

# Single-cell RNA sequencing analysis identified inflammation-associated fibroblasts from inflammatory cornea

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2023-06-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 尾上, 美樹 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2002928">https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2002928</a>

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 2613 号

Single-cell RNA sequencing analysis identified inflammation-associated fibroblasts from inflammatory cornea

シングルセル RNA シーケンスを用いた角膜炎症時の角膜混濁に関与する線維芽細胞集団の同定

尾上 美樹 (おのうえ みき)

博士 (医学)

#### 論文内容の要旨

角膜が透明であることによって視界は良好に保たれる。アレルギー、感染症や外傷などの慢性炎症を受けると、角膜は混濁や新生血管を伴い、視力低下を引き起こす重篤な状態となる。しかしながら、慢性炎症による、角膜混濁や角膜新生血管の機序については、不明な点が多い、よって、今回我々は、慢性炎症によって角膜混濁を伴った角膜新生血管を引き起こすモデルを作成し、角膜病変の病態形成の分子メカニズム・細胞動態を解析した。House dust mite (HDM) と重症アトピー性皮膚炎の患者の皮膚に多く存在している Staphylococcal enterotoxin B (SEB) を用いて、炎症角膜マウスモデルを作製した。マウスに、0 日目と 7 日目に HDM+SEB を皮下注射し、その後週 5 回の HDM+SEB の点眼を行い、5 週間後に解析をした。結果は、PBS 群と比較して、HDM+SEB 群では、角膜混濁を伴う角膜新生血管が引き起こされた。この角膜混濁や新生血管を引き起こす細胞を明らかにするために、角膜組織から採取した細胞を single-cell (sc) RNA sequencing で解析した。PBS 群と比較して HDM+SEB 群の角膜には、*Col14a1* 陽性線維芽細胞の集団が多く存在することが sc RNA sequencing の結果からわかった。同様に、角膜の免疫染色では、HDM+SEB を投与した炎症角膜には、*Col14a1* 陽性線維芽細胞が多く存在していた。次に、*Col14a1* 陽性線維芽細胞と炎症細胞の関係を調べるために、*CD45* 陽性細胞のクラスターを scRNA sequencing で再解析した。PBS 群と比較して、HDM+SEB 群では T 細胞が一番多く存在していた。同様に、免疫染色の結果でも、CD4 陽性 T 細胞や  $\gamma \delta$  T 細胞が HDM+SEB 群の角膜で見られた。そこで、CD4 陽性 T 細胞の働きについて調べるために、PBS または HDM+SEB を投与したマウスに抗 CD4 抗体を用いて実験を行った。HDM+SEB を投与して炎症角膜を誘導したマウスに抗 CD4 抗体を投与した群では、抗体を投与していない群と比較して、角膜に浸潤していた *Col14a1* 陽性線維芽細胞の面積が減少した。以上より、炎症角膜には *Col14a1* 陽性線維芽細胞が増加し、さらにその機序に CD4 陽性 T 細胞が関与している可能性があることが示された。