

受精卵の発生過程における基本設計構築の仕組み

～細胞極性確立に伴う細胞分化機構の解明～

ポイント

- ・ 個体発生で最初に作られる胎盤細胞の派生の仕組みが判明。
- ・ 細胞の方向付けである細胞極性の確立が細胞分化への信号に変化する仕組みが明らかに。
- ・ 細胞極性あるいは細胞分化に関わる遺伝子は多様な生命現象に関与。

概要

北海道大学大学院農学研究院の川原 学准教授らの研究グループは、岡山大学農学部の若井拓哉准教授らの研究グループと共同で、受精卵の発生において胎子及び胎盤の細胞分化に重要な分子経路として知られている Hippo シグナルの調節に重要な足場タンパク質*1 の一種である NF2 の新しい役割を突き止めました。マウス初期胚発生において、NF2 タンパク質の細胞内局在を詳細に分析することで、細胞の方向性を決める細胞極性*2 の確立と NF2 タンパク質の局在が相互に関連することが判明し、受精卵の外側に位置する細胞の胎盤細胞への分化を調節する分子機構の一端が明らかになりました。

Hippo シグナルは、腫瘍形成、組織の恒常性維持、初期胚発生において、細胞の増殖と分化に重要な役割を果たしています。NF2 を含むエズリン-ラディキシン-モエシンファミリーの足場タンパク質は、細胞極性を介して Hippo シグナルを制御していることは知られていましたが、受精卵の発生過程で最初に役割が決定して分化していく外側に位置する細胞において、細胞極性を介してどのように Hippo シグナルが調節されているのか、その制御メカニズムは詳しく分かっていませんでした。本研究では NF2 タンパク質の一次構造に注目し、N 末端の 64 番目アミノ酸を置換した L64P-NF2 を作製し、この変異 mRNA を発現する受精卵における Hippo シグナルの主要分子 YAP1 の細胞内局在を評価することで、Hippo シグナル活性への影響を調べました。その結果、L64P-NF2 変異体では細胞膜周辺への局在が阻害され、外側の極性細胞において YAP1 局在が細胞質局在に変化しました。L64P-NF2 の発現はまた、外側の極性細胞における YAP1 リン酸化酵素である LATS2 とエズリンの頂端ドメイン*3 への局在化を阻害しました。これらの実験結果は、受精卵の外側細胞における NF2 の細胞内局在が、エズリンなどの細胞極性関連タンパク質の局在制御を介して Hippo シグナルを調節していることを示しています。本研究は、NF2、LATS2、そしてエズリンを含む細胞表面構成因子の秩序立った細胞内局在調節が、細胞極性確立過程において Hippo シグナルの調節に深く関わっていることを示す新たな知見となりました。Hippo シグナルは正常な細胞のがん化を防ぐシグナル伝達系としても注目されており、本研究の成果は受精卵の細胞分化機構の解明のみならず、細胞組織化を司る広範な生命現象を理解する上でも重要な研究成果といえます。

なお、本研究成果は、2024 年 7 月 30 日（火）公開の英国発生生物学誌 Development にオンライン掲載されました。

【背景】

哺乳類の受精卵は発生が進行すると、一部が将来胎盤を作る栄養外胚葉 (Trophectoderm : TE) *4 という細胞に分化します。この細胞分化に重要なのが Hippo シグナルの調節因子 YAP1 の細胞内局在です。外側に位置する細胞は、将来的には胎盤を形成する TE になりますが、Hippo シグナルは不活性化しており、YAP1 は核に局在することで TE 特異的遺伝子の転写を促進します。NF2 というタンパク質は胎盤以外の胎子を形成していく内側細胞における Hippo シグナル活性化に重要な役割を果たすことが知られていましたが、外側細胞においてどのような役割を果たしているのかは詳しく分かっていませんでした。一方、外側細胞においては内側細胞とは異なり、細胞内の成分が非対称に分布して方向性を持つ「細胞極性」が生じていることが、その後の細胞運命を決する重要な現象であることが分かっていました。本研究では、受精卵の外側細胞における細胞極性の確立過程において、NF2 タンパク質の細胞内局在が重要な役割を果たしているのではないかという仮説のもと、受精卵外側細胞における細胞分化決定機構の理解を深めることを目的に実施されました。

【研究手法】

野生型 NF2 と蛍光タンパク質である GFP の DNA を融合した NF2WT-GFP、あるいは NF2 の細胞膜局在に重要なドメイン内のアミノ酸ロイシンをプロリンに置換した変異体 NF2L64P-GFP を受精卵に発現させて、外側細胞における NF2 の細胞内局在を決定しました。また、YAP1 抗体で免疫染色を実施し Hippo シグナルの活性状態への影響を調べました。さらに、YAP1 リン酸化酵素である LATS2、NF2 と共同で働く AMOT や極性関連タンパク質エズリンについても細胞内局在を調べることで、細胞極性の確立に伴う NF2 及び Hippo シグナル関連分子の局在変化について明らかにしました。

【研究成果】

野生型 NF2WT-GFP の細胞内局在は細胞膜近傍で確認されました。ところが、変異体 NF2L64P-GFP は細胞質全体に局在しており、細胞膜近傍での強いシグナルは確認できないようになり、足場タンパク質としての NF2 の機能が失われてしまうことが分かりました (図 1)。また、この NF2 の局在変化によって、Hippo シグナルの調節分子である YAP1 の外側細胞での核局在が妨げられること、さらに、別の Hippo シグナル関連分子である足場タンパク質 AMOT の局在も変化することが判明しました。加えて、YAP1 のリン酸化調節を担う LATS2 が、受精卵外側細胞では他の細胞と接触を持たない頂端ドメインに局在し、これが Hippo シグナル不活性化及び胎盤細胞の分化を主働する CDX2 発現と関連していることも突き止めました。そして、これら頂端ドメインを有した細胞でみられる細胞の極性化に関連して、頂端ドメインに局在化するタンパク質エズリンの局在が NF2 の局在と関連していることも判明しました (図 2)。これらの実験結果から、これまで不明であった受精卵の外側細胞における細胞極性の進行と Hippo シグナルの不活性化の調節に NF2 が重要な役割を果たしていることが明らかになりました (図 3)。

【今後への期待】

受精卵の細胞分化は、役割未定の未分化状態から機能が確定して複雑な個体形成が達成される全過程である個体発生の根幹を担う重要な分子機構の端緒となります。なかでも、胎盤を形成する細胞は、最も早く受精卵から細胞分化によって作られる重要な細胞種です。本研究は、その胎盤の細胞が作られる分子機構を解明することにもつながる重要な研究成果となります。また、個体発生のみならず、広範な生命現象に重要な役割を果たす Hippo シグナルの理解が更に深まるものと期待されます。

論文情報

論文名 Hippo pathway inactivation through subcellular localization of NF2/merlin in outer cells of mouse embryos (マウス初期胚外側細胞における NF2 細胞内局在を介した Hippo 経路不活性化の仕組み)

著者名 合田菜な未¹(研究当時)、伊藤 維¹(研究当時)、齋藤 隼¹、鈴木 雅¹、唄 花子²、高橋昌志³、若井拓哉⁴、川原 学² (¹北海道大学大学院農学院、²北海道大学大学院農学研究院、³北海道大学大学院国際食資源学院、⁴岡山大学農学部)

雑誌名 Development (英国発生生物学誌)

DOI 10.1242/dev.202639

公表日 2024 年 7 月 30 日 (火) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院農学研究院 准教授 川原 学 (かわはらまなぶ)

T E L 011-706-2541 F A X 011-706-2541 メール k-hara@agr.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.agr.hokudai.ac.jp/r/lab/animal-genetics-and-reproduction>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

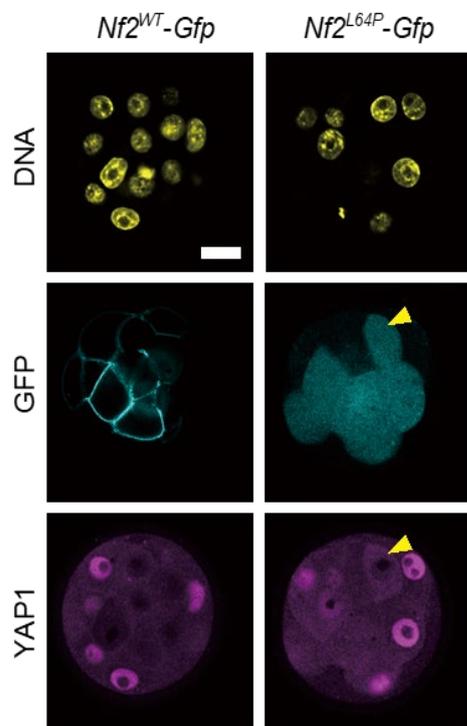


図 1. 外側細胞における NF2 局在が YAP1 核局在化に及ぼす影響

黄色矢尻: *Nf2^{L64P}-Gfp* 発現細胞における YAP1 核局在の低下を示す。

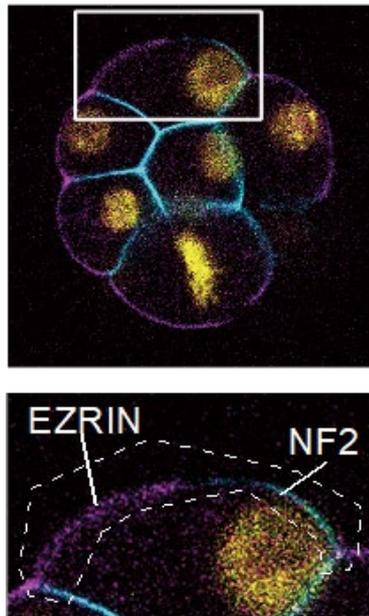


図 2. 外側細胞における NF2 局在が細胞極性関連タンパク質エズリン局在に及ぼす影響
 ピンク色の部分がエズリン (EZRIN)、青の部分が NF2。頂端ドメインで交互に発現している。

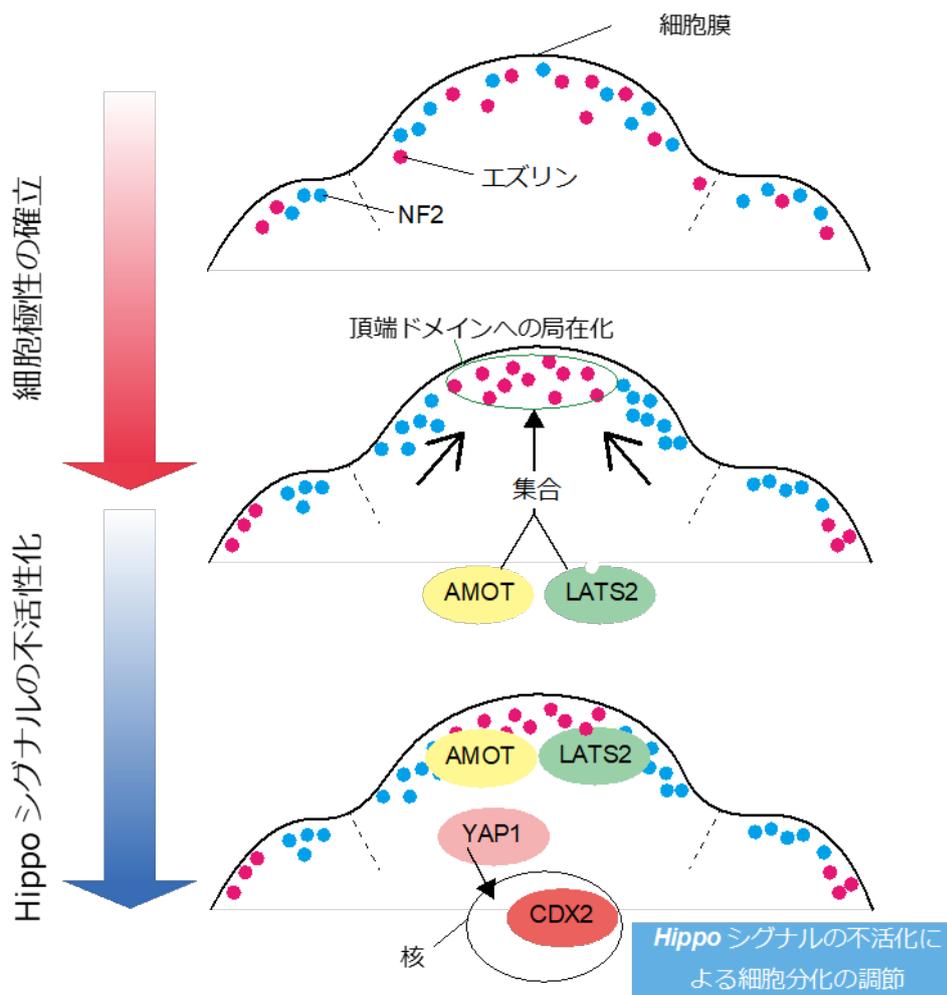


図 3. 受精卵外側細胞における Hippo シグナル不活性化のモデル

【用語解説】

- *1 足場タンパク質 … タンパク質複合体形成の足場となるタンパク質のこと。特定のシグナル伝達経路において、リン酸化酵素などの複数のシグナル伝達タンパク質と結合して複合体を形成する足場を提供する。
- *2 細胞極性 … 細胞における方向性を持った空間的及び分子的な偏り。哺乳類の胚発生の中の系統の分離と形態形成に重要。
- *3 頂端ドメイン … 全方位で他の細胞と接している接着接合部とは別に、外界に面している頂端部領域。
- *4 栄養外胚葉 (Trophectoderm : TE) … 胚盤胞期の受精卵において外周に位置する細胞集団のこと。将来主に胎盤を形成する。