

綜 説

CASK 異常症モデル動物を用いた多階層解析：
タンパク質構造から社会行動までを AI 技術を用いて解析する

森 琢 磨

信州大学医学部分子細胞生理学教室

Integrative Analysis of an Animal Model of CASK Abnormality :
From Protein to Social Behavior

Takuma MORI

Department of Molecular and Cellular Physiology, Shinshu University School of Medicine

Key words : CASK, MICPCH, X chromosome inactivation, machine learning, animal behavior analysis
CASK 異常症, 小脳脳幹部低形成, X 染色体不活性化, 機械学習, 動物行動解析

I はじめに

精神神経疾患の原因遺伝子と患者の遺伝子変異様式を同定できるゲノム診断技術が医療現場に普及しつつある。疾患の原因として同定された遺伝情報を治療戦略策定や創薬開発に役立てる上で、遺伝子変異がもたらす生化学的特性の変化、変異タンパク質による生理機能の変性、それらの結果表出する病理学的表現型を、縦断的に理解することは必要不可欠である。近年、人工知能 (Artificial Intelligence, AI) 技術である機械学習を応用した解析が、医学生物学分野に取り入れられており、その利用が研究の質とスピードに大きな影響を与えている。筆者らの研究グループは神経発達障害の発症メカニズムに焦点をあてて研究をすすめており、その過程で AI 技術を活用している。本稿では、CASK 異常症モデルマウスの研究を中心に CASK 異常症について解説し、あわせて我々が用いている AI 解析技術についても紹介する。

II CASK 異常症の遺伝学

CASK 異常症は、X 染色体上の Xp11.4 に位置するカルシウム/カルモジュリン依存性セリンプロテインキナーゼ (Calcium/Calmodulin dependent serine protein kinase, CASK) をコードする CASK 遺伝子

の変異によって生じる病態である。1990 年代にはすでに、CASK 遺伝子を含む Xp11.4 領域が欠失する患者が、X 連鎖性視神経萎縮症、知的障害および小頭症を示すと報告されており、CASK 遺伝子がこれら病態に関わると推察されていた¹⁾²⁾。世界で初めての CASK 異常症の報告は、東京医科歯科大学の Hayashi ら³⁾が見出した X 連鎖性知的障害 (X-linked Intellectual Disability, XLID) を示す症例である。その後、Najm ら⁴⁾は CASK 遺伝子変異が認められた 5 名の患者から、小脳・橋低形成を伴う小頭症 (Microcephaly with Pontine and Cerebellar Hypoplasia, MICPCH) および XLID を報告している。これらの報告以降、MICPCH, XLID, FG 症候群、小児てんかん症候群、先天性眼振、聴覚障害、自閉スペクトラム症などの様々な病態が CASK 遺伝子異常と関係することが報告されてきた⁵⁾⁻⁸⁾。日本において CASK 異常症は、CASK 遺伝子の変異によって引き起こされる種々の神経発達障害を伴う脳形成異常として定義されており、令和 3 年 11 月から小児慢性特定疾病に追加されている。CASK は、心臓形成や腫瘍形成など他の生物学的側面にも関与することが知られているが⁹⁾¹⁰⁾、本稿では CASK 異常症における神経病態に焦点を当てる。

CASK 異常症はさまざまな病理学的表現型を示すが、中でも MICPCH と XLID が高頻度で報告されている。一般的に、MICPCH は CASK 遺伝子の機能喪失変異 (ナンセンス変異) に関連し、XLID は CASK 遺伝子の機能低下変異 (ミスセンス変異) に関連する

Corresponding author : 森 琢磨 〒390-8621
松本市旭 3-1-1 信州大学医学部分子細胞生理学教室
E-mail : mori@shinshu-u.ac.jp

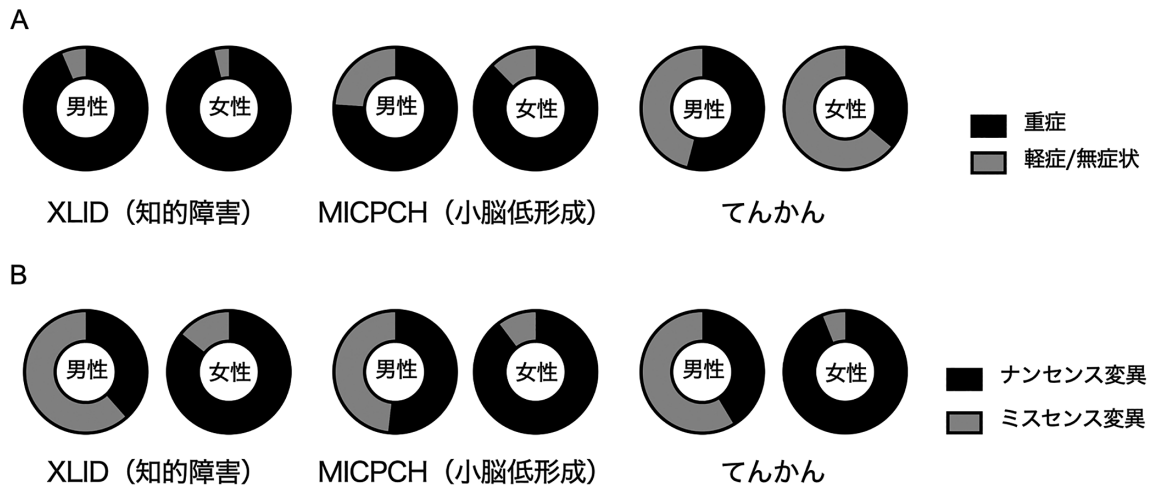


図1 CASK 異常症における病態の重症度とその性差

CASK 異常症で観察される主要病態である、知的障害、小脳低形成（小頭症を含む）、てんかんの報告頻度を性別ごとに示した。（A）、各病態の重症度について、重症報告例は黒色、軽症および無症状は灰色で示している。（B）、遺伝子変異様式について、ナンセンス変異は黒色、ミスセンス変異は灰色で示した。（文献11より引用、筆者改変）

と推測されてきた。この仮説を検証するために、我々は49文献に記載された197人の CASK 異常症患者を精査し、遺伝子変異様式、性別、表現型に基づいて症例を分類した¹¹⁾。図1 Aに示すように、XLID は CASK 異常症の男性（93.5 %）および女性（96.1 %）のほぼ全例で、MICPCH は男性（76.0 %）および女性（87.7 %）の約8割で報告されていた。CASK 異常症に関連するもう1つの表現型であるてんかんに関しては、大田原症候群、West 症候群（點頭てんかん）、欠伸てんかん、ミオクロニー発作などが報告されている。CASK 異常症においては、男性（54.1 %）および女性（36.1 %）患者のおよそ4割がてんかん発作を示すと考えられる。

続いて、CASK 異常症で報告されている病理学的表現型と遺伝子変異様式に注目して症例をまとめると、各病態と関連する遺伝子変異様式が性別によって異なることが明らかになった（図1 B）。いずれの CASK 異常症病態についても、女性では症例の85 %以上が CASK 遺伝子のナンセンス変異によるものであった。一方で、男性では38～63 %でナンセンス変異が観察され、ミスセンス変異も37～62 %程度で報告されており、男性は女性と比べて機能低下を伴うミスセンス変異の割合が多いことが明らかになった。そして、XLID は MICPCH と比べてミスセンス変異の割合が多いことも明らかになった。

通常、ナンセンス変異は機能の喪失をもたらし、ミスセンス変異は機能を低下させると理解されている。

CASK 異常症における遺伝子変異様式の性差には、X 染色体が関わる生物学的特性が影響すると考えられる。哺乳類の雄は1本のX染色体を持ち、雌は2本のX染色体を持つ。CASK 異常症女性患者の大部分は、1本のX染色体に *de novo* の突然変異が起こり、もう1本のX染色体はその突然変異を持たないヘテロ接合である。そして女性特有の遺伝子制御機構であるX染色体不活性化（X chromosome inactivation, XCI）が、X染色体の2本のうち1本を不活性化する。その結果、変異が入ったX染色体だけが機能している異常細胞と、変異が入っていないX染色体だけが機能している正常細胞の2つが混在した形で、女性の体は構成される（図2 A）。一方で、CASK 異常症男性患者は変異X染色体しか持たない。この、男性におけるX染色体の特殊性を考慮すると、機能が失われるナンセンス変異は致死に、機能を低下させるミスセンス変異ならば、生存する可能性が高まるために、男性のミスセンス変異症例が多くなっていると考えられる。

女性患者は異常細胞と正常細胞が混在した組織を持ち、組織内での細胞割合はランダムだと考えられる。確率的に正常細胞と異常細胞が生み出された結果、正常細胞を多く持つ患者から異常細胞を多く持つ患者までがスペクトラム状に存在し、CASK 異常細胞の多寡と CASK 異常症病態の重症度が相関していると想定されている（図2 B）。

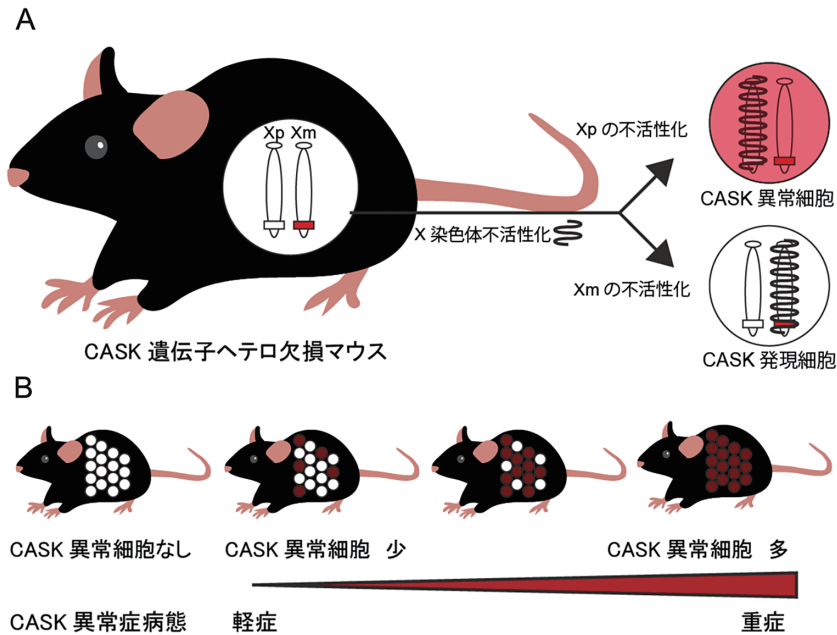


図2 CASK 異常症の病態決定因子としてのX染色体不活性化

(A), 人間を含む哺乳類では、女性/メスは2本のX染色体をもつ。X染色体不活性化によって、うち1本のX染色体がランダムに不活性化され、細胞の機能を決定する。CASK 遺伝子ヘテロ欠損マウスでは、2本のうちの1本のX染色体のCASK遺伝子が変異している。そのため、体細胞はCASK異常細胞とCASK正常細胞が混在することになる。(B), CASKの異常細胞の割合は確率的に決まるため、異常細胞の割合によって病態の程度が決まると考えられる。(文献11より引用、筆者改変)

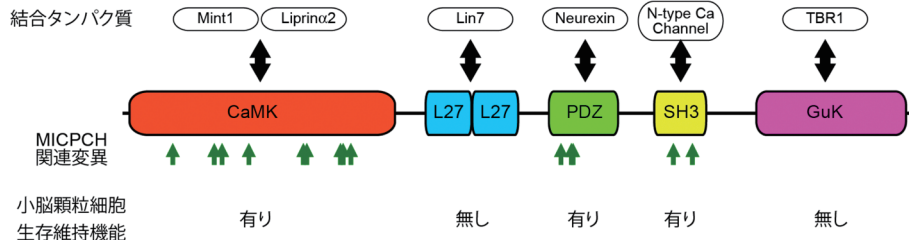


図3 CASK タンパク質の機能ドメインおよび生物学的特性

CASK タンパク質はCaMK, L27, PDZ, SH3, GuKドメインをもち、Mint1などのタンパク質と結合する。CASK 異常症におけるMICPCHに関連するミスセンス変異はCaMK, PDZ, SH3ドメインに集中している(緑矢印)。このドメインは小脳顆粒細胞の生存維持に関わる領域であることを明らかにした。(文献11より引用、筆者改変)

Ⅲ CASK タンパク質の機能的構造

CASK はもともと、神経細胞が情報伝達を行うシナプス部位に集積する接着分子 Neurexin に結合する分子として同定された¹²⁾。CASK は、カルモジュリンキナーゼ (CaMK) ドメイン、2つの Lin2/Lin7 (L27) ドメイン、PSD-95/discs large/ZO-1 (PDZ) ドメイン、Src Homology 3 (SH3) ドメイン、グアニル酸キナーゼ (GuK) ドメインという5つの機能ドメインにより構成され、各機能ドメインは他のタンパク質と相互作用することで生理的機能を果たす (図3)。

CASK タンパク質 CaMK ドメインは、マグネシウム依存性の非典型キナーゼとして Neurexin をリン酸化すること¹³⁾、また liprin-α2や mint1などと結合すること¹⁴⁾が報告されている。L27ドメインは Lin-7や SAP-97 (DLG1) と結合し、シナプス機能を維持する足場タンパク質複合体を形成する¹⁵⁾。PDZ ドメインはシナプス前部に局在する Neurexin の結合部位であり、シナプス後部の Neuroligin と3者複合体を形成することで、シナプス機能維持に関わっている。SH3ドメインはN型カルシウムチャネルと結合し、シナプス前部におけるシナプス小胞からの神経伝達物質放出に関

わっている¹⁶⁾。CASK タンパク質のカルボキシル末端に位置する GuK ドメインは、転写因子 TBR1 と結合し、NMDA 型グルタミン酸受容体 2 B サブユニット (GluN2B) などの遺伝子発現を制御することが示唆されている¹⁷⁾。

IV CASK 異常症モデルマウスを用いた小脳形成異常の解析

CASK 異常症の主要病態である MICPCH は、CASK 遺伝子欠損マウスでも観察されることが報告されている⁴⁾¹⁸⁾。そこで我々は、小脳神経細胞の培養システムを確立し、CASK 異常症における小脳萎縮の分子メカニズムの解明を目指した。Cre リコンビナーゼ依存的に CASK 遺伝子を不活性化できる遺伝子改変マウスから小脳顆粒細胞の培養細胞を作成し、その細胞で CASK 遺伝子を不活性化させると小脳顆粒細胞が死滅した¹⁹⁾。CASK 遺伝子を外来的に補完することで細胞死が抑制されたことから、小脳顆粒細胞の生存は CASK 遺伝子の有無によって制御されることが明らかになった。顆粒細胞は小脳を構成する主要な細胞であるため、CASK 異常症における小脳萎縮は小脳顆粒細胞の減少が主要原因の 1 つであると考えられる。

この実験から 5 つの機能ドメインを全て持つ完全長 CASK タンパク質を補完することで、細胞死を抑制できることが明らかになった。そこで我々は、機能ドメインの 1 つを欠損した部分欠損型 CASK タンパク質が細胞死に与える影響を調べ、細胞死に必要な CASK 機能ドメインを絞り込んだ。その結果、CaMK, PDZ, そして SH3 ドメインを欠損した CASK タンパク質では細胞死が抑制されないこと、言い換えれば、この 3 つの機能ドメインが小脳顆粒細胞の生存に必要不可欠であることを見出した (図 3)。興味深いことに、MICPCH を示す症例の CASK ミスセンス変異は、この CaMK, PDZ, SH3 ドメインに集中することが、我々の文献調査からも明らかになっている (図 3)。

V 深層学習を用いた CASK 変異タンパク質の機能構造評価

CASK の機能ドメインは結合タンパク質と共同することで、CASK の生物学的機能を実現している。このタンパク質同士の相互作用を理解するためには、CASK タンパク質の 3 次元立体構造に関する情報が不可欠である。一部のタンパク質に関しては、X 線結晶構造解析と核磁気共鳴分光法により立体構造が明ら

かにされており、そのデータは RCSB Protein Data Bank で公開されている。しかし、すべてのタンパク質の立体構造が解明されているわけではないため、全く新しいタンパク質の立体構造に関する情報はこれまで利用不可能であった。近年、AlphaFold2 といった AI ベースのアルゴリズムに、タンパク質立体構造の公開データを学習させることで、研究されていないタンパク質の立体構造を予測することができるようになってきた²⁰⁾。

我々の研究室では、AlphaFold2 を Google Collaboratory 上に実装した ColabFold²¹⁾ を用いて、CASK タンパク質の立体構造を予測した (図 4 A)。予測された CASK タンパク質の立体構造は、予測精度が高い領域を青色で、信頼性の低い予測領域をオレンジ色で表示している。この図を見ると、5 つの CASK 機能ドメインは青色で描かれている一方で、その機能ドメインのつなぎ目はオレンジ色で描かれている。つまり、AlphaFold2 は CASK タンパク質の局所的な機能ドメインを高精度で予測できるが、ドメイン間の接合部の構造予測精度は低いため、結果としてタンパク質の全体構造を高精度で予測できないことがわかる。図 4 B に CASK タンパク質を構成するアミノ酸間の予測誤差を示した。左上から右下に配置された青色の正方形は、機能ドメイン内の予測精度が高いことを示しており、右上および左下にみられる赤色領域は、それぞれの機能ドメインの相対的な位置関係は高精度で予測できないことを示している。以上の結果からわかるように、現状 AlphaFold2 はタンパク質全体よりも、局所的な機能ドメインの立体構造解析に適した解析ツールといえる。

ここからは我々が進めている CASK 異常症研究をもとに、遺伝学および神経科学研究における AlphaFold2 の活用例を解説する。我々は CaMK ドメインから見つかったミスセンス変異の小脳顆粒細胞死への関与を解析し、複数のアミノ酸変異が小脳顆粒細胞死に関与することを明らかにした¹⁹⁾。そのうち、CASK タンパク質の 106 番目のアルギニン残基 (R106) がプロリンに変化したミスセンス変異 CASK^{R106P} について紹介する。我々は、AlphaFold2 を用いてこの CASK^{R106P} 変異をもつ CASK タンパク質の立体構造を予測し、liprin-α2 や mint1 との結合様式を解析した (図 5)。変異を持たない正常 CASK タンパク質は、R106 を介して liprin-α2 (図 5 A) や mint1 (図 5 B) と結合するが、このアルギニン残基がプロリンに置換された R106P 変異で

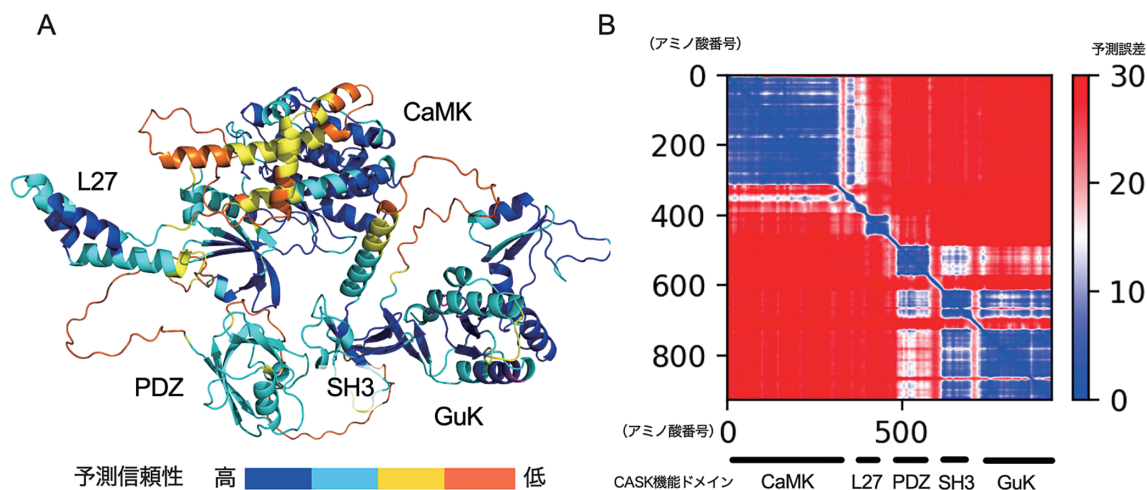


図4 AlphaFold2によるCASKタンパク質の立体構造予測とその精度

(A), AlphaFold2を用いて予測されたCASKタンパク質の立体構造と5つの機能ドメイン。予測信頼性が高いアミノ酸残基を青色で、信頼性の低いアミノ酸をオレンジ色で示している。(B), AlphaFold2で予測されたアミノ酸位置の誤差範囲。CASKアミノ酸の順番（上から下、左から右）に相対位置の誤差範囲が色表示されている。予測誤差が大きいアミノ酸距離は赤で、小さいものは青で示している。(文献11より引用、筆者改変)

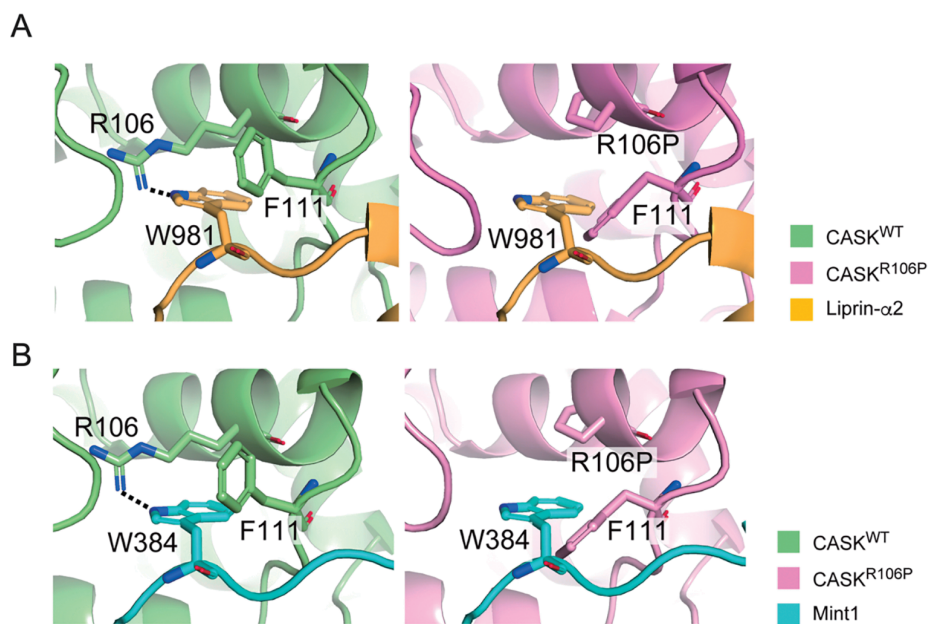


図5 ミスセンス変異がliprin-α2およびMint1とCASKの結合に与える影響

(A), R106を介したliprin-α2（オレンジ色）とCASKの結合（左）は、R106P変異によってアミノ酸結合が失われる。(B), R106を介したMint1（水色）とCASKの結合（左）は、R106P変異によってアミノ酸結合が失われる。(文献19より引用、筆者改変)

は、これら分子との結合がなくなることが明らかになった。この様にAlphaFold2を活用することで、ミスセンス変異が分子間相互作用に与える影響を評価することが可能になっている。

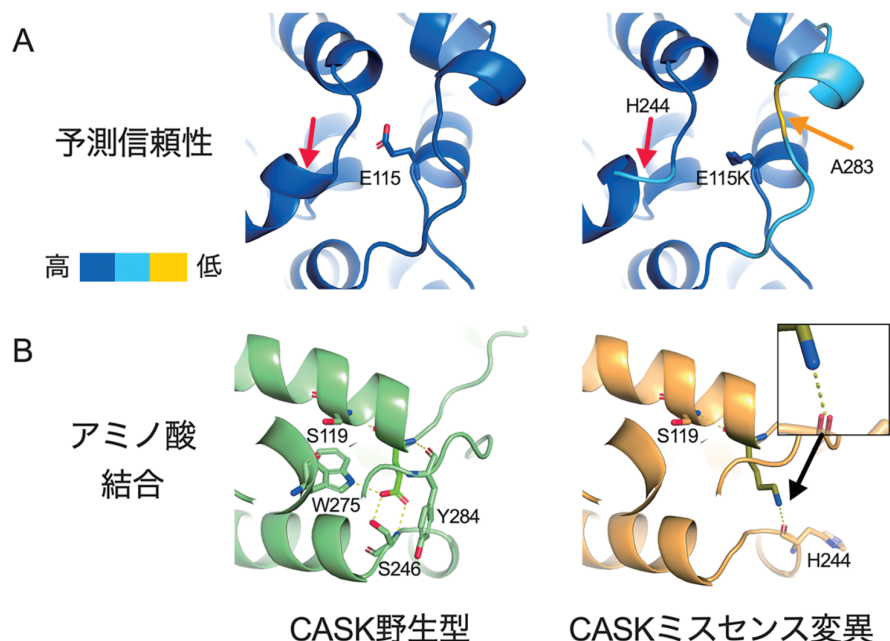
従来の遺伝学解析におけるミスセンス変異の評価には、SIFT, PolyPhen-2, CADDなどのオンライン

ツールが用いられてきた。表1にCASKタンパク質のCaMKドメインから同定された7つのミスセンス変異を示す。これらの変異をオンラインツールで評価したところ、すべてのミスセンス変異が機能に影響を与える重篤な変異として判定された。

表1に挙げたミスセンス変異の一部は、liprin-α2や

表1 MICPCH 患者から同定された CASK-CaMK ドメインにおけるミスセンス変異の異常性評価

CASK 異常症 関連変異		SIFT		PolyPhen-2	CADD
R106P	0.00	Damaging	1.000	Damaging	26.5
E115K	0.00	Damaging	1.000	Damaging	30.0
L209P	0.00	Damaging	1.000	Damaging	27.5
L213R	0.00	Damaging	1.000	Damaging	27.2
L252P	0.00	Damaging	1.000	Damaging	27.7
R255H	0.01	Damaging	1.000	Damaging	26.6
R264K	0.00	Damaging	0.889	Possibly Damaging	25.5

図6 CASK^{E115K} 変異による CASK タンパク質構造の変化

(A), CASK E115周辺の立体構造予測。CASK 野生型はこれら領域が高い信頼性で予測されているが、ミスセンス変異の導入によって、その周辺の予測信頼性が低下している（赤および黄矢印）。(B), E115と結合する4つのアミノ酸はミスセンス変異の導入によって1つに減少する。また H244と新たに結合することで、 α ヘリックス構造が変化する（Aの赤矢印）。

mint1との結合境界から離れた位置に存在するため、これら分子との相互作用に関わっていないと考えられる。それでは分子間相互作用に関わらないアミノ酸のミスセンス変異はどのような構造変化を引き起こすのだろうか？この問いに答えるために、ここでは115番目のグルタミン酸がリシンに置換された CASK^{E115K} 変異について考察する。図6に、CASK^{E115K} 変異と正常 CASK のタンパク質予測構造を示す。予測精度に注目すると、正常 CASK 野生型タンパク質はその全域が青色で示されているのに対して、CASK^{E115K} 変異体は E115K に近接する H244及び A283の予測精度

が低下していることがわかる（図6 A）。次に、正常 CASK タンパク質におけるアミノ酸同士の結合に注目すると、E115は、S119, S246, W275, Y284の4つのアミノ酸と相互作用する。CASK^{E115K} 変異では、S119以外の3つのアミノ酸との相互作用が失われ、一方で、通常結合しない H244と新たに結合することが予測された（図6 B）。この新たに獲得された E115K-H244相互作用は、 α ヘリックス構造を短くするという構造変化を伴うことも予測された。以上のことから、CASK^{E115K} 変異は CaMK ドメインの構造を変化させ、その機能を低下させるミスセンス変異であ

表2 CASK 異常症に関連する CASK-CaMK ドメイン内のアミノ酸変異がアミノ酸間結合に与える影響

CASK 異常症 関連変異	R106P	E115K	L209P	L213R	L252P	R255H	R264K
	E102	S119	C205	L209	S248	D251	E189
	A109	H244	L213	F210	A249	L252	P199
	G110	S246		T291	R255	M258	M258
結合アミノ酸	F111	W275			M256	I265	D260
	E121	Y284					
	E153						
	N154						

網掛けは変異により欠損するアミノ酸を、下線太字は変異により獲得されるアミノ酸を示す。

ると予想される。

表2には先に挙げた、7つのミスセンス変異によるアミノ酸相互作用の変化を示した。その結果、患者から同定された7つのミスセンス変異の全てで、アミノ酸同士の相互作用が失われることが明らかになった。この様に、AlphaFold2を利用することによって、分子間相互作用に加えて、タンパク質の立体構造変化への影響も考察可能となる。AlphaFold2によるタンパク質の立体構造予測は、研究対象とするタンパク質と新薬候補分子との相互作用を理解する上で有益であり、創薬開発でも必要不可欠な情報を提供できるであろう。

VI 発達障害モデルとしての CASK 欠損マウスの神経行動解析

CASK 遺伝子は発達障害のリスク遺伝子としても知られており、Simon Foundation の自閉スペクトラム症関連ゲノムデータベース (<https://gene.sfari.org/>) にも掲載されている。しかしながら、CASK 遺伝子欠損マウスでは神経機能や社会行動はほとんど解析されていなかったため、我々は、CASK ヘテロ欠損マウスの神経機能および行動特性の解明を目指した。CASK ヘテロ欠損マウスでは、XCI により CASK 遺伝子を発現する神経細胞と発現しない神経細胞が混在している。我々は、単一神経細胞の遺伝子発現様式と神経伝達様式を同時に解析することで、2種類の遺伝型を持つ神経細胞が混在する、女性に特有な神経回路を研究する手法を確立した¹⁸⁾。その結果、CASK 遺伝子を発現しない神経細胞はより多くの興奮性神経伝達を受け一方で、抑制性神経伝達が半分程度に低下することが明らかになった。さらに我々は、この興奮性と抑制性神経伝達の変化に CASK タンパク質の GuK ドメインが関与すること、GuK ドメインが転写因子と結合して

GluN2B の発現量を調節することで、神経伝達の興奮抑制バランスが決まることを明らかにした (図7)。

自閉スペクトラム症の行動的特徴の一つは社会性の低下であるが、マウスは他のマウス個体が提示された時に、その個体と接触し追跡するという社会行動を示す。そこで我々は CASK 遺伝子の発現を低下させたマウス (CASK 発現低下マウス) を用いて、他個体との接触時間を解析した。野生型マウスでは、これまでに対面した経験のない新規マウスと積極的に接触し、接触時間が長くなる傾向がある。しかし CASK 発現低下マウスは他個体との接触を避ける傾向が見られ、CASK 遺伝子の機能不全が社会性を低下させることを見出した²²⁾。

このようなマウスの行動解析は、マウスの行動をビデオ撮影し、撮影されたビデオを見た観察者が動物の行動を逐次記録するという古典的な手法で解析されてきた。近年、深層学習を利用した画像解析技術が発達したことで、ビデオに写った鼻や耳などのマウスの微細領域も自動で判別することが可能になっている。そのような AI アルゴリズムの1つである DeepLabCut²³⁾ は、観察者が指定した画像の特徴を機械学習することで、観察者と同等の精度で体の領域や行動特徴を判別可能なアルゴリズムを確立できる。我々は DeepLabCut を用いて、マウスの行動様式を解析するアルゴリズムを確立し、それを用いることでマウスの社会行動を解析するシステムの開発に成功した (図8A)²⁴⁾。そしてこの行動解析 AI システムを活用することで、妊娠期にニコチンに暴露されたマウスが自閉症でみられる社会性の低下を示すことを明らかにした (図8B, C)²⁴⁾。この手法の利点は、行動評価に影響する観察者の認知バイアス (思い込み) を完全に排除し、かつ、短時間で解析できることである。本稿では DeepLabCut を

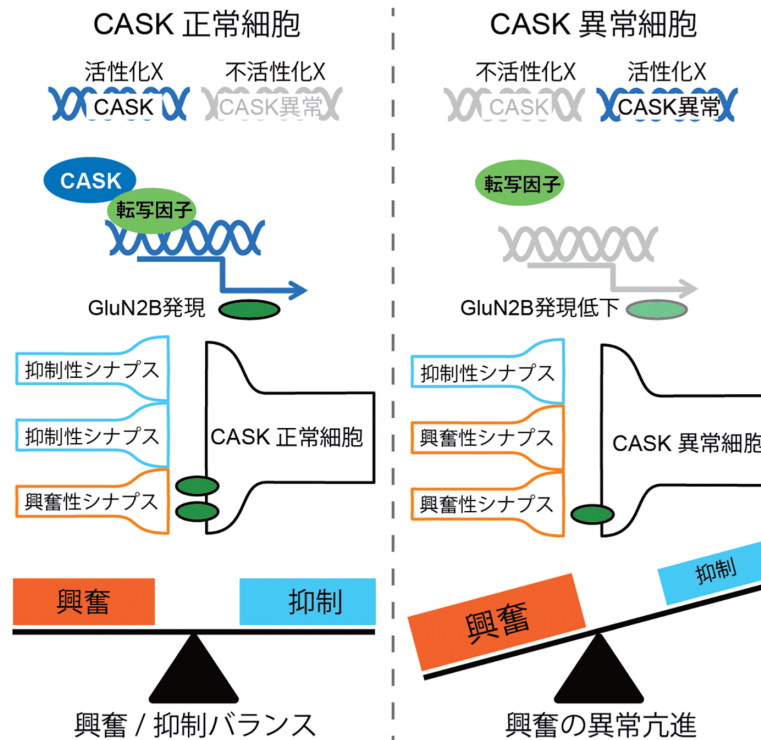


図7 CASK 正常細胞と異常細胞のシナプスバランスを生み出すメカニズム

CASK 正常細胞では変異していない CASK 遺伝子をもつ X 染色体が活性化され続けており、CASK タンパク質が産生される。CASK は転写因子 TBR1 と結合し、GluN2B の発現を誘導する。適量の GluN2B によって興奮性シナプスと抑制性シナプスのバランスが成立している。CASK 異常細胞では、CASK タンパク質が作られないため、GluN2B の発現が低下し、興奮性シナプスが増え、抑制性シナプスが減る。(文献18より引用、筆者改変)

マウスの行動解析に活用した例を紹介したが、この手法はマウスに限らず人が写ったビデオでも解析できることは特筆すべきであろう。熟練者によって判定されていた患者に特徴的な動作や行動を、AI が自動で判定できるシステムを構築することも可能である。これらの AI 技術を活用し、診断に役立つ情報を提供するシステムを開発することで、医療現場の負担が軽減できると期待している。

Ⅶ 最 後 に

昨今の医学生物学研究では、複数の研究手法を組み合わせた解析が要求される傾向が強まっている。限られた人的資源の中で、全ての手法を用いて研究を進めることには限界がある。この限界を突破するために、分子メカニズムやマウスの行動を解析する AI 技術の活用が世界中で進められている。本稿では、遺伝子変

異様式の同定、タンパク質、神経回路、個体の社会行動など多階層にわたる CASK 異常症の研究を紹介し、その研究過程で活用した AI 技術の導入事例を紹介してきた。既に AI 技術を用いた病理組織の画像解析などが一般的になっている様に、これらの AI 技術が医学研究や医療現場に導入されることは想像に難くない。本稿が、AI 技術導入の足掛かりとなれば幸いである。

謝 辞：本総説は、筆者が信州大学医学部分子細胞生理学教室での研究成果を中心としてまとめたものである。特に教室責任者の田渕克彦先生には研究実施の機会を与えていただき、その遂行にあたり終始ご指導いただいた。ここに深く感謝いたします。本研究成果は、本研究は JSPS 科研費 JP21K07293, JP21H05685 およびてんかん治療研究財団の助成を受けて得られたものである。

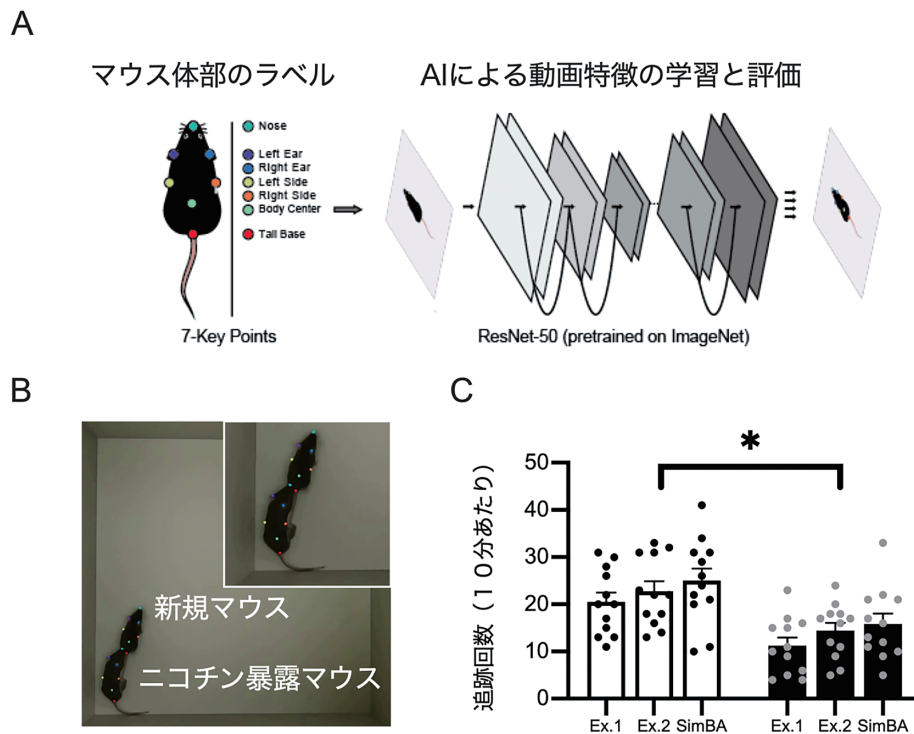


図8 AIを用いたマウスの行動解析

(A), DeepLabCut を用いたマウス体部のラベリング。実験者がビデオから抽出された画像に対して、ラベルしたい体部を指定する。実験者が指定したラベルを教師データとして DeepLabCut が画像特徴を学習する。(B), 学習されたネットワークによって、妊娠期にニコチンに暴露されたマウスと新規マウスの体部が正確にラベルされた例。(C), このラベルデータを用いることで、野生型マウス（白色棒グラフ）と比較してニコチン暴露マウス（黒色棒グラフ）が他個体を追跡しないことが明らかになった。（文献24より引用，筆者改変）

文 献

- 1) Dimitratos SD, Stathakis DG, Nelson CA, Woods DF, Bryant PJ: The location of human CASK at Xp11.4 identifies this gene as a candidate for X-linked optic atrophy. *Genomics* 51: 308-309, 1998
- 2) Froyen G, Van Esch H, Bauters M, et al: Detection of genomic copy number changes in patients with idiopathic mental retardation by high-resolution X-array-CGH: important role for increased gene dosage of XLMR genes. *Hum Mutat* 28: 1034-1042, 2007
- 3) Hayashi S, Mizuno S, Migita O, et al: The CASK gene harbored in a deletion detected by array-CGH as a potential candidate for a gene causative of X-linked dominant mental retardation. *Am J Med Genet A* 146: 2145-2151, 2008
- 4) Najm J, Horn D, Wimplinger I, et al: Mutations of CASK cause an X-linked brain malformation phenotype with microcephaly and hypoplasia of the brainstem and cerebellum. *Nat Genet* 40: 1065-1067, 2008
- 5) Piluso G, D'Amico F, Saccone V, et al: A missense mutation in CASK causes FG syndrome in an Italian family. *Am J Hum Genet* 84: 162-177, 2009
- 6) Hackett A, Tarpey PS, Licata A, et al: CASK mutations are frequent in males and cause X-linked nystagmus and variable XLMR phenotypes. *Eur J Hum Genet* 18: 544-552, 2010
- 7) Saitsu H, Kato M, Osaka H, et al: CASK aberrations in male patients with Ohtahara syndrome and cerebellar hypoplasia. *Epilepsia* 53: 1441-1449, 2012
- 8) Hayashi S, Uehara DT, Tanimoto K, et al: Comprehensive investigation of CASK mutations and other genetic etiologies in 41 patients with intellectual disability and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia (MICPCH). *PLoS*

One 12 : e0181791, 2017

- 9) Mustroph J, Sag CM, Bähr F, et al : Loss of CASK Accelerates Heart Failure Development. *Circ Res* 128 : 1139-1155, 2021
- 10) Wei JL, Fu ZX, Fang M, et al : High expression of CASK correlates with progression and poor prognosis of colorectal cancer. *Tumour Biol* 35 : 9185-9194, 2014
- 11) Mori T, Zhou M, Tabuchi K : Diverse Clinical Phenotypes of CASK-Related Disorders and Multiple Functional Domains of CASK Protein. *Genes* 14 : 1656, 2023
- 12) Hata Y, Butz S, Südhof TC : CASK : a novel dlg/PSD95 homolog with an N-terminal calmodulin-dependent protein kinase domain identified by interaction with neurexins. *J Neurosci* 16 : 2488-2494, 1996
- 13) Mukherjee K, Sharma M, Urlaub H, et al : CASK Functions as a Mg^{2+} -independent neurexin kinase. *Cell* 133 : 328-339, 2008
- 14) LaConte LE, Chavan V, Mukherjee K : Identification and glycerol-induced correction of misfolding mutations in the X-linked mental retardation gene CASK. *PLoS One* 9 : e88276, 2014
- 15) Hsueh YP, Yang FC, Kharazia V, et al : Direct interaction of CASK/LIN-2 and syndecan heparan sulfate proteoglycan and their overlapping distribution in neuronal synapses. *J Cell Biol* 142 : 139-151, 1998
- 16) Maximov A, Südhof TC, Bezprozvanny I : Association of neuronal calcium channels with modular adaptor proteins. *J Biol Chem* 274 : 24453-24456, 1999
- 17) Hsueh YP, Wang TF, Yang FC, Sheng M : Nuclear translocation and transcription regulation by the membrane-associated guanylate kinase CASK/LIN-2. *Nature* 404 : 298-302, 2000
- 18) Mori T, Kasem EA, Suzuki-Kouyama E, et al : Deficiency of calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase disrupts the excitatory-inhibitory balance of synapses by down-regulating GluN2B. *Mol Psychiatry* 24 : 1079-1092, 2019
- 19) Guo Q, Kouyama-Suzuki E, Shirai Y, et al : Structural Analysis Implicates CASK-Liprin- $\alpha 2$ Interaction in Cerebellar Granular Cell Death in MICPCH Syndrome. *Cells* 12 : 1177, 2023
- 20) Jumper J, Evans R, Pritzel A, et al : Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* 596 : 583-589, 2021
- 21) Mirdita M, Schütze K, Moriwaki Y, Heo L, Ovchinnikov S, Steinegger M : ColabFold : making protein folding accessible to all. *Nat Methods* 19 : 679-682, 2022
- 22) Cao X, Qiu W, Pang B, et al : Inhibition of CASK Expression by Virus-mediated RNA Interference in Medial Prefrontal Cortex Affects Social Behavior in the Adult Mouse. *Shinshu Med J* 69 : 45-52, 2021
- 23) Mathis A, Mamidanna P, Cury KM, et al : DeepLabCut : markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning. *Nat Neurosci* 21 : 1281-1289, 2018
- 24) Zhou M, Qiu W, Ohashi N, et al : Deep-Learning-Based Analysis Reveals a Social Behavior Deficit in Mice Exposed Prenatally to Nicotine. *Cells* 13 : 275, 2024

(R 6 . 2 . 9 受稿)