

ROR α 核内受容体はCYP39A1イントロン応答配列の活性化を通じて24S-ヒドロキシコレステロールの代謝を制御する

松岡浩史、片山未由、大石亜美、宮薫子、徳永史紀、小林創、西本裕也、広岡和丈、志摩亜季保、道原明宏

International Journal of Molecular Sciences, **21**(9), 3309 (2020).

Orphan Nuclear Receptor ROR α Regulates Enzymatic Metabolism of Cerebral 24S-Hydroxycholesterol through CYP39A1 Intronic Response Element Activation

Hiroshi Matsuoka, Miyu Katayama, Ami Ohishi, Kaoruko Miya, Riki Tokunaga, Sou Kobayashi, Yuya Nishimoto, Kazutake Hirooka*, Akiho Shima, and Akihiro Michihara

ABSTRACT Oxysterols, important regulators of cholesterol homeostasis in the brain, are affected by neurodegenerative diseases. Early-onset Alzheimer's disease is associated with higher levels of circulating brain-derived 24S-hydroxycholesterol (24S-OHC). Conversion of cholesterol to 24S-OHC is mediated by cholesterol 24S-hydroxylase in the brain, which is the major pathway for oxysterol elimination, followed by oxidation through hepatic first-pass metabolism by CYP39A1. Abnormal CYP39A1 expression results in accumulation of 24S-OHC, influencing neurodegenerative disease-related deterioration; thus, it is important to understand the normal elimination of 24S-OHC and the system regulating CYP39A1, a selective hepatic metabolic enzyme of 24S-OHC. We examined the role of transcriptional regulation by retinoic acid receptor-related orphan receptor α (ROR α), a nuclear receptor that responds to oxysterol ligands. In humans, the promoter and first intronic regions of CYP39A1 contain two putative ROR α response elements (ROREs). ROR α binding and responses of these ROREs were assessed using electrophoretic mobility shift, chromatin immunoprecipitation, and luciferase reporter assays. CYP39A1 was upregulated by ROR α overexpression in HEK293 cells, while ROR α knockdown by siRNA significantly downregulated CYP39A1 expression in human hepatoma cells. Additionally, CYP39A1 was induced by ROR α agonist treatment, suggesting that CYP39A1

expression is activated by ROR α nuclear receptors. This may provide a way to increase CYP39A1 activity using ROR α agonists, and help halt 24S-OHC accumulation in neurodegenerative illnesses.

抄録 脳内のコレステロール恒常性の重要な因子であるオキシステロールは、神経変性疾患に影響を与える。早期発症型アルツハイマー病は、脳由来の 24S-ヒドロキシコレステロール (24S-OHC) レベルと関連している。コレステロールの 24S-OHC への変換は、脳内のコレステロール 24S-ヒドロキシラーゼによって触媒され、その後、肝臓の CYP39A1 により代謝される。CYP39A1 の異常な発現は、24S-OHC 蓄積を生じ、神経変性疾患の悪化に影響を及ぼす。したがって、24S-OHC の除去と、24S-OHC の代謝酵素である CYP39A1 の調節機構を理解することは重要である。オキシステロールリガンドに応答する核内受容体であるレチノイン酸受容体関連オーファン受容体 α (ROR α) による CYP39A1 転写調節について解析した。ヒト CYP39A1 のプロモーターと第 1 イントロン領域には、2 つの推定 ROR α 応答エレメント (RORE) が存在した。これらの RORE への ROR α 結合性と応答性は、電気泳動移動度シフト、クロマチン免疫沈降およびルシフェラーゼレポーターアッセイにより評価した。CYP39A1 は、HEK293 細胞における ROR α 過剰発現によって正に調節され、HepG2 細胞における ROR α ノックダウンによって負に調節された。さらに、CYP39A1 は ROR α アゴニスト処理によって発現誘導された。これらの結果、ROR α アゴニストを用いて CYP39A1 活性を増加させる手法の確立により、神経変性疾患における 24S-OHC 蓄積の抑制に役立つ可能性がある。

* Faculty of Life Science and Biotechnology, Fukuyama University

福山大学生命工学部