

L'endothélium aortique chez l'embryon : genèse et rôle dans l'hématopoïèse

Thierry Jaffredo

UPMC, CNRS UMR7622, Laboratoire de Biologie du Développement, 9 quai Saint-Bernard, 75252 Paris Cedex 05, France

Auteur correspondant : Thierry Jaffredo, thierry.jaffredo@upmc.fr

Reçu le 1er avril 2009

Résumé – L'hématopoïèse aortique se caractérise par la production de Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) qui naissent à partir de l'endothélium ventral du vaisseau à la suite de modifications phénotypiques des Cellules Endothéliales (CE). Ces CSH colonisent alors les organes hématopoïétiques définitifs. A l'aide du modèle de greffe interspécifique caille/poule, nous avons étudié la formation de l'aorte avant, pendant et après l'hématopoïèse. Nous avons pu montrer que 1) avant l'hématopoïèse, le toit de l'aorte, initialement d'origine splanchnopleurale, est entièrement colonisé par des CE provenant des somites. Ce vaisseau subit donc un premier remodelage qui aboutit à la formation d'un nouveau toit et de nouveaux côtés constitués de CE d'origine somatopleurale alors que le cadran ventral reste formé par des CE d'origine splanchnopleurale. 2) Pendant l'hématopoïèse, les CE somitiques commencent à coloniser la partie ventrale du vaisseau. Cette colonisation s'effectue par intercalation de ces CE sous les bourgeonnements de CSH. 3) Après l'hématopoïèse, les hémangioblastes aortiques ont disparu du plancher de l'aorte et sont remplacés par les CE somitiques. L'aorte subit donc un deuxième remodelage, à la suite duquel la totalité des CE du vaisseau est d'origine somitique. 4) Nous avons également identifié une contribution du somite à l'élaboration de la tunique musculaire lisse de l'aorte. 5) En greffant soit le dermomyotome, soit le sclérotome entre la caille et le poulet, nous avons montré que les CE proviennent du dermomyotome alors que les cellules musculaires lisses vasculaires sont originaires du sclérotome. Ces résultats apportent un éclairage nouveau sur la production hématopoïétique de l'aorte et le devenir de l'endothélium hémogénique. Ils expliquent aussi la nature transitoire de l'hématopoïèse aortique, observée dans toutes les classes de vertébrés.

Mots clés : Endothelium aortique / hématopoïèse / somite / *runx1* / embryon d'oiseau

Abstract – The aortic endothelium in the embryo: genesis and role in hematopoiesis.

Intra-aortic haematopoiesis is a transient phenomenon, characterised by the emergence of Hematopoietic Stem Cells (HSC) from the ventral aortic endothelium through an endothelial cell (EC) to HSC lineage switch. HSC differentiation is followed by the colonization of definitive haematopoietic organs. Since intra-aortic haematopoiesis is born from EC of the aortic floor, we wondered how vascular integrity was maintained during hematopoietic production. We have used interspecific quail to chick grafts to study the aortic morphogenesis during hematopoiesis. We have demonstrated that: 1) before haematopoiesis, the aortic endothelium, originally entirely from splanchnic origin, was colonized by somitic EC, creating a new roof and sides derived from the somite, whereas the floor was contributed by splanchnopleural-derived EC. 2) As haematopoiesis proceeded, somite-derived EC colonized the aortic floor, where they settled underneath the HSC clusters. 3) After haematopoiesis, splanchnopleural ECs have disappeared from the aortic floor and have been replaced by somite-derived EC. At this stage, the whole aortic endothelium originated from somitic cells. 4) We have

identified that the somite contributed to the vascular smooth muscle cells (VSMC).
 5) Using grafts of either single quail dermomyotome or sclerotome in the chick, we showed that EC originated from the dermomyotome whereas the vascular smooth muscle cells originated from the sclerotome. Taken together, our results bring about new insights on aorta morphogenesis and the time-restricted production of HSCs.

Key words: Aortic endothelium / hematopoiesis / somite / *runx1* / avian embryo

Introduction

L'aorte est le premier vaisseau fonctionnel à s'individualiser dans l'embryon de Vertébré. Chez les Amniotes, l'aorte se forme à partir de précurseurs endothéliaux qui se ségrègent du mésoderme ventral (splanchnopleural) pour se positionner entre l'endoderme et le mésoderme splanchnopleural. Ces précurseurs forment rapidement un réseau de petits capillaires qui vont coalescer pour former deux ébauches aortiques ayant tout d'abord une position relativement latérale par rapport aux structures axiales et qui, progressivement, vont se rapprocher de l'axe médian pour fusionner en une structure impaire située sous la notochorde. De manière plus ou moins concomitante à cette fusion, l'aorte acquiert une capacité à produire des cellules hématopoïétiques (CH). Cette production hématopoïétique est très stéréotypée chez l'ensemble des Vertébrés. Les CH situées dans la partie ventrale du vaisseau sont visibles sous la forme de petits bourgeonnements de cellules rondes, appelés bourgeonnements intra-aortiques, faisant saillie dans la lumière de l'aorte, en étroite association avec les Cellules Endothéliales (CE) plus plates (Dieterlen-Lièvre *et al.*, 2006). Des expériences de culture cellulaire et de reconstitution à long terme de souris irradiées de manière létale ont permis de montrer que l'aorte produit des Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) capables de reconstitution à long terme (LTR-HSC) qui colonisent, au moins en partie, les organes hématopoïétiques de l'adulte (Dzierzak & Speck, 2008). Des expériences de traçage cellulaire réalisées chez l'oiseau ont démontré que les CH des bourgeonnements intra-aortiques dérivent des CE du plancher du vaisseau. Ces expériences ont consisté à marquer l'arbre vasculaire une journée avant l'apparition des premières CH aortiques et à suivre les dérivés des CE marquées au niveau de l'aorte. Deux types de traçage ont été réalisés : à court terme avec des LDL (*Low Density Lipoproteins*) acétylés qui sont spécifiquement endocytosées par les CE, ou à long terme à l'aide de vecteurs rétroviraux exprimant le gène rapporteur de la β -Galactosidase (LacZ). Dans les deux cas, les mêmes conclusions se sont imposées : les CE initialement marquées par les LDL ou les vecteurs rétroviraux à E2 se retrouvent à E3 dans les bourgeonnements intra-aortiques.

L'hématopoïèse aortique repose donc sur une population particulière de CE à capacité hémogénique localisées dans le plancher de l'aorte qui, sous l'influence de signaux restant à découvrir, vont subir une série de modifications phénotypiques caractérisées par la perte des marqueurs endothéliaux et l'acquisition des marqueurs hématopoïétiques (Jaffredo *et al.*, 2000; Jaffredo *et al.*, 1998). Cette production hématopoïétique diffère de celle du sac vitellin (SV) car les cellules endothéliales aortiques, présentes longtemps avant l'émergence des CSH, possèdent tous les attributs de CE *bona fide* et en assurent les fonctions. Cette dérivation à partir de CE a été, ensuite, confirmée dans le modèle murin et chez l'Homme (de Bruijn *et al.*, 2002; Oberlin *et al.*, 2002).

Expression de Runx1¹ et différenciation de l'endothélium hémogénique

L'un des gènes clés du contrôle de l'hématopoïèse aortique est le facteur de transcription RUNX1 et son cofacteur CBF β . Un ensemble de données indique aujourd'hui que RUNX1 régule non seulement la différenciation des lignages hématopoïétiques en activant la transcription de gènes cibles hématopoïétiques (*IL3*, *GM-CSF*, *CSF-R1*, *TCR β* , myéloperoxydase, neutrophile élastase) (Perry *et al.*, 2002) mais aussi la production précoce des CSH chez l'embryon. Les embryons de souris délétées des gènes *RUNX1*, ou de leur co-facteur CBF β , sont en effet incapables de produire des CSH et présentent une anémie sévère au niveau du foie fœtal (de Bruijn & Speck, 2004). L'analyse détaillée des mutants *RUNX1* a révélé un blocage très précoce de l'hématopoïèse définitive chez ces embryons résultant de l'absence de bourgeonnements intra-aortiques (de Bruijn & Speck, 2004). Une hypothèse a donc été émise selon laquelle *RUNX1* serait un régulateur clé, requis au niveau de l'endothélium hémogénique pour permettre la production des CSH. Un grand nombre de données obtenues *in vitro* et *in vivo* chez la souris vont aujourd'hui dans ce sens. Notamment, l'analyse d'embryons *RUNX1*^{Lz/+} montre que RUNX1 est exprimé à la fois dans les CE du

¹ Nomenclature : *Runx1* : gène murin ; *runx1* : gène aviaire.

plancher de l'aorte et dans toutes les CSH capables de reconstitution à long terme (North *et al.*, 1999; North *et al.*, 2002). Des approches génétiques récentes confirment que RUNX1 joue un rôle crucial dans la transition CE>CSH mais pas au-delà (Chen *et al.*, 2009; Lancrin *et al.*, 2009).

Chez le poulet, l'aorte se forme par la fusion des deux aortes paires (constituées à cet âge uniquement d'un endothélium) sur la ligne médiane entre les jours E2 et 2,5 de développement. À cet âge, *runx1* est uniquement exprimé dans les parties latérales externes des aortes paires. Parallèlement à la fusion des deux aortes, on observe une extension ventrale des domaines d'expression de *runx1* qui s'étendent alors à la totalité du plancher de l'aorte. Parmi ces cellules, certaines commencent à exprimer des gènes d'identité hématopoïétique bien qu'elles aient encore une morphologie endothéliale. Sur des coupes histologiques adjacentes, on observe les premières cellules exprimant les facteurs de transcription c-Myb ou pu.1 parmi les CE exprimant *runx1*. Ces résultats montrent que l'acquisition d'une identité moléculaire hématopoïétique par les CE hémogéniques s'opère très tôt, alors qu'elles sont encore parfaitement intégrées dans l'endothélium ventral et présentent un phénotype endothélial. Nous avons également pu constater que ces cellules commencent à exprimer le marqueur pan-leucocytaire CD45. Par la suite, la maturation de l'endothélium hémogénique se caractérise par une augmentation de l'expression de *runx1* et une extension de l'expression des marqueurs hématopoïétiques à l'ensemble des cellules exprimant *runx1*. Les CE hémogéniques changent de forme, s'épaississent, témoignant d'une transition morphologique entre CE plates et CSH rondes. Finalement, les cellules bourgeonnent dans la lumière de l'aorte ou s'infiltrant dans le mésenchyme sous-jacent. Elles ont alors une morphologie ronde, expriment fortement *runx1*, *c-myb*, *pu.1* et CD45 mais n'expriment plus le VEGF-R2 ni la Ve-cadhérine. L'ensemble de ces données montre que l'expression de *runx1* précède la maturation des CE hémogéniques. L'hématopoïèse aortique se déroule ensuite selon un continuum d'états de transition moléculaires et morphologiques entre CE et CSH. Enfin, il semble que ce processus, qui se déroule en 24 h à 36 h, soit finement régulé dans le temps et dans l'espace selon un gradient antéro-postérieur et latéro-ventral corrélé à la morphogenèse de l'aorte.

Lignage angiopoïétique, hématopoïétique et construction de l'aorte

Considérant la capacité du somite à donner des CE et la production forte mais transitoire des CH aortiques, nous nous sommes posé la question de sa-

voir comment l'homéostasie de l'aorte était maintenue pendant l'hématopoïèse. En d'autres termes, si les CE du plancher de l'aorte sont engagées dans l'hématopoïèse, comment l'intégrité vasculaire est-elle maintenue? Des expériences de transplantation entre la caille et la poule ont mis en évidence que le somite était une source de CE (Dieterlen-Lièvre *et al.*, 2006). Étudiant l'origine de la vascularisation de l'embryon, Pardanaud *et al.* (1996) ont montré que les CE somitiques colonisent l'ensemble de la lame latérale où elles forment la vascularisation du corps et des membres, ainsi que du tube nerveux. Cette étude a, de manière inattendue, révélé que le toit de l'aorte provenait aussi des CE somitiques. D'autres expériences ont montré que le somite contribuait aussi à la formation des vaisseaux lymphatiques (Wilting *et al.*, 2000).

Nous avons 1) précisé l'identité moléculaire des CE somitiques et 2) étudié la contribution du somite à la formation de l'aorte avant, pendant et après l'hématopoïèse. L'identité moléculaire du lignage endothélial somitique a été établie à l'aide de sondes détectant l'activité de gènes qui codent pour des facteurs connus pour leur implication dans le développement endothélial et hématopoïétique. Il s'agit des facteurs de transcription GATA-2 et Scl/Tal1 et du VEGF-R2 (*Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2*). Au niveau des somites, les transcrits de ces facteurs sont initialement localisés dans le cadran latéro-dorsal. Une expression similaire a été récemment décrite chez la souris suggérant l'existence de mécanismes communs à l'oiseau et la souris (Ema *et al.*, 2006). Cette population cellulaire somitique se disperse par la suite (Wilting *et al.*, 2000) (Noden, 1989; Wilting *et al.*, 1995); certaines cellules s'installent dans la lame latérale somatopleurale alors que d'autres semblent se diriger vers l'aorte et entrent en contact avec le toit du vaisseau. Afin d'étudier la contribution des somites à la formation de l'aorte nous avons utilisé le système caille/poule (Le Douarin, 1969) pour discriminer les CE issues du somite de celles qui proviennent du mésoderme splanchnopleural. Nous avons remplacé la totalité du mésoderme présomitique (plaque segmentaire) de poulet par le territoire équivalent de caille. Les embryons greffés ont été étudiés par immunohistochimie à l'aide d'anticorps monoclonaux reconnaissant des types cellulaires spécifiques : QH1 qui marque les CE et les CH de caille à l'exception des érythrocytes matures (Pardanaud *et al.*, 1987) et QCPN qui reconnaît tous les noyaux des cellules de caille (Carlson & Carlson, Developmental Studies Hybridoma Bank, University of Iowa). À E3, 24 h après l'opération, la vascularisation du derme, du tube nerveux, de la lame latérale, du pronéphros et des veines cardinales est assurée par les cellules somitiques de caille, ce qui est conforme aux travaux de Pardanaud *et al.* (1996). À E4, 36 h après

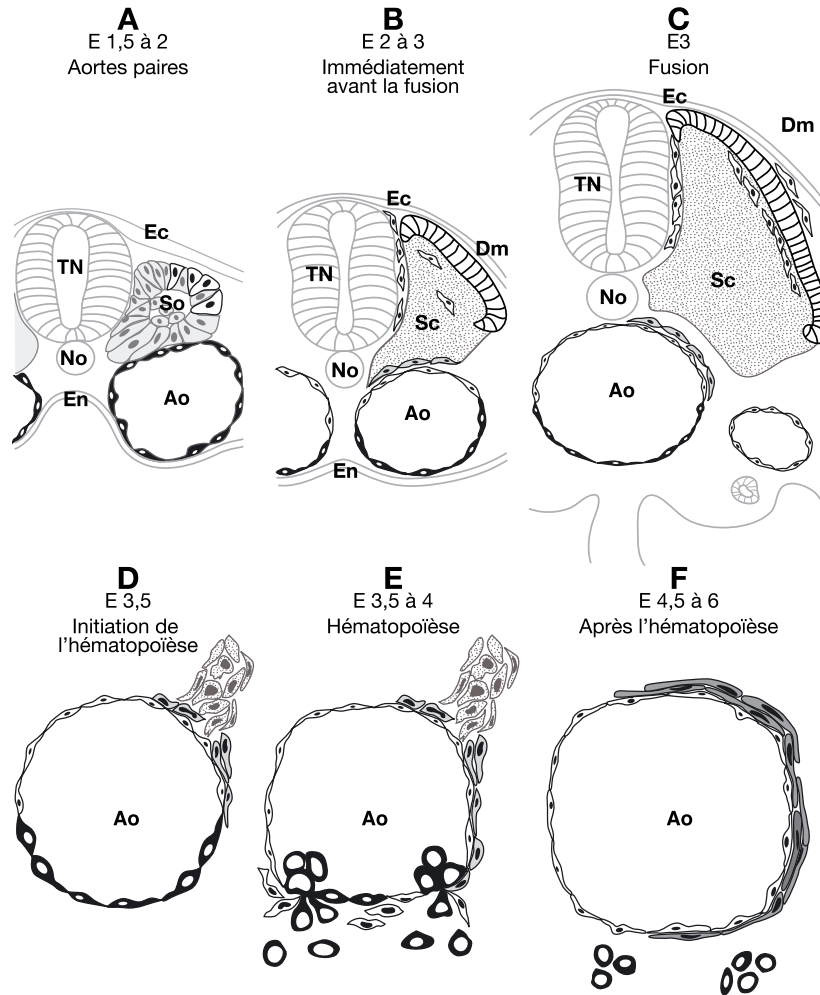


Fig. 1. Histoire du développement de l'aorte en relation avec le remodelage endothélial et la formation des muscles lisses. (A) Avant la fusion des deux aortes. Les cellules endothéliales aortiques (noires) dérivent du mésoderme splanchnopleural. Le somite comporte une population de précurseurs endothéliaux (blancs) dans sa partie dorso-latérale. (B) Le premier remodelage de l'aorte a été réalisé. Le toit initial du vaisseau, d'origine splanchnopleurale (noire), a été remplacé par des cellules endothéliales venant du dermomyotome (blanches). Après greffe de plaque segmentaire, l'aorte est à ce stade un vaisseau chimérique. Ces cellules forment aussi les rudiments du plexus vasculaire périneural. La partie ventrale du sclérotome (grisé) s'appose aux cellules endothéliales de la partie dorsale des aortes. Aucune expression de marqueur de muscle lisse n'est visible à ce stade autour des aortes. (C) Les deux rudiments aortiques ont fusionné en un vaisseau unique. Le toit est d'origine somitique, les côtés et le plancher sont d'origine splanchnopleurale (noire). Le plexus vasculaire périneural a continué à se développer. De nombreuses cellules endothéliales sont aussi trouvées sous le myotome ou sous l'ectoderme. Les cellules d'origine sclérotomale ont maintenant migré dans la partie latérale de l'aorte. (D) Les côtés d'origine splanchnopleurale subissent une modification phénotypique caractérisée par la perte de marqueurs endothéliaux et l'acquisition de marqueurs hématopoïétiques. Les cellules sclérotomales s'installent maintenant sur l'ensemble du toit et des côtés. Les cellules les plus proches de l'endothélium commencent à exprimer l'actine de muscle lisse. (E) Les *clusters* hématopoïétiques sont bien visibles. Les cellules hématopoïétiques bourgeonnent dans la lumière alors que d'autres s'infiltrèrent dans le mésenchyme sous-jacent. En même temps, les cellules endothéliales originaires du somite remplacent progressivement les côtés initiaux et ces mêmes cellules sont détectées en nombre dans le plancher du vaisseau sous les bourgeonnements aortiques ou parmi eux en position luminale. Les cellules sclérotomales continuent leur progression péri-endothéliale et l'expression de l'actine des muscles lisses s'y intensifie. (F) Les côtés et le plancher d'origine splanchnopleurale ont été remplacés par des cellules endothéliales issues du somite. A la fin de l'hématopoïèse, les cellules endothéliales de l'aorte sont entièrement d'origine somitique. Les cellules d'origine sclérotomale en position abluminale entourent totalement l'aorte. Ao : Aorte; Ec : Ectoderme; En : Endoderme; Dm : Dermomyotome; No : Notocorde; Sc : Sclérotome; So : Somite; TN : Tube Neural.

la greffe, alors que l'hématopoïèse aortique s'achève, nous observons des CE somitiques dans le plancher de l'aorte à proximité immédiate des bourgeonnements intra-aortiques. Fait notable, alors que dans la partie dorsale du vaisseau les CE somitiques ne colonisent jamais le côté contro-latéral à la greffe, les CE de caille identifiées dans le plancher de l'aorte sont souvent retrouvées du côté opposé à la greffe. À E5, 72 h après la greffe, alors que l'hématopoïèse est achevée, tout l'endothélium aortique du côté greffé est constitué de CE d'origine somitique ce qui signifie que les CE hémogéniques de poulet ont disparu de la surface de l'aorte. Si nous rapprochons ces résultats de nos expériences de traçage cellulaire, ces expériences démontrent que l'endothélium ventral de l'aorte passe totalement dans le compartiment hématopoïétique. Cette disparition est à mettre en relation avec le caractère très transitoire de l'hématopoïèse aortique, qui repose sans doute sur l'épuisement progressif des cellules progénitrices hémogéniques. Lorsque les dernières cellules ont disparu du plancher de l'aorte, la production hématopoïétique cesse.

Compartmentalisation du somite et lignages aortiques

En même temps que nous observons la colonisation de l'aorte par des CE somitiques de caille, nous avons noté la présence de cellules de caille, QCPN⁺/QH1⁻, autour de l'aorte, dans une localisation correspondant à celle de la tunique musculaire lisse. Nous avons mis en évidence que ces cellules expriment une isoforme d'actine spécifique des muscles lisses (α SMA). En plus des CE, le somite fournit donc des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). La mise en place de la tunique musculaire lisse s'initie dès E4, en parallèle avec le remodelage de l'endothélium aortique associé à la production hématopoïétique. À E5/E6, la tunique musculaire est constituée de plusieurs épaisseurs de cellules toutes originaires du somite. Cette contribution supplémentaire du somite posait la question de l'origine intra-somitique de ces différents types cellulaires. Dérive-t-elle d'un compartiment « souche » ou les différents lignages proviennent-ils de compartiments somitiques distincts? Pour répondre à cette question nous avons remplacé entre la caille et le poulet soit la partie dorso-latérale du somite correspondant au futur dermomyotome, soit la partie ventro-latérale correspondant au futur sclérotome. Les greffes ont été analysées à l'aide des anticorps QH1, QCPN et anti-isoforme α de l'actine des muscles lisses (α SMA), ainsi que des marqueurs moléculaires des compartiments dermomyotomal *pax3* et sclérotomal *pax1*. La greffe de compartiment dermomyotomal de caille (QCPN⁺), analysée un jour après l'opération, donne

le myotome (identifié par l'expression de Pax3 et de l' α SMA) ainsi que des CE (révélées par l'expression de QH1), à proximité du tube nerveux et de la veine cardinale. Deux jours après la greffe, les CE de caille se sont multipliées pour former le plexus vasculaire périneural, la veine cardinale et le toit de l'aorte. Aucune cellule de caille révélée par QCPN n'est retrouvée dans la tunique musculaire lisse de l'aorte α SMA⁺. En plus des cellules musculaires striées squelettiques et du derme, le compartiment dermomyotomal fournit donc des CE qui contribuent à former le réseau vasculaire du tube nerveux et de la paroi du corps et renouvellent le toit de l'aorte.

Une journée après la greffe de compartiment sclérotomal, des cellules de caille se retrouvent à proximité du toit de l'aorte en étroite apposition avec les CE. Ces cellules sclérotomales expriment le marqueur *pax1* mais pas le marqueur de muscle lisse vasculaire α SMA. Deux jours après la greffe, la contribution sclérotomale a considérablement évolué. Des cellules QCPN⁺ se trouvent sur le toit et le côté greffé de l'aorte. L'analyse à l'aide du marqueur α SMA révèle la présence de nombreuses cellules de Caille dans la tunique musculaire lisse aortique. L'expression de *pax1* montre que ces cellules ont une identité sclérotomale. L'expression de *pax1* s'atténue cependant dans les cellules QCPN⁺/ α SMA⁺ bien que certaines cellules portent la triple identité. Ceci montre sans conteste que, chez le poulet, CE et cellules musculaires lisses vasculaires sont issues de compartiments somitiques séparés : les CE viennent du compartiment dermomyotomal alors que les cellules musculaires lisses vasculaires viennent du compartiment sclérotomal. Ces dernières subissent une modification phénotypique au cours de laquelle elles perdent le marqueur *Pax1* et acquièrent le marqueur α SMA. Dans le même temps, l'équipe de Martin Scaal (Fribourg, Allemagne) publiait des résultats similaires validant notre approche (Wiegrefe *et al.*, 2007).

Conclusions et perspectives

En conclusion, nous avons montré que l'aorte est le siège de remodelages cellulaires cruciaux pour la construction d'une aorte définitive. Les ébauches aortiques primitives paires sont constituées d'un endothélium nu entièrement issu du mésoderme splanchnopleural latéral. Les somites contribuent à la régionalisation dorso-ventrale du vaisseau avant l'hématopoïèse, en formant le toit aortique, puis en fournissant un nouveau plancher au vaisseau après hématopoïèse. Nous avons aussi identifié le somite comme une (la ?) source de cellules musculaires lisses vasculaires de l'aorte, le sclérotome étant le compartiment somitique qui donne naissance à ces cellules musculaires lisses.

Références

- Chen M.J., Yokomizo T., Zeigler B.M., Dzierzak E., Speck N.A., Runx1 is required for the endothelial to haematopoietic cell transition but not thereafter. *Nature*, 2009, 457, 887–891.
- de Bruijn M., Ma X., Robin C., Ottersbach K., Sanchez M.J., Dzierzak E., Hematopoietic stem cells localise to the endothelial cell layer in the midgestation mouse aorta. *Immunity*, 2002, 16, 673–683.
- de Bruijn M.F., Speck N.A., Core-binding factors in hematopoiesis and immune function. *Oncogene*, 2004, 23, 4238–4248.
- Dieterlen-Lièvre F., Pouget C., Bollerot K., Jaffredo T., Are intra-aortic hemopoietic cells derived from endothelial cells during ontogeny? *Trends Cardiovasc Med*, 2006, 16, 128–139.
- Dzierzak E., Speck N.A., Of lineage and legacy: the development of mammalian hematopoietic stem cells. *Nat Immunol*, 2008, 9, 129–136.
- Ema M., Takahashi S., Rossant J., Deletion of the selection cassette, but not cis-acting elements, in targeted Flk1-lacZ allele reveals Flk1 expression in multipotent mesodermal progenitors. *Blood*, 2006, 107, 111–117.
- Jaffredo T., Gautier R., Brajeul V., Dieterlen-Lièvre F., Tracing the progeny of the aortic hemangioblast in the avian embryo. *Dev Biol*, 2000, 224, 204–214.
- Jaffredo T., Gautier R., Eichmann A., Dieterlen-Lièvre F., Intraaortic hemopoietic cells are derived from endothelial cells during ontogeny. *Development*, 1998, 125, 4575–4583.
- Lancrin C., Sroczynska P., Stephenson C., Allen T., Kouskoff V., Lacaud G., The haemangioblast generates haematopoietic cells through a haemogenic endothelium stage. *Nature*, 2009, 457, 892–895.
- Le Douarin N., Details of the interphase nucleus in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Bull Biol Fr Belg*, 1969, 103, 435–452.
- Noden D.M., Embryonic origins and assembly of blood vessels. *Am Rev Respir Dis*, 1989, 140, 1097–1103.
- North T., Gu T.L., Stacy T., Wang Q., Howard L., Binder M., Marin-Padilla M., Speck N.A., Cbfa2 is required for the formation of intra-aortic hematopoietic clusters. *Development*, 1999, 126, 2563–2575.
- North T.E., de Bruijn M.F., Stacy T., Talebian L., Lind E., Robin C., Binder M., Dzierzak E., Speck N.A., Runx1 expression marks long-term repopulating hematopoietic stem cells in the midgestation mouse embryo. *Immunity*, 2002, 16, 661–672.
- Oberlin E., Taviani M., Blazsek I., Péault B., Blood-forming potential of vascular endothelium in the human embryo. *Development*, 2002, 129, 4147–4157.
- Pardanaud L., Altmann C., Kitos P., Dieterlen-Lièvre F., Buck C.A., Vasculogenesis in the early quail blastodisc as studied with a monoclonal antibody recognizing endothelial cells. *Development*, 1987, 100, 339–349.
- Pardanaud L., Luton D., Prigent M., Bourcheix L.-M., Catala M., Dieterlen-Lièvre F., Two distinct endothelial lineages in ontogeny, one of them related to hemopoiesis. *Development*, 1996, 122, 1363–1371.
- Perry C., Eldor A., Soreq H., Runx1/AML1 in leukemia: disrupted association with diverse protein partners. *Leuk Res*, 2002, 26, 221–228.
- Wiegrefe C., Christ B., Huang R., Scaal M., Sclerotomal origin of smooth muscle cells in the wall of the avian dorsal aorta. *Dev Dyn*, 2007, 236, 2578–2585.
- Wilting J., Brand-Saberi B., Huang R., Zhi Q., Kontges G., Ordahl C.P., Christ B., Angiogenic potential of the avian somite. *Dev Dyn*, 1995, 202, 165–171.
- Wilting J., Papoutsi M., Schneider M., Christ B., The lymphatic endothelium of the avian wing is of somitic origin. *Dev Dyn*, 2000, 217, 271–278.