

ヒト血管内皮細胞におけるCLDND1の転写はmyeloid zinc finger 1により 調節される

志摩亜季保、松岡浩史、濱島崇寛、山岡愛主、古賀雄太郎、道原明宏

BPB Reports, 3(6), 190-195 (2020).

Transcription of CLDND1 is Regulated Mainly by the Competitive Action of MZF1 and SP1 that Binds to the Enhancer of the Promoter Region

Akiho Shima, Hiroshi Matsuoka, Takahiro Hamashima, Alice Yamaoka, Yutaro Koga, and
Akihiro Michihara

ABSTRACT Increased permeability of vascular endothelial cells in the brain is an underlying cause of stroke, which is associated with high mortality rates worldwide. Vascular permeability is regulated by tight junctions (TJs) formed by claudin family and occludin proteins. In particular, increased vascular permeability is associated with decreased claudin domain-containing 1 (CLDND1) expression, which belongs to the TJs family. We previously reported that myeloid zinc finger 1 (MZF1) acts as an activator of CLDND1 expression by binding to its first intron. Several transcription factors regulate transcription by acting on the promoter regions of target genes. However, transcription factors acting on the promoter of CLDND1 are not completely elucidated. Thus, we focused on the promoter region of human CLDND1 to identify factors that could regulate its transcription. Reporter analysis of CLDND1 promoter region revealed an enhancer in the -742/-734 region with MZF1 and specificity protein 1 (SP1) binding sites. Chromatin immunoprecipitation assays confirmed that both MZF1 and SP1 could bind to CLDND1 enhancer region. MZF1 overexpression significantly increased CLDND1 expression, whereas overexpression of SP1 had no effect. Moreover, the identified enhancer region exhibited stronger transcriptional and binding capacity than the first intron. Thus, CLDND1 expression is more strongly regulated by competitive action of MZF1 and SP1 binding to the promoter-enhancer region than the first intron silencer region. These results provide novel insights for the development of potential therapies and preventive strategies for stroke in the future.

抄録 脳血管内皮細胞の透過性亢進は血管浮腫を引き起こし、脳卒中を発症する要因となる。血管透過性は、クローディンファミリーとオクルディンにより形成されるタイトジャンクションによって調節されている。特に、脳における血管透過性の亢進はクローディンファミリーに属する CLDND1 の発現減少と関連している。以前、MZF1 が第 1 イントロンに結合し、アクチベーターとして作用することを報告した。多くの転写因子は標的遺伝子のプロモーター領域に作用することで転写を調節している。しかし、CLDND1 のプロモーター領域に作用する転写因子は十分に解明されていない。そこで本研究では、CLDND1 のプロモーター領域に着目し、転写を調節する転写因子の同定を試みた。CLDND1 プロモーター領域を用いたレポーター解析の結果、-742/-734 の領域にエンハンサーがあり、MZF1 結合領域への MZF1 応答性が示された。クロマチン免疫沈降法の結果、その領域への MZF1 と SP1 の結合が示された。MZF1 の過剰発現によって CLDND1 発現の有意な増加が示された。一方で、SP1 の過剰発現においては CLDND1 発現に有意な差は示されなかった。さらに、同定したプロモーター内のエンハンサー領域は、以前に報告した第 1 イントロン内の領域よりも強い結合および転写能力を示した。したがって、CLDND1 発現は、第 1 イントロンのサイレンサーよりもプロモーターのエンハンサー領域に結合する MZF1 と SP1 の競合作用により強く調節される。これらの結果は、将来、新たな脳卒中の治療および予防法に応用できる可能性がある。