

【目的】ミトコンドリアと小胞体の膜同士が近接した領域（mitochondria-associated membrane : MAM）は、細胞の機能維持に重要なマイクロドメインとして、近年、ATP 合成やオートファジーの制御など、様々な機能が明らかにされていた。著者は、これまでの MAM の機能的・構造的な破綻が筋萎縮性側索硬化症（ALS）で広く共通した病態であるという知見をもとに、新規の MAM の維持機構について分子レベルで明らかにすることを目指した。

【方法】本研究では、まず MAM 特異的タンパク質で MAM の維持に必須である $\sigma 1$ 受容体（Sig1R）と相互作用するタンパク質としてミトコンドリア膜タンパク質 ATAD3A を同定した。次に、ATAD3A の部分欠損変異体を作製し、共免疫沈降法によって Sig1R との相互作用に必須の分子内ドメインを同定した。また、独自に開発した MAM の定量評価系である MAMtracker-Luc（Sakai et al., *FASEB J in press*）と作製した ATAD3A 部分欠損変異体を用いて、細胞内の MAM 量に影響を与える領域についても同定した。さらに、生体内での ATAD3A と Sig1R の相互作用の破綻が及ぼす影響を Sig1R 欠損マウスおよび ALS モデルマウスである変異 SOD1 マウスで検討を行った。

【結果】ATAD3A と Sig1R の相互作用は、ATAD3A の N 末端側に存在する二つの Coiled-Coil ドメイン（CC1、CC2）に依存していた。これは N 末端側がミトコンドリア外膜側に局在するとする先行研究と一致していた。興味深いことに、ATAD3A の野生型は非常に強く MAM の形成を誘導した一方、CC1、CC2、AAAATPase ドメイン（AAA）のいずれを欠損しても MAM の誘導はされなくなった。そこで、各部分欠損変異体を HEK293 細胞に発現させて細胞内における局在を観察した結果、野生型と CC1 または CC2 の欠損変異体はミトコンドリアに局在した一方、AAA 欠損変異体は小胞体に局在することが明らかとなった。また、野生型マウス脊髄と Sig1R 欠損マウス脊髄また ALS モデルマウスである変異 SOD1 マウスで比較したところ、意外なことに ATAD3A の発現量や局在に大きな変化は見られなかった。しかし、ハンチントン病モデルで報告があった ATAD3A のオリゴマー化について、先行研究と同様の方法で検討を行った結果、これらのマウス脊髄においては ATAD3A のオリゴマー化が有意に促進されていることが明らかとなった。以上の結果、まず、1. ATAD3A は N 末端側の Coiled-Coil ドメインを介して小胞体膜タンパク質と相互作用することによって、MAM の増強に寄与していることが判明した。また、2. Sig1R は ATAD3A の異常なオリゴマー化の抑制に重要であり、MAM の破綻は ATAD3A の異常なオリゴマー化の促進を介しても神経細胞に対して毒性的に作用する可能性が示唆された。

本研究により明らかとなった ATAD3A と Sig1R の相互作用の概念図

