

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22615

研究課題名(和文) 胚体外細胞系譜を規定するヒト特異的Hippo-YAPシグナルの役割の解明

研究課題名(英文) Investigation of the role of Hippo-YAP signals regulating extraembryonic lineages

研究代表者

柴田 峻 (Shibata, Shun)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：40885670

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：胚体外細胞系譜の運命決定や維持へのHippo-YAPシグナルの役割を検討した。YAPは、ヒト naïve 型ES細胞では核および細胞質に、ヒトTS細胞では主に核に局在した。次に、ES-TS細胞分化転換過程におけるYAPの局在を解析したところ、栄養膜系譜のマーカーであるGATA3陽性細胞において、YAPの核移行が顕著であった。さらに、YAP-TEAD阻害剤verteporfinの濃度依存的に、ヒトTS細胞の細胞増殖が抑制された。以上により、ヒトES細胞から胚体外系譜への分化やTS細胞の維持にYAPの関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト受精卵から内部細胞塊(ICM)と栄養外胚葉(TE)に細胞系譜は分離し、胚盤胞が形成される。マウスの場合、ICMとTEの運命決定にHippo-YAPシグナルが関与することが知られる。しかしヒトの場合、Hippo-YAPシグナルの関与を含め、ICMとTEの運命決定機構の詳細は明らかでない部分が多い。本研究では、ヒト胚性幹(ES)細胞や栄養膜幹(TS)細胞等を活用し、運命決定機構や栄養膜系譜維持へのHippo-YAPシグナルの関与を示した。本研究成果は、ヒト初期発生機構の分子機序の理解の一助となり得ると期待する。

研究成果の概要(英文)：We investigated the involvement of Hippo-YAP signaling in the fate determination and maintenance of extraembryonic lineages using human stem cell lines. Immunostaining results showed that YAP localized in the nucleus and cytoplasm in human naive ES cells. In human TS cells, YAP was predominantly localized in the nucleus. We also analyzed localization of YAP during ES-TS cell trans-differentiation. Decreased expression of OCT4 and nuclear translocation of YAP were confirmed over time. Moreover, the nuclear translocation of YAP was prominent in GATA3, a maker of trophoblast lineage, -positive cells. Furthermore, YAP-TEAD inhibitor verteporfin inhibited cell proliferation of human TS cells in a concentration-dependent manner. These results suggest the involvement of YAP in the differentiation of human ES cells into extraembryonic lineage and the maintenance of TS cells.

研究分野：分子生物学

キーワード：ヒトTS細胞 Hippo-YAPシグナル

1. 研究開始当初の背景

胎児の細胞に分化する能力を有する胚性幹細胞 (ES 細胞) は、胚盤胞の内部細胞塊 (ICM) より樹立される。一方、栄養膜幹細胞 (TS 細胞) は、栄養外胚葉 (TE) より樹立される (図 1)。ICM と TE は、受精後に最初に分化が起こり、それぞれ全く異なる細胞系譜を辿る。マウスの場合、ICM と TE の細胞運命決定には、Hippo-YAP シグナル経路が関与することが知られている [1]。ICM では Hippo シグナルが機能し、YAP は細胞質に局在するが、TE では機能せず、YAP が核内へ移行し、胎盤へと誘導する転写因子 Cdx2 の発現を促進することが報告されている。一方ヒトの場合、ICM においても YAP は核に局在し、TE での CDX2 の発現も低い [2]。従って、Hippo-YAP シグナルによる ICM と TE における Hippo-YAP シグナルの役割の制御機構が、種や発生の時期によってヒトとマウスで異なることが示唆される。しかしながら、ヒトにおける胎盤発生の運命決定機構と Hippo-YAP シグナル経路の役割については、未だ明らかではない

2. 研究の目的

本研究の目的は、ヒト胚体外細胞系譜の運命決定および維持における Hippo-YAP シグナル経路の関与を明らかにすることである。そのため、ヒト TS 細胞や ES 細胞から TS 細胞への分化転換法 (ES-TS) を用い、Hippo-YAP シグナルの関与や役割について明らかにする。ヒトの胚体外細胞系譜の運命決定に Hippo-YAP 経路がどのように関与するか、マウスとの種差などその違いはどのような生物学的な意義があるのか考察したい。

3. 研究の方法

- (1) 妊娠 3.5 日マウスの子宮より胚盤胞を取り出し、免疫染色にて YAP の局在を解析する。
- (2) ヒトナীব型 ES 細胞、TS 細胞、分化転換過程における ES 細胞由来細胞の YAP 等の局在を免疫染色法で解析する。
- (3) ヒト TS 細胞に、YAP 活性阻害剤である verteporfin を添加し、TS 細胞の細胞特性の変化を解析する。

4. 研究成果

(1) E3.5 マウスの胚盤胞では、先行研究と合致し YAP は ICM にて細胞質、TE にて核に局在することを確認した。

(2) YAP はヒトナীব型 ES 細胞では核および細胞質に、ヒト TS 細胞では主に核に局在した。次に、ES-TS 細胞分化転換過程における YAP の局在を解析したところ、経時的な多能性マーカーの OCT4 の発現減弱と YAP の核移行を認めた。また、栄養膜系譜のマーカーである GATA3 陽性細胞において、YAP の核移行が顕著であった (図 1)。

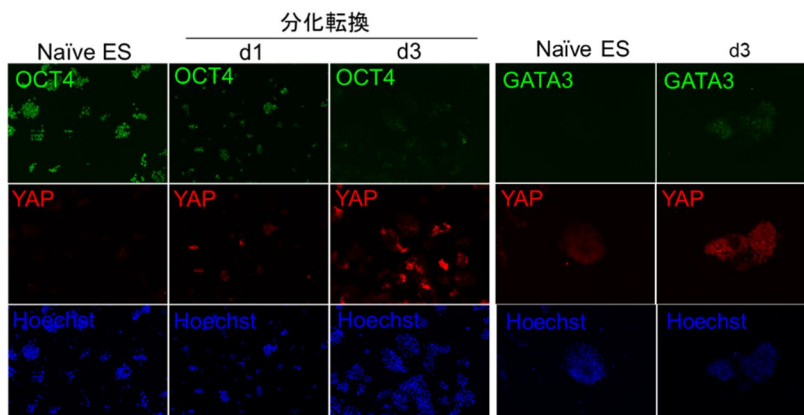


図 1 ES-TS 分化過程における初期胚マーカーと YAP の局在

(3) YAP-TEAD 阻 害 剤
verteporfin の濃度依存的
に、ヒト TS 細胞の細胞増殖
が抑制された。

以上により、ヒト ES 細胞か
ら胚体外系譜への分化や TS
細胞の維持に YAP の関与が
示唆された。

本研究では、倫理的にその
使用が制限されているヒト

胚について、ヒト胚性幹 (ES) 細胞や栄養膜幹 (TS) 細胞、さらには、ヒト ES 細胞から胚体外系譜への分化転換のモデル等を活用し、初期の運命決定機構や栄養膜系譜細胞の維持への Hippo-YAP シグナルの関与を示した。YAP は着床後も栄養膜細胞の幹細胞性の維持に関わり胎盤発生に重要な機能をもつことが示唆される [3]。ヒト初期胚を反映する細胞リソースの活用により、ヒトの初期発生における胚体外系譜細胞を規定する分子機序の理解が発展することを期待する。

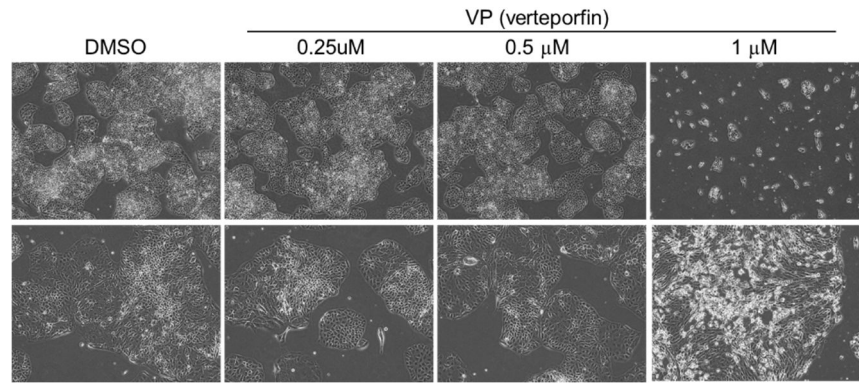


図 2 ヒト TS 細胞に対する YAP-TEAD 阻害剤 (verteporfin) の効果

<引用文献>

- [1] Nishioka N et al. The Hippo signaling pathway components Lats and Yap pattern Tead4 activity to distinguish mouse trophectoderm from inner cell mass. Dev Cell. 2009 Mar;16(3):398-410.
- [2] Qin H et al. YAP Induces Human Naive Pluripotency. Cell Rep. 2016 Mar 15;14(10):2301-12.
- [3] Meinhardt G et al. Pivotal role of the transcriptional co-activator YAP in trophoblast stemness of the developing human placenta. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020 Jun 16;117(24):13562-13570.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shibata Shun, Kobayashi Eri H., Kobayashi Norio, Oike Akira, Okae Hiroaki, Arima Takahiro	4. 巻 19
2. 論文標題 Unique features and emerging in vitro models of human placental development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 301 ~ 313
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/rmb2.12347	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------