln1 is a ligand for an orphan glutamate receptor δ2, a bidirectional synapse organizer. *Science*, **328**, 363-368 (2010)
- 8) Uemura, T., Lee, S.J., Yasumura, M., Takeuchi, T., Yoshida, T., Ra, M., Taguchi, R., Sakimura, K. and Mishina, M.: Trans-synaptic

- interaction of GluR δ 2 and Neurexin through Cbln1 mediates synapse formation in the cerebellum. *Cell*, **141**, 1068–1079 (2010)
- 9) Hirai, H., Pang, Z., Bao, D., Miyazaki, T., Li, L., Miura, E., Parris, J., Rong, Y., Watanabe, M., Yuzaki, M. and Morgan, J.I.: Cbln1 is essential for synaptic integrity and plasticity in the cerebellum. *Nat. Neurosci.*, **8**, 1534–1541 (2005)
 - 10) Ichikawa, R., Miyazaki, T., Kano, M., Hashikawa, T., Tatsumi, H., Sakimura, K., Mishina, M., Inoue, Y. and 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 δ 2. *J. Neurosci.*, **2**, 8487–8503 (2002)
 - 11) Miyazaki, T., Hashimoto, K., Shin, H.-S., Kano, M. and Watanabe, M.: P/Q-type Ca²⁺ channel α 1A regulates synaptic competition on developing cerebellar Purkinje cells. *J. Neurosci.*, **24**, 1734–1743 (2004)
 - 12) Hashimoto, K., Tsujita, M., Miyazaki, T., Kitamura, K., Yamazaki, M., Shin, H.S., Watanabe, M., Sakimura, K. and Kano, M.: Postsynaptic P/Q-type Ca²⁺ channels in cerebellar Purkinje cells mediate synaptic competition among multiple climbing fiber inputs during postnatal development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 9987–9992 (2011)
 - 13) Miyazaki, T., Yamasaki, M., Hashimoto, K., Yamazaki, M., Abe, M., Usui, H., Kano, M., Sakimura, K. and Watanabe, M.: Cav2.1 in cerebellar Purkinje cells regulates competitive excitatory synaptic wiring, cell survival, and cerebellar biochemical compartmentalization. *J. Neurosci.*, **32**, 1311–1328 (2012)
 - 14) Takeuchi, T., Miyazaki, T., Watanabe, M., Mori, H., Sakimura, K. and Mishina, M.: Control of synaptic connection by glutamate receptor delta2 in the adult cerebellum. *J. Neurosci.*, **25**, 2146–2156 (2005)
 - 15) Miyazaki, T., Yamasaki, M., Takeuchi, T. *et al.*: Ablation of glutamate receptor GluR δ 2 in adult Purkinje cells causes multiple innervation of climbing fibers by inducing aberrant invasion to parallel fiber innervation territory. *J. Neurosci.*, **30**, 15196–15209 (2010)
 - 16) Ichikawa, R., Sakimura, K. and Watanabe, M.: GluD2 endows parallel fiber-Purkinje cell synapses with a high regenerative capacity. *J. Neurosci.*, **36**, 4846–4858 (2016)
 - 17) Yamasaki, M., Miyazaki, T., Azechi, H., Abe, M., Natsume, R., Hagiwara, T., Aiba, A., Mishina, M., Sakimura, K. and Watanabe, M.: Glutamate receptor δ 2 is essential for input pathway-dependent regulation of synaptic AMPAR contents in cerebellar Purkinje cells. *J. Neurosci.*, **31**, 3362–3374 (2011)
 - 18) Watanabe, M. and Kano, M.: Climbing fiber synapse elimination in cerebellar Purkinje cells. *Eur. J. Neurosci.*, **34**, 1697–1710 (2011)
 - 19) Hashimoto, K. and Kano, M.: Synapse elimination in the developing cerebellum. *Cell Mol. Life Sci.*, **70**, 4667–4680 (2013)
 - 20) Ichikawa, R., Hashimoto, K., Miyazaki, T., Uchigashima, M., Yamasaki, M., Aiba, A., Kano, M. and Watanabe, M.: Territories of heterologous inputs onto Purkinje cell dendrites are segregated by mGluR1-dependent parallel fiber synapse elimination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 2282–2287 (2016)