



Title	Single-cell transcriptome analysis of a rat model of bilateral renal ischemia-reperfusion injury
Author(s)	谷口, 歩
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/92071">https://hdl.handle.net/11094/92071</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

# 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏 名 Name	谷口 歩
論文題名 Title	Single-cell transcriptome analysis of a rat model of bilateral renal ischemia-reperfusion injury (ラット両側腎虚血再灌流モデルに対する単一細胞トランスクリプトーム解析)
<p>論文内容の要旨</p> <p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>虚血再灌流障害 (IRI: ischemia reperfusion injury) は代表的な急性腎障害であるとともに、慢性腎臓病への移行も知られている。腎移植手術においては、ドナーの体内で腎血流を遮断したのちに腎臓を摘出し、レシピエント血管からの血流が再開するまでの一定時間は腎臓の虚血状態が生じることから、必ず腎臓のIRIを伴う。腎虚血再灌流障害に対する研究では動物モデルが頻用され、ラットの両側腎動脈を60分間阻血するモデルもこの一つである。しかし、IRIが腎細胞に与える影響の根底にあるメカニズムは十分には解明されていない。</p> <p>この研究ではラット両側腎IRIに対するシングルセルRNAシーケンスを用いた全トランスクリプトーム解析を行うことにより、IRIにより特に障害を受ける細胞および障害に寄与する細胞を解析することを目的とした。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>6週齢の雄性SDラットを開腹し、両側腎動静脈を血管クリップで60分間阻血することによりラット両側腎IRIモデルを作成した。</p> <p>再灌流48時間後および開腹のみを行ったShamの腎臓を採取して酵素融解したのち、フローサイトメトリーを用いて解析対象とする細胞のソーティングを行った。Sytoxで死細胞を標識し除去した①生細胞サンプル (IRI: 5826細胞、Sham: 7269細胞)、生細胞のうち血球マーカーCD45が陰性の細胞のみを選択した②CD45陰性サンプル (IRI: 2649細胞、Sham: 4271細胞) を回収した。これらのサンプルを用いてシングルセルRNAシーケンスを実行した。具体的にはNext GEM single cell 3'kit NextSeq2000を用いてライブラリ作成し、10x Genomics Cell RangerおよびSeuratを用いて発現変動解析、データの可視化を行った。</p> <p>①生細胞サンプルを遺伝子発現プロファイリングの違いによりクラスターリングしたところ、生細胞はUMAP上で18のクラスターに分類された。腎実質細胞ではIRIによりクラスター内の変化およびShamでは認めなかった新規クラスターの形成を認めた。また、IRIではShamと比較して血球細胞の増加を認め、特にマクロファージではクラスター内変化と新規クラスターの形成を伴う著しい変化を認めた。</p> <p>②CD45陰性細胞サンプルは同様に遺伝子発現プロファイリングを用いて16のクラスターに分類された。Shamで認めた近位尿細管、遠位尿細管、ヘンレのループの細胞集団はIRIで減少し、IRIでは<i>Spp1</i>を発現するクラスターが複数出現した。これらのクラスターは<i>Spp1</i>と同時にそれぞれ近位尿細管、ヘンレのループ、集合管主細胞のマーカー遺伝子を発現していた。</p> <p>続いて、①生細胞サンプルの解析で著明な変化を示したマクロファージに着目した追加解析を行った。マクロファージのマーカー遺伝子である<i>Csf1r</i>, <i>Adgre1</i>を発現する細胞のみを6つのクラスターに分類した。IRIでは細胞周囲の加速した組織常在マクロファージおよび樹状細胞の集団を認めた。また、ケモカイン受容体である<i>Cxcr4</i>強陽性のクラスターはIRIでは減少し、<i>Cxcr4</i>弱陽性で<i>Cd274</i> (PD-L1) 陽性のクラスター、<i>Cd14</i>陽性かつ<i>Vcan</i>陽性のクラスターが出現した。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>シングルセルRNAシーケンスを用いてラットIRIモデルにおいて障害を受ける腎細胞を特定し、同時にマクロファージの遺伝子発現が著しく変化することを示した。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 谷口 歩				
論文審査担当者	(職)		氏 名	
	主 査	大阪大学教授	野々村 祝夫	男 子
	副 査	大阪大学教授	樂 木 宏 晃	男 子
	副 査	大阪大学教授	瀧 阪 善 隆	男 子

## 論文審査の結果の要旨

腎虚血再灌流障害 (IRI: ischemia reperfusion injury) は代表的な急性腎障害の原因であるが、そのメカニズムは十分には解明されていない。シングルセルRNAシーケンスは、従来の組織全体に対するシーケンスとは異なり細胞一つ一つの遺伝子発現に対する解析を可能とする。申請者らはラットの両側腎虚血再灌流モデルに対してシングルセルRNAシーケンスを行った。生細胞全体に対する解析では腎実質細胞の変化に加えてマクロファージの新しいクラスタ形成を伴う著しい変化を認めた。続いて、腎実質細胞に焦点をあてた解析を行ったところ、特に近位尿細管、遠位尿細管、ヘンレのループの正常なクラスタがIRIで減少していることと、IRIでは*Spp1*を発現するクラスタが複数出現することを示した。マクロファージに着目した解析では、組織常在マクロファージの細胞周期加速、ケモカイン受容体*Cxcr4*の発現変化、*Cd274*(PD-L1)陽性のクラスタ出現、*Cd14*陽性かつ*Vcan*陽性のクラスタ出現を認めた。これらの結果は、障害を受けた腎細胞が発現する*Spp1*がマクロファージに刺激を与え、組織修復、死細胞クリアランス、細胞性免疫調整といった変化を促すことを示唆する。上記の研究により学位の授与に値すると考えられる。