

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02490

研究課題名（和文）Regulation of hemangioblast development by partial Epithelial Mesenchymal Transition

研究課題名（英文）Regulation of hemangioblast development by partial Epithelial Mesenchymal Transition

研究代表者

Sheng Guojun (Sheng, Guojun)

熊本大学・国際先端医学研究機構・特別招聘教授

研究者番号：20399439

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、羊膜類の祖先がETV2遺伝子およびNPAS4L遺伝子において双方を保有していることを示した。また、ETV2遺伝子は鳥類ゲノム上においては存在していないにもかかわらず、内皮分化発生プログラムのスイッチをオンにする能力を有しており、造血分化発生プログラムには関与をしていない、と示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

We offer an evo-devo example of how critical master regulators of blood and vessel development can still change and evolve. Socially, our work highlighted the importance of domestic and international collaborations.

研究成果の概要（英文）：We show that ancestral amniotes contain both ETV2 and NPAS4L genes and that ETV2, although absent in avian genomes, is able to initiate endothelial differentiation program, but not hematopoietic differentiation program.

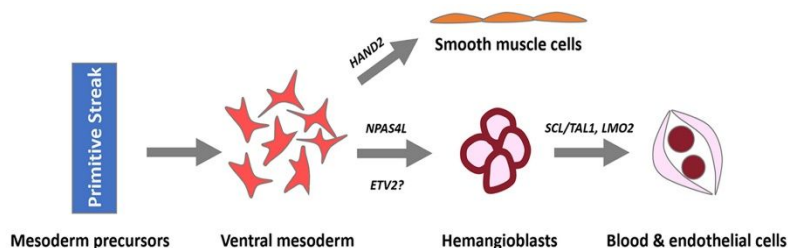
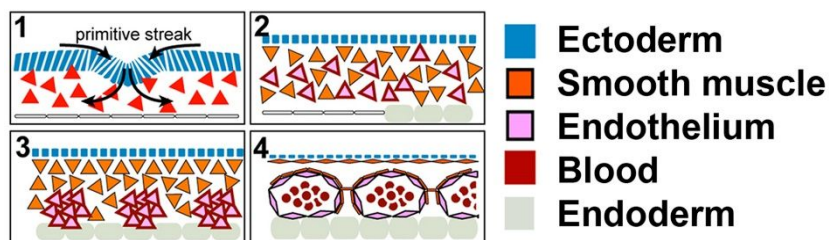
研究分野：Developmental morphogenesis

キーワード：chicken hemangioblast hematopoiesis vasculogenesis ETV2 NPAS4L

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

Our lab is interested in understanding molecular mechanisms regulating blood and vessel development, using primarily the chick model. We have previously reported that avian hematopoietic and vascular development are under regulation by



transcription factors conserved among diverse vertebrate organisms. However, there is one critical transcription factor, called ETV2, which is essential for mammalian hemangioblast (common progenitor of blood and vessel lineages) formation, but is absent in chicken genome. Instead, chicken embryos use NPAS4L for its hemangioblast specification.

2. 研究の目的

In this project, we aimed to perform phylogenetic, molecular and embryological studies, in order to clarify the genomic status of ETV2 in birds and closely related non-avian reptiles. We also aimed to understand whether blood and vessel development in chicken can still be regulated by ETV2 (regardless its presence/absence in the genome), and whether hemangioblast transcriptional regulation of blood (SCL/TAL1) and vessel (LMO2) markers is affected by morphological regulators (EMT regulators) SNAI and ZEB genes.

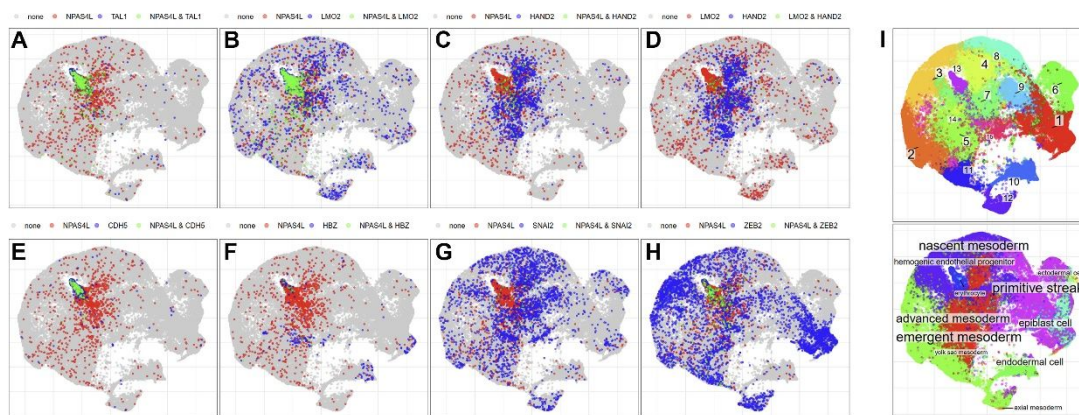
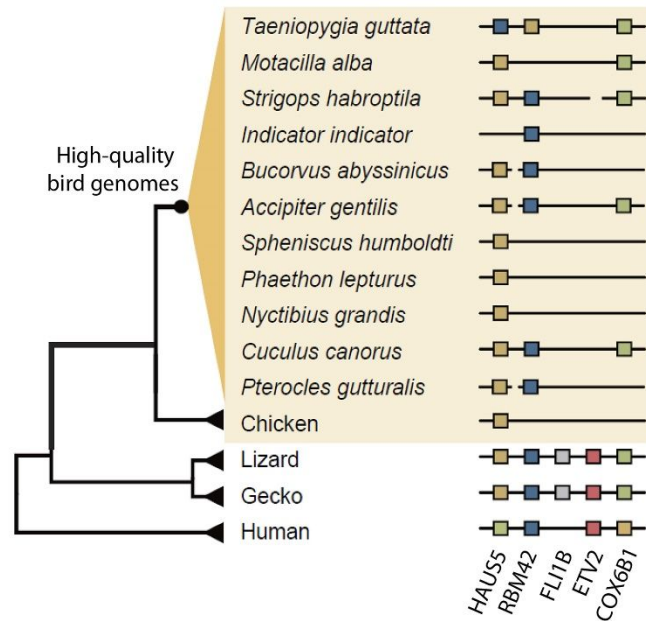
3. 研究の方法

We used comparative genomics analysis to determine whether all known avian species have lost the ETV2 gene. We also used comparative genomics analysis to investigate whether non-avian reptile genomes contain ETV2 and/or NPAS4L gene. We used scRNA-seq data analysis to investigate the expression levels/timing of NPAS4L, SCL/TAL1, LMO2, HAND2, SNAI2 and ZEB2 genes during lateral plate mesoderm/extraembryonic mesoderm differentiation. We used molecular biological approaches to investigate the roles of mammalian ETV2, gecko ETV2 and mammalian ETS1 in regulating avian blood and vessel differentiation. We also used molecular approaches to investigate how EMT regulators (by over expression) affected cell lineage differentiation. We used embryological approaches to

confirm the presence of both NPAS4L and ETV2 genes in a gecko species.

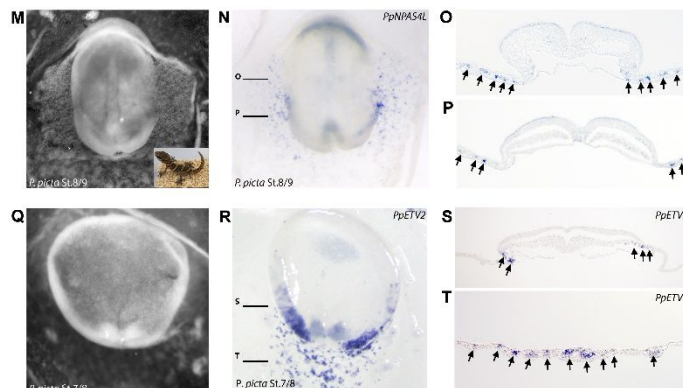
4. 研究成果

We showed that ETV2 gene was deleted in all 363 avian genomes analyzed (right figure). Single cell RNAseq data supported the master regulatory role of NPAS4L in chicken hemangioblast specification (below figure). Mammalian ETV2 expressed in chicken lateral plate mesoderm induced LMO2, but not NPAS4L or SCL. ETS1, an ETV2 paralog, could not compensate for ETV2's



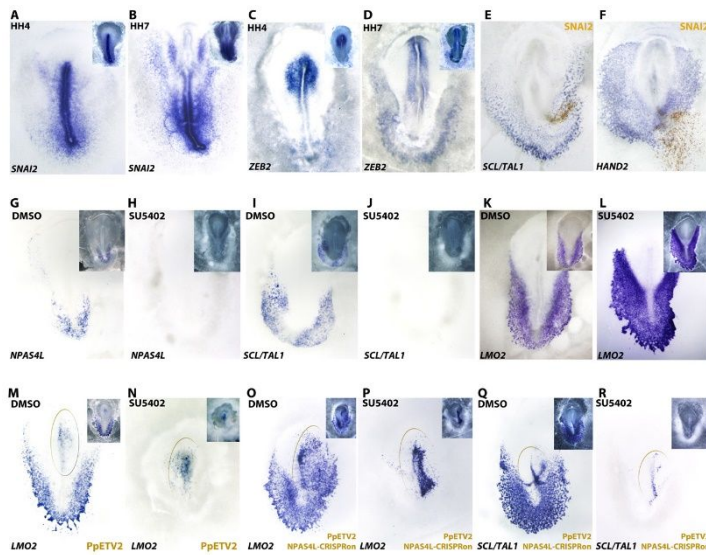
deletion. NPAS4L and ETV2 co-activation did not lead to synergistic effect. Squamate genomes contained both NPAS4L and ETV2 genes, and pre-ovipositional Madagascar

ground gecko (*Paroedura picta*) embryos expressed both genes in developing hemangioblasts (right figure). Gecko ETV2 induced only LMO2, as with mammalian ETV2. Furthermore, we showed that receptor tyrosine kinase activity was required for



avian hemangioblast specification, in agreement with VEGFR2 (FLK1)-mediated

hemangioblast specification in mammals (below figure). We propose a scenario in which both NPAS4L and ETV2 were present in ancestral amniotes, with ETV2 acting downstream of



NPAS4L in promoting endothelial lineage specification as in extant amniotes (e.g., zebrafish). ETV2 may have acted as a pioneer factor in ancestral amniotes by promoting chromatin accessibility of endothelial-specific genes, and in parallel with NPAS4L gene loss, gained similar functions in regulating

blood-specific genes in ancestral mammals. Such a scenario can explain the fact that loss of NPAS4L in mammals can be compensated by ETV2 and that loss of ETV2 in birds does not affect hematopoietic and endothelial lineage specification.

This work was published in 2024 in “Life Science Alliance”. More data are available in the following open access paper.

ETV2 induces endothelial, but not hematopoietic, lineage specification in birds.

Weng W, Deng Y, Deviatiiarov R, Hamidi S, Kajikawa E, Gusev O, Kiyonari H, Zhang G, **Sheng G.**

Life Sci Alliance. 2024 Apr 3;7(6):e202402694. doi: 10.26508/lisa.202402694. PMID: 38570190

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Hiroki Nagai, Yuki Tanoue, Tomonori Nakamura, Christopher J J Chan, Shigehito Yamada, Mitinori Saitou, Takaichi Fukuda, Guojun Sheng	4. 巻 377
2. 論文標題 Mesothelial fusion mediates chorioallantoic membrane formation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biological sciences	6. 最初と最後の頁 20210263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rstb.2021.0263	査読の有無 無
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 該当する
1. 著者名 Guojun Sheng, Thorsten E Boroviak, Urs Schmidt-Ott, Shankar Srinivas	4. 巻 377
2. 論文標題 Extraembryonic tissues: exploring concepts, definitions and functions across the animal kingdom	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biological sciences	6. 最初と最後の頁 20210250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rstb.2021.0250	査読の有無 無
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 該当する
1. 著者名 Luke Bu, Atsuko Yonemura, Noriko Yasuda-Yoshihara, Tomoyuki Uchihara, Galym Ismagulov, Sanae Takasugi, Tadahito Yasuda, ...Takatsugu Ishimoto	4. 巻 113
2. 論文標題 Tumor microenvironmental 15-PGDH depletion promotes fibrotic tumor formation and angiogenesis in pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer science	6. 最初と最後の頁 3579-3592
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15495	査読の有無 無
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 該当する
1. 著者名 Supannika Sorin, Sho Kubota, Sofiane Hamidi, Takako Yokomizo-Nakano, Kulthida Vaeteewoottacharn, Sopit Wongkham, Sakda Waraasawapati, Chawalit Pairojkul, Jie Bai, Mariko Morii, Guojun Sheng, Kanlayanee Sawanyawisuth, Goro Sashida	4. 巻 36
2. 論文標題 HMGN3 represses transcription of epithelial regulators to promote migration of cholangiocarcinoma in a SNAI2-dependent manner	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FASEB journal	6. 最初と最後の頁 e22345
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202200386R	査読の有無 無
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 該当する

1. 著者名 Guojun Sheng, Yu-Qiang Ding	4. 巻 64
2. 論文標題 Developmental biology in China (Part 1)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development, growth & differentiation	6. 最初と最後の頁 86-87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12775	査読の有無 無
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 該当する

1. 著者名 Sheng Guojun, Ding Yu Qiang	4. 巻 64
2. 論文標題 Developmental biology in China (Part 1)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 86 ~ 87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12775	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sheng Guojun, Martinez Arias Alfonso, Sutherland Ann	4. 巻 374
2. 論文標題 The primitive streak and cellular principles of building an amniote body through gastrulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 1 ~ 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.abg1727	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sheng Guojun, Carninci Piero, Siomi Mikiko C., Suda Toshio, Alev Cantas	4. 巻 599
2. 論文標題 Japan: prize diversity, not conformity, to boost research	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 201 ~ 201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/d41586-021-03070-9	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Thompson Erik W., Sheng Guojun	4. 巻 211
2. 論文標題 Special Issue: Epithelial-Mesenchymal Transition 2020	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells Tissues Organs	6. 最初と最後の頁 89 ~ 90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000518686	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Gilbert Ryan J., Sheng Guojun, Viebahn Christoph, Liebau Stefan, Marra Kacey G., De Bartolo Loredana	4. 巻 211
2. 論文標題 Inaugural Young Investigator Issue for Cells Tissues Organs	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells Tissues Organs	6. 最初と最後の頁 1 ~ 3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000518410	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sheng Guojun, Thompson Erik, Newgreen Donald, Denker Hans-Werner	4. 巻 211
2. 論文標題 Twenty Years on for The Epithelial-Mesenchymal Transition International Association (TEMIA): An Interview with Co-Founders Erik Thompson and Donald Newgreen	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells Tissues Organs	6. 最初と最後の頁 252 ~ 260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000518250	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sheng Guojun	4. 巻 148
2. 論文標題 Defining epithelial-mesenchymal transitions in animal development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 1 ~ 6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.198036	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sawanyawisuth Kanlayanee, Sashida Goro, Sheng Guojun	4. 巻 13
2. 論文標題 Epithelial-Mesenchymal Transition in Liver Fluke-Induced Cholangiocarcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 791 ~ 791
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13040791	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	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
研究分担者	永井 宏樹 (NAGAI HIROKI) (80772508)	熊本大学・国際先端医学研究機構・リサーチ・スペシャリスト (17401)	

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
---------	---------