

# ヒト脳血管内皮細胞において ROR $\alpha$ 核内受容体は タイトジャンクションタンパク質 CLDND1 の mRNA 発現を増加させる

松岡浩史、志摩亜季保、宇田有沙、江崎洋貴、道原明宏

*J. Biochem.*, **161**, 441-450 (2017)

## **The retinoic acid receptor-related orphan receptor $\alpha$ positively regulates tight junction protein claudin domain-containing 1 mRNA expression in human brain endothelial cells**

Hiroshi Matsuoka, Akiho Shima, Arisa Uda, Hirotaka Ezaki,  
and Akihiro Michihara

**ABSTRACT:** Members of the claudin family play important roles in the formation of tight junctions (TJs) in several tissues. Claudin domain containing 1 (CLDND1) is homologous to this family and localizes to TJs and the cytoplasm when exogenously expressed in cultured epithelial cell lines. Furthermore, serum antibody levels of CLDND1-derived peptides are elevated in patients with cerebral infection, cardiovascular disease or diabetes mellitus as compared to healthy controls. However, CLDND1 transcriptional regulation remains poorly analyzed and most regional transcription factor binding sites remain to be defined. Notably, the CLDND1 promoter contains a putative response element for retinoic acid receptor-related orphan receptor  $\alpha$  (ROR $\alpha$ ), which is involved in the above-mentioned disorders. In this study, we found that *Cldnd1* and *Rora* mRNA levels are correlated in rat tissues and that ROR $\alpha$  overexpression in human brain endothelial cells enhanced CLDND1 transcript expression. In addition, siRNA-mediated knockdown of ROR $\alpha$  significantly decreased CLDND1 transcription. An electrophoresis mobility shift assay indicated that ROR $\alpha$  binds to the identified response element in a sequence-specific manner. Furthermore, luciferase reporter assays confirmed that ROR $\alpha$  interacts with the CLDND1 promoter to enhance transcription. Taken together, our findings strongly suggest that CLDND1 is a direct ROR $\alpha$  target.

抄録 クローディングファミリーのメンバーは、タイトジャンクションの形成に重要な役割をもつ。CLDND1 はクローディングファミリーと相同性があり、培養細胞による過剰発現系において、タイトジャンクションや細胞質への局在が示されている。さらに、血管疾患においては、血清中の抗体レベルの増加が観察されている。しかし、CLDND1 の転

写調節の詳細は不明である。CLDND1 プロモーターには、血管疾患に関わる転写因子 ROR  $\alpha$  の推定上の応答配列が存在する。本研究では、CLDND1 と ROR  $\alpha$  のラット組織分布の相関性解析、ROR  $\alpha$  の過剰発現系及び siRNA ノックダウン系、ゲルシフトアッセイ、ルシフェラーゼレポーター解析により、ROR  $\alpha$  が CLDND1 転写を直接的に活性化することを示した。