



Title	Single-cell sequencing reveals the existence of fetal vascular endothelial stem cell-like cells in mouse liver
Author(s)	Rahmawati, Fitriana Nur
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/95959
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

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	Fitriana Nur Rahmawati
論文題名 Title	Single-cell sequencing reveals the existence of fetal vascular endothelial stem cell-like cells in mouse liver (シングルセルRNA-seqを用いたマウス肝臓における血管幹細胞の発生機序の解析)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 Recently, a resident population of vascular endothelial stem cells (V ESCs) expressing CD157 and CD200 was identified in adult mice. However, the origin of this population and its development have not been characterized, nor has it been established whether VESC-like cells are present in the perinatal period. 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 To address this need, we used single-cell RNA-seq of mouse liver endothelial cells (ECs) to focus on the portal vein, which ultimately develops into postnatal VESC-like cells expressing CD157 and CD200. In this way, we characterized developing VESC-like cells from the liver at embryonic (E) day 14.5, E18.5, postnatal (P) day 7, P14 and 8 weeks. RNA expression of CD157 were first detected in late embryonal period but the protein expression was detected using flow cytometry and immunofluorescence around 1 week after birth in the portal vein. These neonatal CD157+CD200+ ECs have similar stem cells potential as adult CD157+CD200+ V ESCs. Interestingly, both RNA and protein expression of CD200 were detected earlier than CD157 in late embryonal period. The results of RNA kinetics tools showed the predicted fate of CD157-CD200+ ECs population towards adult CD157+CD200+ V ESCs at 1 week of age. By ordering transcriptomes along a latent time- line, several putative driver genes, including <i>Myof</i> and <i>Wipf3</i>, were identified during the establishment of CD157+CD200+ V ESCs at P7. Colony forming analysis showed that these CD157- CD200+ ECs formed colonies in vitro and had high proliferative capacity. Limiting dilution analysis further confirming that this population contain high number of endothelial colony-forming cells. Finally, transplantation of CD157- CD200+ ECs from E18 CAG-EGFP mouse liver into recipient adult wild-type mice after liver injury showed the contribution of this population into CD157+ CD200+ ECs after 8 weeks. 〔総 括(Conclusion)〕 Perinatal ECs marked as CD157-CD200+ contain cells transitioning from fetal to adult CD157+CD200+ VESC-like cells. Additionally, these results provide a comprehensive atlas of liver EC development and documents lineage commitment of V ESCs at single-cell resolution. Further studies are needed to clarify the molecular determinant of adult V ESCs development.	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) Fitriana Nur Rahmawati				
論文審査担当者		(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	高 倉 伸 幸	〒565-0871 大阪府吹田市 中央5-1-8
	副 査	大阪大学教授	石 谷 太	〒565-0871 大阪府吹田市 中央5-1-8
	副 査	大阪大学教授	原 英 二	〒565-0871 大阪府吹田市 中央5-1-8

論文審査の結果の要旨

従来、既存の血管の中に血管内皮幹細胞の存在については明らかにはなっていなかった。申請者の所属する研究室では、血管内皮幹細胞を最初、薬剤排出ポンプの高発現で幹細胞分画を単離するヘキスト法を用いて同定し、さらに血管内皮幹細胞分画には細胞表面マーカーとしてCD157の発現を明らかにしてきた。本申請論文では、このCD157を血管内皮幹細胞マーカーとして利用して、胎児期から成体になるまでの間の肝臓における血管内皮細胞の幹細胞性をフローサイトメトリーとsingle cell RNA解析により解明した。その結果、胎児期には血管内皮幹細胞はほぼ存在しないが、出征時期頃から発生し始めてくることが判明した。これらの血管内皮細胞の成長過程における転写因子ネットワークを解析して、血管内皮細胞の分化経路が明らかになった。今後の血管生物学の医学研究に大きく影響を与えたといえ、本論文は学位に値する。