



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ウシ初期胚発生における転写共役因子YAP1の細胞内局在に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	齋藤, 隼
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第16268号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95085
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SAITO_Shun_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博 士（農学） 氏名 齋 藤 隼

審査担当者	主 査	准 教授	川 原	学
	副 査	教 授	上 田	宏一郎
	副 査	教 授	小 池	聡
	副 査	助 教	唄	花子
	副 査	教 授	高 橋	昌 志（国際食資源学院）

学 位 論 文 題 名

ウシ初期胚発生における転写共役因子 YAP1 の細胞内局在に関する研究

本論文は 6 章からなり、図 37、表 4、文献 130 を含む頁数 105 の和文論文であり、別に参考文献 2 編が添えられている。

ウシ初期胚死滅の防止は、受胎率向上のために重要であるが、ウシ初期胚の発生機構に関する理解は進んでいない。本研究は、ウシ初期胚発生の重要な発生イベントを 3 度の細胞分化過程に分けて統合的に理解することを目指すものである。初期胚の第 1 の分化は、胎盤を形成する栄養外胚葉と内部細胞塊 (Inner Cell Mass: ICM) への分離である。次いで、ICM から胎子を形成する胚盤葉上層 (Epiblast: Epi) と原始内胚葉 (Primitive Endoderm: PrE) への第 2 の分化が生じる。続いて、PrE から Epi の近位部に存在する臓側内胚葉 (Visceral Endoderm: VE) および遠位部に存在する壁側内胚葉 (Parietal Endoderm: PE) への第 3 の分化が生じる。これらの制御において、マウス胚では転写活性を調節する転写共役因子 Yes-associated protein 1 (YAP1) の細胞内局在が重要な役割を果たすことがわかっている。しかし、ウシ胚における YAP1 の細胞内局在に関する研究は限られている。本研究では、初期胚における YAP1 の細胞内局在をウシおよびマウス間で比較し、ウシ胚に特徴的な局在様式および局在制御機構の解明に向けて以下の研究が実施された。

(1) ウシ桑実期胚における転写共役因子 YAP1 の局在様式

第 1 の細胞分化において、マウス桑実期胚を構成する細胞間で YAP1 細胞内局在の相違が生まれ、異なる細胞運命への誘導が始まる。そこで、ウシ桑実期胚における YAP1 の細胞内局在が免疫染色により調べられた。その結果、ウシ桑実期胚では YAP1 がほとんどの細胞で細胞質局在となる時期があることが判明した。続いて、細胞極性の形成と YAP1 の局在の関係について両種で比較された。マウス胚では細胞極性の形成と共に YAP1 の核局在化が生じたのに対し、ウシ胚では細胞極性の形成が完了した後の 64 細胞期で核局在化は亢進することが突き止められた。以上から、桑実期胚における YAP1 の局在とその制御機構にマウスおよびウシ間で差異があることが

明らかにされた。

(2) ウシ桑実期胚における YAP1 細胞内局在に及ぼす透明帯および細胞数の影響

ウシ桑実期胚の YAP1 局在に影響を及ぼす要因解明のために、胚を覆う透明帯および細胞数が YAP1 局在に及ぼす影響が調べられた。その結果、透明帯除去胚では YAP1 の細胞質局在化が抑制され、核局在を示す細胞が増加することが判明した。一方、細胞数を細胞の人為的な破壊により減少させた場合は、YAP1 の局在は変化しなかった。以上より、ウシ桑実期胚の YAP1 の局在制御において、細胞数の増加よりもむしろ透明帯の存在が重要であり、YAP1 細胞質局在化はその後の細胞分化調節に重要な役割を持つことが明らかにされた。

(3) ウシ胚内部細胞塊からの胚盤葉上層および原始内胚葉の派生における YAP1 局在の意義

次に、第 2 の細胞分化時における YAP1 の局在変化が調べられた。マウス胚 ICM では、Epi および PrE において YAP1 が核局在を示し、YAP1 核局在は Epi 形成に重要であることが知られている。そこで本研究では、ウシ胚 Epi および PrE における YAP1 細胞内局在が調べられた。ウシ胚では、Epi 細胞において YAP1 は細胞質局在を示した。一方、PrE 細胞では YAP1 は核局在を示した。そこで、核局在 YAP1 の機能を阻害する Verteporfin (VP) を添加し、Epi 細胞および PrE 細胞の割合が調べられた。VP 処理胚ではコントロールと比較して、PrE 細胞のみが減少することが判明した。これらから、第 2 の細胞分化において、ウシ胚では YAP1 の核局在化が PrE でのみ生じ、PrE の形成に重要な役割を果たしていることが明らかにされた。

(4) ウシ胚壁側内胚葉および臓側内胚葉における YAP1 細胞内局在の意義

最後に、PrE から派生する PE および VE における YAP1 の細胞内局在が調べられた。受精後 10 日目のウシ胚における PrE 細胞の中には、Epi に近位の VE と Epi に遠位の PE が観察された。そこで、VE および PE における YAP1 局在が分析された。その結果、PE においては、VE と比較して YAP1 核局在化が亢進していることが明らかになった。さらに、前項 (3) と同様に VP を添加したところ PE 細胞数が減少した。以上から、YAP1 の核局在化がウシ胚 PE 形成において重要な役割を果たしていることが初めて明らかにされた。

結論

本研究によって、これまでのマウス胚の研究から哺乳類初期胚の細胞分化機構モデルと考えられてきた YAP1 の細胞内局在様式および制御機構において、ウシ胚では異なる点が複数あることが示された。加えて、これまで哺乳類初期胚で調べられていなかった原始内胚葉の細胞分化機構においても YAP1 細胞内局在が重要な役割を果たすことが判明した。本研究で得られた成果は、ウシ胚体外生産系の基盤となる初期胚発生機構の理解を深めるものであり、畜産学のみならず哺乳類発生生物学においても極めて重要な知見となる。よって、審査員一同は、齋藤隼氏が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。