

哺乳類胚栄養膜細胞における

Hippo 経路エフェクター因子 YAP/TAZ の動態制御

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 遺伝繁殖学 山村 頌太

1. はじめに

胚盤胞期胚の移植は、遺伝的に優秀なウシを作出するために頻用される繁殖技術であり、その効率を高めるためには、胚盤胞期胚の発生メカニズムの理解が重要となる。胚盤胞期胚は栄養外胚葉 (TE) および内部細胞塊 (ICM) の 2 種の細胞系列に分化した状態である。哺乳類胚において、TE/ICM の分化を制御する機構として Hippo 経路が重要である。Hippo 経路は、エフェクター因子である YAP/TAZ の細胞内局在を制御するリン酸化連鎖反応の一つである。TE に分化する細胞では Hippo 経路は不活性であり、この状態では YAP/TAZ が核に局在する。核内の YAP/TAZ は *CDX2* の発現を誘導し、TE 分化を進行させる。このように TE/ICM 細胞系列の確立のために必須な Hippo 経路エフェクター分子 YAP/TAZ の動態制御であるが、TE/ICM への分化後の YAP/TAZ の細胞内局在の制御機構は全くわかっていない。一方で、体細胞における知見で、核の形状と YAP の細胞内局在の関連性が指摘されている。そこで、胚盤胞期胚における胞胚腔の拡張と収縮 (ポンピング) により TE の核の形状への影響を調べるとともに、核の形状と YAP の細胞内局在の関連を調べた。

2. 方法

TE の核の形状と YAP の細胞内局在の関連を明らかにすべく、胚盤胞期まで培養したウシ胚から、ポンピング拡張期および収縮期の胚を用意し、ヘキスト染色により核の形態を調べ、YAP/CDX2 の免疫染色により TE における YAP の細胞内局在を評価した。核の形態は、胚の最外周に位置する TE 細胞の断面画像において、各々の長軸と短軸の比を計測することで評価した。さらに、拡張期のウシ胚盤胞期胚に対して、顕微操作により胞胚腔液を吸引することで、人工的に収縮期の胚を模した胚 (吸引胚) を作出し、同様に核の形態と TE における YAP の細胞内局在を評価した。

3. 結果と考察

ポンピング拡張期の胚において YAP が TE の核で優勢だったのに対し、収縮期の胚において YAP は TE の細胞質で優勢だった。しかし、TE における *CDX2* の核内局在は維持されていた。さらに吸引胚の TE 細胞の核の形態は、吸引直後の胚および吸引後 30 分培養した胚において球状に近づいた。それに伴うように、吸引後 30 分および 1 時間培養した胚において、TE 細胞質で優勢な YAP 局在を観察した。また、吸引後 3 時間経過すると、TE 細胞核内で優勢な YAP 局在に再転換した。一連の結果から、TE 細胞核の形状が YAP の細胞内局在を制御していると考えられた。

4. 結論

本研究により、哺乳類胚の胚盤胞期以降の発生ステージにおいて、核の形状が TE における YAP の細胞内局在を制御することが初めて示された。