

ロバスタチンはヒト肝細胞においてCLDND1の転写調節を抑制する

志摩亜季保、松岡浩史、宮薫子、道原明宏

BPB Reports, 3(4), 113-118 (2020).

Lovastatin Suppresses the Transcriptional Regulation of CLDND1 in Human Hepatoma Cells

Akiho Shima, Hiroshi Matsuoka, Kaoruko Miya, and Akihiro Michihara

ABSTRACT Claudin family proteins play an important role in the formation of tight junctions in several tissues. Individual claudins display organ- and tissue-specific expression. Claudin domain containing 1 (CLDND1), also known as claudin 25 (CLDN25), is a homolog of the claudin family, and its expression was reported to be downregulated in a mouse model of cerebellar hemorrhage. We have also reported that the retinoic acid receptor-related orphan receptor α (ROR α) is involved in the transcriptional activation of CLDND1 by binding to the ROR α responsive element (RORE) in the CLDND1 promoter region. Cholesterol and its derivative oxysterol reportedly serve as ligands for the nuclear receptor ROR α . However, the effect of cholesterol on CLDND1 expression is unclear. The present study aimed to evaluate the effect of inhibiting steroid synthesis via lovastatin on ROR α -mediated CLDND1 transcriptional regulation. Chromatin immunoprecipitation and luciferase reporter assays revealed that ROR α -mediated transcriptional regulation of CLDND1 was suppressed upon lovastatin treatment of HepG2 cells; however, this inhibitory effect was attenuated by supplementation with cholesterol. Furthermore, quantitative reverse transcription-PCR and immunoblotting analyses revealed the downregulated expression of CLDND1 mRNA and protein in HepG2 cells upon lovastatin treatment with no parallel changes in ROR α mRNA and protein levels. These results confirm that cholesterol serve as ligands for ROR α and are, therefore, involved in the activation of CLDND1 transcriptional regulation by ROR α .

抄録 ローディンファミリーは、密着結合を形成する重要な役割を担っており、組織特異的な発現を示す。CLDN25 としても知られる CLDND1 は、小脳出血モデルマウスにおいて発現低下が報告されている。また、我々は、核内受容体 ROR α が CLDND1 のプロモーター領域に存在する ROR α 応答配列 (RORE) に結合し、CLDND1 の転写を活性化させることを報告してきた。コレステロールやオキシステロールは、ROR α のリガンドとして作用することが明らかにされている。しかし、CLDND1 の転写調節に対するコレステロールの影響は不明である。本研究では、ROR α を介した CLDND1 の転写調節に対するコレステロールの影響をロバスタチンにより検討した。肝培養細胞を用いたロバスタチン処理において、CLDND1-RORE に対する ROR α の結合性および応答性を評価した。その結果、ロバスタチン処理により ROR α を介した CLDND1 の転写調節が抑制された。また、ロバスタチンにより抑制された転写調節は、コレステロールの添加により一部回復した。さらに、ロバスタチン処理により ROR α と CLDND1 の発現量を評価した。その結果、CLDND1 の発現量のみ低下していることが示された。以上の結果、ロバスタチンによるコレステロール類の低下は、CLDND1 の発現調節に対して抑制的に作用することが示唆された。