OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Endoderm-derived islet1-expressing cells differentiate into endothelial cells to function as the vascular HSPC niche in zebrafish |
| Author(s) | 石川, 博之 |
| Citation | 大阪大学, 2023, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/92078 |
| rights | |
| Note | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

# 論　文　内　容　の　要　旨
# Synopsis of Thesis

| 氏　名 Name | 石川　博之 |
|---|---|
| 論文題名 Title | Endoderm-derived *islet1*-expressing cells differentiate into endothelial cells to function as the vascular HSPC niche in zebrafish<br>(内胚葉由来のislet1発現細胞は造血幹細胞ニッチを形成する血管内皮細胞へと分化する) |

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

血管内皮細胞は酸素や栄養、ホルモン等を運搬し老廃物を取り除くための導管を形成するとともに造血幹細胞(HSPCs: hematopoietic stem and progenitor cells)ニッチを形成することが知られている。最近のシングルセルRNAシークエンス解析などによって血管内皮細胞の多様性とともに組織特異的な血管内皮細胞の役割についても注目が集まっている。しかしながら、血管内皮細胞がどのようにしてこれらの多様性を獲得するかは分かっていないことが多い。組織特異的な血管内皮細胞の多様性を生み出す要因として、分泌因子や細胞外マトリックスなどの血管内皮細胞周囲の環境の寄与が報告されている一方で、内皮細胞の系譜や起源の違いが内皮細胞の多様性創出に寄与するかどうかは不明であった。本研究では、造血幹細胞ニッチを形成する血管内皮細胞がどのようにして特異的な機能を獲得するのかを調べることで、組織特異的な血管内皮細胞の多様性が細胞起源や系譜、細胞外環境によってどのように規定されるのかを明らかにすることを目指した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

本研究では、ゼブラフィッシュを用いた、ライブイメージングによる細胞系譜解析を主に行った。

まず我々は、転写因子islet1 (isl1)の発現をモニターするトランスジェニックフィッシュ(Tg)を用いてライブイメージング解析を実施したところ、isl1発現細胞が造血幹細胞ニッチを形成する尾部静脈内皮細胞の前駆細胞であることを見出した。血管の起源は中胚葉であることがよく知られているが、このisl1陽性の内皮前駆細胞の起源は中胚葉ではなく、内胚葉マーカーとして知られているsox32/sox17陽性細胞であることが分かった。Sox17プロモーター下で光変換(photoconverson)タンパク質であるKikGRを発現するTg(sox17:kikGR)を樹立して、光変換による細胞系譜解析を行ったところKupffer's vesicleの側方に位置する内胚葉細胞がisl1陽性の内皮前駆細胞へと分化することを示した。さらに、内胚葉からisl1発現細胞への分化には、Bmp-Smadシグナルが重要であり、そこから内皮細胞へ分化する際にはnpas4l(cloche)-Etsrpを介した転写因子カスケードが必須であることが分かった。さらに、isl1発現細胞由来の内皮細胞を薬剤処理によって特異的に除去したところ、ニッチにおける造血幹細胞の数が顕著に減少したことから、内胚葉およびisl1に由来する新たな内皮細胞系譜が、造血幹細胞ニッチの機能に必須であることを明らかにした。最後に、isl1由来の血管内皮細胞とそれ以外の血管内皮細胞の違いを遺伝子発現レベルで調べるために、single cell RNAシークエンスを行ったところ、isl1発現細胞由来の内皮細胞はニッチで分化した後も由来の違いを反映した共通の遺伝子セットを発現していることが分かった。

〔総　括(Conclusion)〕

今回の研究で、我々は内胚葉由来に由来する全く新しい内皮細胞系譜を同定し、これに由来する血管内皮細胞がゼブラフィッシュ発生期において機能的な造血幹細胞ニッチを構成することを明らかにした。本研究により、造血組織では血管内皮細胞の由来の違いが組織特異的な多様性獲得に寄与していることを明らかにした。

[Format-H07]

# 論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）石川　博之

| | （職） | 氏　　名 | |
|---|---|---|---|
| 論文審査担当者 | 主　査　大阪大学招へい教授 | | 署　名 |
| | 副　査　大阪大学教授 | | 署　名 |
| | 副　査　大阪大学教授 | | 署　名 |

## 論文審査の結果の要旨

本研究では、ゼブラフィッシュを用いて血液幹細胞のニッチ形成血管内皮細胞が内胚葉由来であることをライブイメージングと細胞系譜解析により明らかにした。

転写因子isletl (isl1)を発現する細胞が尾側の静脈血管内皮細胞を形成することを発見し、この尾側静脈血管内皮細胞が造血幹細胞ニッチを形成する尾部静脈内皮細胞の前駆細胞となっていることを突き止めた。血管内皮細胞はこれまで中胚葉由来であると言われてきたが、このisl1陽性の内皮前駆細胞の起源は中胚葉ではなく、内胚葉マーカーとして知られているsox32/sox17陽性細胞であることが分かった。発生初期に認められるKupffer's vesicleの両外側に位置する内胚葉細胞がisl1陽性の内皮前駆細胞へと分化することを細胞系譜追跡により示した。内胚葉からisl1発現細胞への分化には、Bmp-Smadシグナルが必要であり、さらに内皮細胞へ分化する際にはnpas4l(cloche)-Etsrpを介した転写カスケードが必須であることが分かった。さらに、single cell RNAシークエンスの結果から、造血幹細胞ニッチを形成する静脈内皮細胞となった分化後内皮細胞でもisl1陽性の細胞由来を反映する共通の遺伝子セットを発現していることが分かった。

今回の研究で、内胚葉由来に由来する全く新しい内皮細胞系譜を同定し、これに由来する血管内皮細胞がゼブラフィッシュ発生期において機能的な造血幹細胞ニッチを構成することを明らかにした。本研究により、造血組織では血管内皮細胞の由来の違いが組織特異的な多様性獲得に寄与していることを明確にしたことは学位に値すると考える。