

Poster P.18.125

MESODERMAL RETINOIC ACID SIGNALING REGULATES THE SPECIFICATION OF HUMAN DEFINITIVE HEMATOPOIETIC PROGENITORS FROM HUMAN PLURIPOTENT STEM CELLS

Scarfò R.^{*[1]}, Luff S.^[2], Maffioletti S.^[1], Dege C.^[2], Creamer J.P.^[2], Choi K.^[2], Morris S.^[2], Sturgeon C.M.^[2], Ditadi A.^[1]

^[1]Milan ~ San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy, IRCCS San Raffaele Scientific Institute ~ Italy, ^[2]Saint Louis ~ Department of Medicine, Division of Hematology, Washington University in Saint Louis ~ United States of America

Mammalian embryonic hematopoiesis is tightly regulated, both temporally and spatially, and culminates with the emergence of hematopoietic stem cells (HSCs). HSCs derive from hemogenic endothelium cells (HECs) at the onset of definitive hematopoiesis, but the signaling orchestration regulating their specification is not fully understood. To study these events in the human system, we developed a stage-specific human pluripotent stem cells (hPSCs) differentiation approach faithfully recapitulating embryonic hematopoietic development. Using this platform, we described Wnt signaling as a critical positive regulator of the definitive hematopoietic mesoderm that generates clonally multipotent definitive HECs, although devoid of HSC-like potential. While HSCs emergence is Retinoic Acid (RA) signaling-dependent in the mouse embryo, RA manipulation on hPSC-derived HECs failed to yield HSC-like progeny.

This raises the question of the temporal RA requirement for the specification of HSC-competent HECs. Here we show that the expression of ALDH1A2, a key enzyme for RA synthesis, defines two distinct WNT-induced KDR⁺ hematopoietic mesodermal populations and segregates with CXCR4⁺ cells. Stage-specific activation of RA signaling in KDR⁺CXCR4⁺ cells elicit the specification of HECs with robust lymphoid, myeloid and erythroid potential. Conversely, the hematopoietic specification of KDR⁺CXCR4⁻ cells is completely RA-independent. Mechanistically, we found that ALDH1A2 expression is directly regulated by several morphogens, whose pathways can be manipulated to increase the proportion of KDR⁺CXCR4⁺ cells expressing ALDH1A2.

Collectively, we have defined the specification of RA-dependent HECs and their mesodermal precursors. These findings are pivotal to study the molecular requirements for HSC emergence and provide the basis for their in vitro generation.

L'attivazione della via di segnalazione dell'Acido Retinoico regola la specificazione dei progenitori ematopoietici umani dalle cellule staminali pluripotenti umane

L'ematopoiesi, ossia la formazione delle cellule del sangue e del sistema immunitario, è un processo finemente regolato, a livello spazio-temporale, durante lo sviluppo embrionale umano. È un processo complesso, a vari stadi, che culmina con lo sviluppo delle cellule staminali ematopoietiche (HSC), in grado di generare tutte le cellule del sistema immunitario presenti nell'adulto. Avere la possibilità di generare in laboratorio le HSC, ci permetterebbe di possedere un'infinita risorsa da utilizzare per scopi di medicina rigenerativa, studio di patologie ematologiche e terapia genica. A questo scopo, il nostro obiettivo è di studiare lo sviluppo ematopoietico umano utilizzando un fine sistema basato sulle cellule staminali pluripotenti umane, cellule da cui è possibile generare qualsiasi cellula dell'organismo. Questa piattaforma ci permette di studiare i meccanismi alla base della formazione delle HSC con l'obiettivo di ricapitolare ciò che avviene a livello embrionale in laboratorio. In particolar modo, i nostri dati evidenziano che l'attivazione della via di segnalazione dell'Acido Retinoico in uno specifico stadio

dello sviluppo embrionale, sia fondamentale per generare cellule ematopoietiche. Ipotizziamo che l'attivazione stadio-specifica della via dell'Acido Retinoico sia cruciale per specificare la formazione delle HSC. I nostri studi si ripropongono di identificarne i meccanismi molecolari necessari, ponendo le basi necessarie per la generazione delle HSC in laboratorio.

Ditadi A, Sturgeon CM, Tober J, et al. Human definitive haemogenic endothelium and arterial vascular endothelium represent distinct lineages. *Nat Cell Biol.* 2015;17(5):580-91.

Ditadi A, Sturgeon CM. Directed differentiation of definitive hemogenic endothelium and hematopoietic progenitors from human pluripotent stem cells. *Methods.* 2016 May 15;101:65-72. doi: 10.1016/j.ymeth.2015.10.001. Epub 2015 Oct 9. PubMed PMID: 26439174.

Chanda B, Ditadi A, Iscove NN, Keller G. Retinoic acid signaling is essential for embryonic hematopoietic stem cell development. *Cell.* 2013 Sep 26;155(1):215-27.

Sturgeon CM, Ditadi A, Awong G, Kennedy M, Keller G. Wnt signaling controls the specification of definitive and primitive hematopoiesis from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol.* 2014 Jun;32(6):554-61. doi: 10.1038/nbt.2915. Epub 2014 May 18.

Sindrome da insufficienza congenita del midollo osseo

Coordinator: Ditadi Andrea

Duration (N. Years): 5

Starting year: 2016

Telethon Project (nr):

TGT16C04

Disease Name:

Inherited Bone Marrow Failure

Keywords:

Hematopoiesis, Retinoic Acid, Development