

博士論文（要約）

胎盤と接する境界領域の胚体外内胚葉における
マウス *Sox17* の機能解析

五十嵐 瞳

本博士論文の内容は学術雑誌論文として出版する計画があるため公表できない。5年以内に出版予定。また、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。

論文の内容の要旨

応用動物科学専攻

平成 27 年度博士課程入学

五十嵐 瞳

指導教員 九郎丸 正道

論文題目 胎盤と接する境界領域の胚体外内胚葉における マウス *Sox17* の機能解析

マウスの初期発生では、着床前の E3.5 に細胞は内細胞塊 (inner cell mass; ICM) とその周囲に位置する栄養外胚葉に分化する。そして ICM において胞胚腔と接する一層の細胞が、原始内胚葉 (primitive endoderm; PrE)へと分化する。その後着床し、E4.5 以降、PrE からは壁側内胚葉 (parietal endoderm; PE) と臓側内胚葉 (visceral endoderm; VE) の 2 種類の胚体外内胚葉が形成される。PE は厚い基底膜 (ライヘルト膜) を形成し、基底膜上に球形の細胞が散在する構造をとり、parietal yolk sac を形成する。VE は微絨毛や小胞を有する円柱上皮構造をとり visceral yolk sac を形成する。

PE と VE の境界部分は Marginal Zone (MZ) と呼ばれ、仮足を持つ細胞が見られることから、VE から PE への細胞の移動があることが示唆されている (Hogan and Newman, 1984)。また、E11.5 以降、胚体外内胚葉は胎盤側へ陥入し、胎盤内卵黄嚢 (intraplacental yolk sac; IPYS) と呼ばれる構造を形成する (Ogura *et al.*, 1998)。

Sox (Sex-Determining Region on the Y chromosome- related High Mobility Group box) 遺伝子ファミリーは、発生過程において様々な細胞運命の決定に関与する重要な遺伝子群である (Pevny and Lovell-Badge, 1997)。Sox 遺伝子ファミリーは A から J の 10 のグループに分けられており、SoxF グループには Sox7、Sox17 および Sox18 が含まれる (Dunn *et al.*, 1995; Kanai *et al.*, 1996; Taniguchi *et al.*, 1999)。SoxF グループの遺伝子は、胚性内胚葉や毛の発生、心臓、血管の形成に重要であり (Kanai-Azuma *et al.*, 2002; Matsui *et al.*, 2006; Young *et al.*, 2006)、マウスの網膜の血管形成では Sox7、Sox17 および Sox18 は相補して機能することが知られている (Zhou *et al.*, 2015)。胚体外内胚葉においては、Sox7 と Sox17 が E4.5 の PrE から E7.5 の PE と VE に発現することが明らかとなっている (Kanai-Azuma *et al.*, 2002; Artus *et al.*, 2011)。in vitro での解析結果から、Sox17 と Sox7 は胚体外内胚葉の分化や維持に関与することが予想されるが、in vivo での解析はほとんど行われていないため、その機能については不明な点が多い。

そこで、SoxF グループ遺伝子の胚体外内胚葉における機能を調べるため、本研究では SoxF グループの遺伝子の胚体外内胚葉における発現パターンを詳細に解析し (第 1 章)、その結果から Sox17 と Sox7 の発現に注目して Sox17 欠損胚と Sox7 欠損胚を用いた in vivo での表現型解析を行った (第 2 章)。

【第 1 章】

SoxF グループ遺伝子 (Sox7、Sox17 および Sox18) の胚体外内胚葉における mRNA の発現を in situ hybridization により解析した。その結果、E8.5 の胚体外内

胚葉では *Sox17* と *Sox7* の発現がみられ、*Sox18* の発現はみられないことを明らかにした。

胚体外内胚葉で発現する *SoxF* グループ遺伝子は *Sox17* と *Sox7* であることが明らかとなったので、SOX17 と SOX7 タンパク質の E7.5 から E18.5 までの局在パターンを免疫染色により解析した。このとき、膜組織である胚体外内胚葉を傷つけることなく解析するため、子宮全体を固定しパラフィン切片を作製する子宮全載法を用いた解析を行った。SOX17 は E7.5 では PE と placental VE を含む VE に発現し、E8.5 から E10.5 までは PE と placental VE に発現が続いた。一方で SOX7 は E7.5 では PE と placental VE に発現したが、E8.5 では placental VE での発現が減少し、E10.5 では PE での発現も減少した。また、SOX17 は、E12.5 以降は PE と IPYS (placental VE) に発現し、発生後期の E18.5 までその発現が維持された。これらの結果から、胚体外内胚葉の発生過程は二段階に分けられ、E8.5 までは *Sox17* と *Sox7* が VE (placental VE) と PE に発現する形成期であり、E8.5 以降は *Sox17* のみが placental VE と PE に発現する拡大期であると考えられた。したがって、E8.5 以降の拡大期では *Sox17* が placental VE と PE で重要な機能を担うと考えられ、その機能は発生後期まで維持されることが示唆された。

【第2章】

第1章において、胚体外内胚葉では *SoxF* グループ遺伝子の中で *Sox17* と *Sox7* が発現することが明らかとなったことから、*Sox17* と *Sox7* の胚体外内胚葉における機能を明らかにするため、*Sox17* 欠損 (*Sox17*^{-/-}) 胚と *Sox7* 欠損 (*Sox7*^{-/-}) 胚の胚体外内胚葉における表現型解析を行った。

E9.5 での正常胚と *Sox17*^{-/-} 胚における胚体外内胚葉の H-E 染色を行い、胚体外内胚葉の細胞形態を比較した結果、*Sox17*^{-/-} 胚の VE 基部の細胞数が増加して PE 側に拡大

し、MZ が PE 側へ移動していた。さらに、拡大した領域の特徴を詳細に調べるため、VE と PE のマーカー分子の局在を免疫染色により解析した。HNF4 α は VE のマーカー分子であり、*Sox17* の下流で発現が抑制されることが知られている分子である (Duncan *et al.*, 1994; Patterson *et al.*, 2008)。*Sox17*^{-/-}胚の拡大した VE 基部の領域では、HNF4 α の発現が上昇していた。また、HNF4 α は肝細胞において E-cadherin (E-cad)を含む複数の細胞接着因子の発現を制御し上皮化に関与する (Battle *et al.*, 2006)。このことから、VE に発現する細胞接着因子である E-cad と、上皮細胞の微絨毛においてアクチンに結合するタンパク質であるリン酸化エズリン-ラディキシン-モエシン (P-ERM)の局在を解析した。その結果、*Sox17*^{-/-}胚の VE 基部では E-cad および P-ERM の発現が増加していた。次に、PE のマーカー分子である GATA6 の局在を解析した。その結果、*Sox7*^{-/-}胚において、GATA6 は PE では局在したが、placental VE を含めた VE での局在はみられなかった。なお、*Sox7*^{-/-}胚における HNF4 α 、E-cad、P-ERM および GATA6 の局在に異常はみられなかった。これらの結果から *Sox17*^{-/-}胚の placental VE では上皮化が進行していると考えられ、*Sox17* は placental VE での上皮化を制御することが示唆された。

また、*Sox17* と *Sox7* は PE でも発現することから PE での表現型解析を行った。抗 GFP 抗体を用いて whole mount で免疫染色を行い、PE 細胞の形態を解析した結果、正常胚の PE 細胞は球形であるが、*Sox17*^{-/-}胚の PE 細胞は複数の突起を伸ばす形態の異常が見られた。さらに *Sox17*^{-/-}胚の PE 細胞のタイムラプス撮影を行い PE 細胞の移動速度を解析した結果、*Sox17*^{-/-}胚の PE 細胞の移動速度が低下していることが明らかとなった。したがって、*Sox17* は PE において細胞形態の維持と運動性に関与すると考えられた。

Sox17 をはじめとする胚体外内胚葉において発現する遺伝子の機能解析は、主に *in vitro* での解析がなされてきた。本研究では子宮全載法を用いることで、VE、placental VE および PE のそれぞれの領域について、胚体外内胚葉の位置関係を維持した状態で

解析することが可能となった。その結果、*Sox17* と *Sox7* の発現パターンを詳細に解析することが可能となり、胚体外内胚葉の発生には E8.5 までの形成期と E8.5 以降の拡大期の二段階があり、形成期には *Sox17* と *Sox7* が関与し、拡大期には *Sox17* が関与することが示唆された。さらに、*Sox17*^{-/-} 胚の胚体外内胚葉での表現型を初めて解析することが可能になり、胚体外内胚葉において *Sox17* が VE の上皮化と PE の細胞増殖、細胞形態および運動性に関与することを明らかにした。

序 章

胎子発生における胚体外組織の役割

マウスの初期発生では、栄養外胚葉と原始内胚葉 (Primitive Endoderm; PrE) の 2 種類の胚体外組織が形成される (Fig. i)。着床後の胚では、栄養外胚葉から胚体外外胚葉と胎盤外円錐 (ectoplacental cone; EPC) が形成され、胚体外外胚葉と EPC から胎盤が形成される。また、PrE からは胚体外内胚葉 (卵黄囊) が形成される。胎盤と胚体外内胚葉はともに母体と胎子間での物質交換を担っており、胎子の発生において、母体から胎子への栄養や酸素の供給、胎子から母体への代謝物の受け渡し、また、免疫や内分泌機能にも関与する。このため、哺乳類の発生を理解する上で胚体外組織の解析は非常に重要であると考えられる。

マウスの胚体外内胚葉の発生

マウスの初期発生では、着床前の E3.5 に、細胞は内細胞塊 (inner cell mass; ICM) とその周囲に位置する栄養外胚葉に分化する。(Fig. i)。そして、ICM において胞胚腔と接する一層の細胞が、PrE へと分化する。その後着床し、E4.5 以降、PrE からは壁側内胚葉 (parietal endoderm; PE) と臓側内胚葉 (visceral endoderm; VE) の 2 種類の胚体外内胚葉が形成される。PE は PrE から栄養膜巨細胞に沿って移動し、壁側卵黄囊 (parietal yolk sac) を形成する (Enders *et al.*, 1978)。PE は Collagen IV やラミニンといった細胞外基質を分泌しており、栄養膜巨細胞との間にライヘルト膜と呼ばれる厚い基底膜を形成する。このライヘルト膜上に PE は散在する。PE の機能は主にライヘルト膜を形成することと考えられており、ライヘルト膜は母体と胎子との間のフィルターとしての機能や、物理的な衝撃から胎子を保護する機能を持つと考えられている。PE が形成するライヘルト膜は胎子の発生が進むにつれて厚くなるが、胎盤が完成した後には薄くなり崩壊する (Clark *et al.*, 1975; Dickson *et al.*, 1979)。また VE は、栄養外胚葉から分化した胚体外外胚葉と、ICM から分化した胚性外胚葉と

が形成する卵筒胚を取り囲む。VE は微絨毛や小胞を有する円柱上皮構造をとり臓側卵黄嚢 (visceral yolk sac) を形成し、母体と胎子との間でガスや栄養物質、老廃物の交換を行っている。VE では肝臓や腸管で発現する HNF4 α や、栄養物質の輸送に関与するトランスフェリンやアポリポプロテインの発現がみられ、形態的、機能的にも腸管の上皮と類似している (Bielinska *et al.*, 1999; Zohn *et al.*, 2010)。さらに、PE と VE の境界部分は Marginal Zone (MZ) と呼ばれ、仮足を持つ細胞が見られることから、VE から PE への細胞の移動があることが示唆されている (Hogan and Newman 1984)。E8.5 以降の PE では領域による細胞形態や運動性の違いが確認されているが (Cockroft, 1985)、分化した胚体外内胚葉の維持機構については *in vivo* での解析が少なくほとんど明かとなっていない。

また、E11.5 以降、胚体外内胚葉は胎盤側へ陥入し、胎盤内卵黄嚢 (intraplacental yolk sac; IPYS) と呼ばれる構造を形成する (Ogura *et al.*, 1998) (Fig. i)。胎盤内で IPYS が形成する腔は Duval 腺とも呼ばれている。IPYS は二重の膜構造をしており、母体側は母体の血管の周囲に厚い基底膜を持ち、その上に細胞が散在する構造を形成し、胎子側は胎子の血管の周囲に円柱上皮構造を形成する。IPYS では calbindin-D_{9k} や Ca²⁺-ATPase の発現量が高いことから、IPYS は母体と胎子間でのカルシウム輸送に関与すると考えられている (Borke *et al.*, 1989; Ogura *et al.*, 1998)。このように、胚体外内胚葉は、胎盤が形成され、母体と胎子との間で血液循環が開始されるまでの間の胎盤としての機能を担い、胎盤が形成された後も IPYS において物質交換に関与するため、胎子の発生に重要な組織であると考えられる。

SoxF グループ遺伝子と胚体外内胚葉

Sox (Sex-Determining Region on the Y chromosome- related High Mobility Group box) 遺伝子ファミリーは、哺乳類の精巣決定因子 (SRY) の DNA 結合ドメインである

HMG (high-mobility group) box ドメインと相同性を持つ遺伝子として同定された遺伝子群であり、広く脊椎動物と無脊椎動物の間で保存されている (Gubbay *et al.*, 1990)。また、*Sox* 遺伝子ファミリーは、発生過程において様々な細胞運命の決定に関与する重要な遺伝子群である (Pevny and Lovell-Badge, 1997)。*Sox* 遺伝子ファミリーは約 30 の遺伝子が含み、HMG box ドメインの相同性とその他の領域の構造や機能から、A から J の 10 のグループに分けられている (Schepers *et al.*, 2002)。このグループの中で、*SoxF* グループには *Sox7*、*Sox17* および *Sox18* が含まれる (Dunn *et al.*, 1995; Kanai *et al.*, 1996; Taniguchi *et al.*, 1999)。*SoxF* グループの遺伝子は、胚性内胚葉や毛の発生、心臓、血管の形成に重要であり (Kanai-Azuma *et al.*, 2002; Matsui *et al.*, 2006; Young *et al.*, 2006)、マウスの網膜の血管形成では *Sox7*、*Sox17* および *Sox18* は相補して機能することが知られている (Zhou *et al.*, 2015)。胚体外内胚葉においては、*Sox7* と *Sox17* が E4.5 の PrE から E7.5 の PE と VE に発現することが明らかとなっているが (Kanai-Azuma *et al.*, 2002; Artus *et al.*, 2011)、その機能については不明な点が多い。一方で F9 細胞から誘導した PE 様細胞の分化に *Sox7* が関与すること、胚体外内胚葉の幹細胞である XEN 細胞では、*Sox17* は胚体外内胚葉の発生に関与する遺伝子の発現を制御することが明らかになっている (Futaki *et al.*, 2004; Niakan *et al.*, 2009)。これらの *in vitro* の解析から、*Sox7* と *Sox17* が胚体外内胚葉の形成・維持に関与していることが示唆されている。

本研究の目的

以上のように、胚体外内胚葉は胎子の発生において重要な組織であるが、体節期以降の *in vivo* での解析は少なく、胚体外内胚葉の形成、維持機構についてはほとんど明らかとなっていない。また *SoxF* グループの遺伝子である *Sox7* と *Sox17* が胚体外内胚葉の形成・維持に関与することが予想されるが、*in vivo* での機能は未解明である。そ

ここで、本研究では *SoxF* グループの遺伝子の胚体外内胚葉における発現パターンを詳細に解析し、その結果から *Sox17* と *Sox7* の発現に注目して *Sox17* 欠損胚と *Sox7* 欠損胚を用いた *in vivo* での表現型解析を行った。

図表およびその説明

図 i マウスの胚体外内胚葉の発生

胚体外内胚葉は PrE から分化した 2 層の膜構造である。PE は母体側の層であり、VE は胎児側の層である。VE と PE の境界部は MZ と呼ばれる。E11.5 以降、胚体外内胚葉は胎盤内に陥入し IPYS を形成する。IPYS は母体側の血管に接する層と、胎児側の血管に接する層を持つ。その間は Duval 腺と呼ばれる。

EPC : ectoplacental cone (胎盤外円錐)、ICM : inner cell mass (内細胞塊)、IPYS : intraplacental yolk sac (胎盤内卵黄嚢)、PE : parietal endoderm (壁側内胚葉)、VE : visceral endoderm (臓側内胚葉)、矢尻 : Marginal Zone

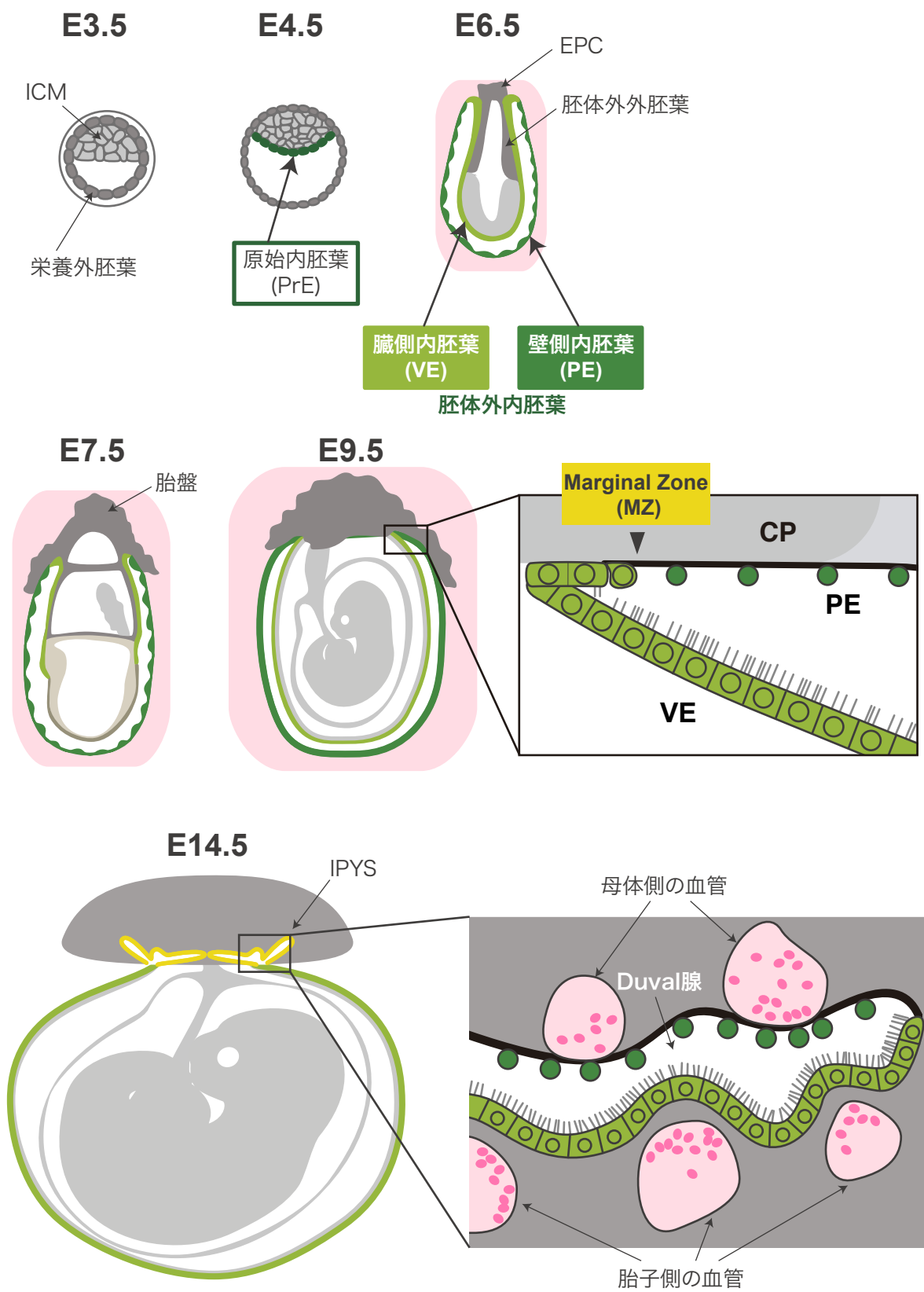


Fig. i

謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なる御指導、御鞭撻を賜りました、東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医学専攻 獣医解剖学教室 教授 九郎丸 正道博士、同准教授 金井 克晃博士、同助教 平松 竜司博士に心より感謝の意を表します。

また、共同研究にあたり、多くの御助言と研究材料の提供を賜りました東京医科歯科大学 実験動物センター 教授 金井 正美博士、同講師 平手 良和博士、同研究員 上村 麻実博士、実験動物中央研究所 研究部門副部門長 末水 洋志博士、実験動物中央研究所 実験動物研究部 客員准教授、橋本 晴夫博士、同研究員、吉村 祐貴博士、日本大学 生物資源科学部 動物のいるくらし研究室 教授 恒川 直樹博士、に厚く御礼申し上げます。

また、獣医解剖学研究室において多くの介助をいただいた黒田 淑子博士、八木橋 伊都子さん、内山 悠紀さんをはじめとする皆様に厚く御礼申し上げます。

最後に、私の大学院生活を支援してくれた父母および姉に、心から感謝の念を表したいと思います。

引用文献

Artus, J., Piliszek, A., & Hadjantonakis, A. K. (2011). The primitive endoderm lineage of the mouse blastocyst: sequential transcription factor activation and regulation of differentiation by Sox17. *Developmental biology*, 350(2), 393-404.

Battle, M. A., Konopka, G., Parviz, F., Gaggl, A. L., Yang, C., Sladek, F. M., & Duncan, S. A. (2006). Hepatocyte nuclear factor 4 α orchestrates expression of cell adhesion proteins during the epithelial transformation of the developing liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(22), 8419-8424.

Bielinska, M. A. L. G. O. R. Z. A. T. A., Narita, N. A. O. K. O., & Wilson, D. B. (2002). Distinct roles for visceral endoderm during embryonic mouse development. *International Journal of Developmental Biology*, 43(3), 183-205.

Borke, J. L., Caride, A., Verma, A. K., Kelley, L. K., Smith, C. H., Penniston, J. T., & Kumar, R. (1989). Calcium pump epitopes in placental trophoblast basal plasma membranes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 257(2), C341-C346.

Bowles, J., Schepers, G., & Koopman, P. (2000). Phylogeny of the SOX family of developmental transcription factors based on sequence and structural indicators. *Developmental biology*, 227(2), 239-255.

Clark, C. C., Minor, R. R., Koszalka, T. R., Brent, R. L., & Kefalides, N. A. (1975). The embryonic rat parietal yolk sac: Changes in the morphology and composition of its basement membrane during development. *Developmental biology*, 46(2), 243-261.

Dickson, A. D. (1979). The disappearance of the decidua capsularis and Reichert's membrane in the mouse. *Journal of anatomy*, 129(Pt 3), 571.

Duncan, S. A., Manova, K., Chen, W. S., Hoodless, P., Weinstein, D. C., Bachvarova, R. F., & Darnell, J. E. (1994). Expression of transcription factor HNF-4 in the extraembryonic endoderm, gut, and nephrogenic tissue of the developing mouse embryo: HNF-4 is a marker for primary endoderm in the implanting blastocyst. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(16), 7598-7602.

Dunn, T. L., Mynett-Johnson, L., Wright, E. M., Hosking, B. M., Koopman, P. A., & Muscat, G. E. (1995). Sequence and expression of Sox-18 encoding a new HMG-box transcription factor. *Gene*, 161(2), 223-225.

Enders, A. C., Given, R. L., & Schlafke, S. (1978). Differentiation and migration of endoderm in the rat and mouse at implantation. *The Anatomical Record*, 190(1), 65-77.

Futaki, S., Hayashi, Y., Yamashita, M., Yagi, K., Bono, H., Hayashizaki, Y., ... & Sekiguchi, K. (2003). Molecular Basis of Constitutive Production of Basement Membrane Components GENE EXPRESSION PROFILES OF ENGELBRETH-HOLM-SWARM TUMOR AND F9 EMBRYONAL CARCINOMA CELLS. *Journal of Biological Chemistry*, 278(50), 50691-50701.

Hashimoto, M., & Takemoto, T. (2015). Electroporation enables the efficient mRNA delivery into the mouse zygotes and facilitates CRISPR/Cas9-based genome editing. *Scientific reports*, 5.

Hogan, B. L., & Newman, R. (1984). A scanning electron microscope study of the extraembryonic endoderm of the 8th-day mouse embryo. *Differentiation*, 26(1-3), 138-143.

Irrthum, A., Devriendt, K., Chitayat, D., Matthijs, G., Glade, C., Steijlen, P. M., ... & Vikkula, M. (2003). Mutations in the transcription factor gene SOX18 underlie recessive and dominant forms of hypotrichosis-lymphedema-telangiectasia. *The American Journal of Human Genetics*, 72(6), 1470-1478.

Kanai, Y., Kanai-Azuma, M., Noce, T., Saido, T. C., Shiroishi, T., Hayashi, Y., & Yazaki, K. (1996). Identification of two Sox17 messenger RNA isoforms, with and without the high mobility group box region, and their differential expression in mouse spermatogenesis. *The Journal of Cell Biology*, 133(3), 667-681.

Kanai-Azuma, M., Kanai, Y., Gad, J. M., Tajima, Y., Taya, C., Kurohmaru, M., ... & Hayashi, Y. (2002). Depletion of definitive gut endoderm in Sox17-null mutant mice. *Development*, 129(10), 2367-2379.

Kim, I., Saunders, T. L., & Morrison, S. J. (2007). Sox17 dependence distinguishes the transcriptional regulation of fetal from adult hematopoietic stem cells. *cell*, 130(3), 470-483.

Kim, K., Kim, I. K., Yang, J. M., Lee, E., Koh, B. I., Song, S., ... & Kubota, Y. (2016).

SoxF transcription factors are positive feedback regulators of VEGF signaling. *Circulation research*, CIRCRESAHA-116.

Koutsourakis, M., Langeveld, A., Patient, R., Beddington, R., & Grosveld, F. (1999).

The transcription factor GATA6 is essential for early extraembryonic development. *Development*, 126(4), 723-732.

Kovacs, C. S., Chafe, L. L., Woodland, M. L., McDonald, K. R., Fudge, N. J., &

Wookey, P. J. (2002). Calcitropic gene expression suggests a role for the intraplacental yolk sac in maternal-fetal calcium exchange. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 282(3), E721-E732.

Kunath, T., Arnaud, D., Uy, G. D., Okamoto, I., Chureau, C., Yamanaka, Y., ... &

Rossant, J. (2005). Imprinted X-inactivation in extra-embryonic endoderm cell lines from mouse blastocysts. *Development*, 132(7), 1649-1661.

Lee, S. H., Lee, S., Yang, H., Song, S., Kim, K., Saunders, T. L., ... & Kim, I. (2014).

The Notch pathway targets proangiogenic regulator Sox17 to restrict angiogenesis. *Circulation research*, CIRCRESAHA-113.

Liu, Y., Asakura, M., Inoue, H., Nakamura, T., Sano, M., Niu, Z., ... & Schneider, M.

D. (2007). Sox17 is essential for the specification of cardiac mesoderm in

embryonic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(10), 3859-3864.

Matsui, T., Kanai-Azuma, M., Hara, K., Matoba, S., Hiramatsu, R., Kawakami, H., ... & Kanai, Y. (2006). Redundant roles of Sox17 and Sox18 in postnatal angiogenesis in mice. *J Cell Sci*, 119(17), 3513-3526.

Niakan, K. K., Ji, H., Maehr, R., Vokes, S. A., Rodolfa, K. T., Sherwood, R. I., ... & McMahon, A. P. (2010). Sox17 promotes differentiation in mouse embryonic stem cells by directly regulating extraembryonic gene expression and indirectly antagonizing self-renewal. *Genes & development*, 24(3), 312-326.

Niimi, T., Hayashi, Y., Futaki, S., & Sekiguchi, K. (2004). SOX7 and SOX17 regulate the parietal endoderm-specific enhancer activity of mouse laminin $\alpha 1$ gene. *Journal of Biological Chemistry*, 279(36), 38055-38061.

Ninomiya, Y., Davies, T. J., & Gardner, R. L. (2005). Experimental analysis of the transdifferentiation of visceral to parietal endoderm in the mouse. *Developmental dynamics*, 233(3), 837-846.

Ogura, Y., Takakura, N., Yoshida, H., & Nishikawa, S. L. (1998). Essential role of platelet-derived growth factor receptor α in the development of the intraplacental yolk sac/sinus of Duval in mouse placenta. *Biology of reproduction*, 58(1), 65-72.

Patterson, E. S., Addis, R. C., Shambloott, M. J., & Gearhart, J. D. (2008). SOX17 directly activates Zfp202 transcription during in vitro endoderm differentiation. *Physiological genomics*, 34(3), 277-284.

Pennisi, D., Gardner, J., Chambers, D., Hosking, B., Peters, J., Muscat, G., ... & Koopman, P. (2000). Mutations in Sox18 underlie cardiovascular and hair follicle defects in ragged mice. *Nature genetics*, 24(4), 434-437.

Pevny, L. H., & Lovell-Badge, R. (1997). Sox genes find their feet. *Current opinion in genetics & development*, 7(3), 338-344.

Sakamoto, Y., Hara, K., Kanai-Azuma, M., Matsui, T., Miura, Y., Tsunekawa, N., ... & Kanai, Y. (2007). Redundant roles of Sox17 and Sox18 in early cardiovascular development of mouse embryos. *Biochemical and biophysical research communications*, 360(3), 539-544.

Schepers, G. E., Teasdale, R. D., & Koopman, P. (2002). Twenty pairs of sox: extent, homology, and nomenclature of the mouse and human sox transcription factor gene families. *Developmental cell*, 3(2), 167-170.

Shimoda, M., Kanai-Azuma, M., Hara, K., Miyazaki, S., Kanai, Y., Monden, M., & Miyazaki, J. I. (2007). Sox17 plays a substantial role in late-stage differentiation of the extraembryonic endoderm in vitro. *Journal of cell science*, 120(21), 3859-3869.

Taniguchi, K., Hiraoka, Y., Ogawa, M., Sakai, Y., Kido, S., & Aiso, S. (1999).

Isolation and characterization of a mouse SRY-related cDNA, mSox7. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1445(2), 225-231.

Uemura, M., Ozawa, A., Nagata, T., Kurasawa, K., Tsunekawa, N., Nobuhisa, I., ... & Saijoh, Y. (2013). Sox17 haploinsufficiency results in perinatal biliary atresia and hepatitis in C57BL/6 background mice. *Development*, 140(3), 639-648.

Wat, M. J., Beck, T. F., Hernández-García, A., Yu, Z., Veenma, D., Garcia, M., ... & Lally, K. P. (2012). Mouse model reveals the role of SOX7 in the development of congenital diaphragmatic hernia associated with recurrent deletions of 8p23.

1. *Human molecular genetics*, 21(18), 4115-4125.

Young, N., Hahn, C. N., Poh, A., Dong, C., Wilhelm, D., Olsson, J., ... & Koopman, P. (2006). Effect of disrupted SOX18 transcription factor function on tumor growth, vascularization, and endothelial development. *Journal of the National Cancer Institute*, 98(15), 1060-1067.

Zhou, Y., Williams, J., Smallwood, P. M., & Nathans, J. (2015). Sox7, Sox17, and Sox18 cooperatively regulate vascular development in the mouse retina. *PloS one*, 10(12), e0143650.

Zohn, I. E., & Sarkar, A. A. (2010). The visceral yolk sac endoderm provides for absorption of nutrients to the embryo during neurulation. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, 88(8), 593-600.