

PhD Student Trine Vestergaard Dam, BSc

Place of enrolment: University of Southern Denmark, Department of biochemistry and molecular biology

Principal supervisor: Associate professor Lars Grøntved, University of Southern Denmark, Department of biochemistry and molecular biology

Title of project: A genomics approach to study the non-parenchymal cell population of the liver

ABSTRACT

The liver maintains systemic metabolic homeostasis through complex interplay between resident parenchymal- and non-parenchymal cell populations as well as through tissue crosstalk. Hepatic tasks change dynamically to meet different metabolic needs of the organism during circadian feed/fasting cycles, facilitated by rhythmic circadian gene expression and - enzyme activity in cells. Interestingly, circadian eating habits impact hepatic rhythmic gene expression, and this link may drive the progression of metabolic diseases such as type 2 diabetes and fatty liver diseases. Comprehensive studies have identified gene regulatory networks controlling the acute feeding response of the liver, which has increased our understanding of how disruption of circadian eating rhythms may impact metabolic processes. However, due to difficulties in isolating rare non-parenchymal hepatic cells, mainly the abundant parenchymal hepatocytes have been studied in this context and the role of non-parenchymal cells remains largely unexplored.

This PhD project aims to identify gene regulatory networks of the hepatic non-parenchymal cell population both during the acute feeding response and in non-alcoholic steatohepatitis (NASH) by using *in vivo* cell tagging and genome-wide technology at population- or single cell resolution. A regulatory network identified in a specific cell population will then be disrupted to study how it impacts the function of the given cell type and of hepatocytes during the acute feeding response. Finally, RNA sequencing data obtained from liver biopsies of NASH patients will be deconvoluted into cellular components. I expect that this experimental approach will a) reveal novel cell populations of the liver responding to feeding intervention, b) highlight intercellular signalling pathways between parenchymal and non-parenchymal cell populations important for the acute feeding response and c) allow determination of cellular changes associated with NASH in a human pathophysiological setting. This project will lead to a better understanding of how changes in circadian eating behaviour relate to NASH progression and it thereby has huge potential to identify novel therapy strategies worth exploring.

ABSTRAKT

Leveren udfører essentielle biokemiske processer, hvoraf mange er afgørende for opretholdelse af metabolisk ligevægt i kroppen. Dette sker i et komplekst samspil mellem parenkymale hepatocytter og ikke-parenkymale cellepopulationer, såsom endothelceller, Kupffer-celler, kolangiocytter og stellatceller. Skiftende metaboliske behov under fodrings/faste-cykler imødekommes af rytmisk aktivering/inhibering af lever-specifikke processer, hvilket på cellulært niveau faciliteres igennem døgnrytmisk genekspression og -enzymaktivitet. Dramatiske ændringer af spisevaner i forhold til en normal døgnrytme fører til store ændringer i leverens rytmiske genekspression, hvilket ofte korrelerer med udvikling af metaboliske sygdomme såsom type 2 diabetes og ikke-alkoholisk steatohepatitis (NASH). Dybdegående genomiske studier har

identificeret centrale genregulatoriske netværk, som kontrollerer leverens akutte føderespons, hvilket har øget vores forståelse af, hvordan forstyrrelser i den intracellulære døgnrytmiske genekspression påvirker metaboliske processer i leveren. Som følge af høj forekomst af hepatocytter i leveren er genregulatoriske mekanismer dog hovedsageligt blevet karakteriseret i relation til denne cellepopulation, hvorimod intracellulære processer i sjældne ikke-parenkymceller celletyper er undersøgt i langt mindre grad.

Formålet med dette PhD-projekt er at identificere genregulatoriske netværk i ikke-parenkymale leverceller i forbindelse med akut respons på fødeindtag eller som konsekvens af udvikling af NASH. Dette adresseres ved anvendelse af *in vivo* celletype-specifik mærkning af kerner i leveren hos mus kombineret med avanceret celletype- og enkeltcelle genomsekventeringsteknologi. Ud fra denne detaljerede analyse vil et centralt genregulatorisk netværk blive funktionelt karakteriseret i en bestemt ikke-parenkymal cellepopulation. Slutteligt vil genererede enkeltcelle-atlaser over ikke-parenkymale celletyper i leveren integreres med RNA-sekventeringsdata fra leverbiopsier udtaget fra patienter med NASH for at validere, hvordan ikke-parenkymale celletyper bidrager til sygdomsudvikling hos mennesket.

Denne eksperimentelle strategi forventes at a) afsløre nye cellepopulationer i leveren, der reagerer på fødeindtag, b) identificere intercellulære signalleringsveje mellem parenkymale og ikke-parenkymale cellepopulationer under det akutte føderespons og c) lede til en dybere forståelse af cellulære forandringer associeret med NASH hos mennesker. Overordnet set vil dette projekt derved føre til en bedre forståelse af sammenhængen mellem ændringer i spiseadfærd og udvikling af NASH, og kan dermed have potentiale til at belyse nye målrettede behandlingsstrategier for patienter med fedme-inducerede leversygdomme.