doi 10.18699/bgrs2026-1018

Мультимодальное транскриптомное профилирование надпочечника *Acomys cahirinus*

Быданов А.[1]*, Билялов А.[2, 3], Воронина Т.[1, 3], Максимов Д.[4], Газизова Г.[1], Шагимарданова Е.[3, 5], Гусев О.[3, 6], Козлова О.[1]

[1] *Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*
[2] *Московский клинический научный центр имени А.С. Логинова, Москва, Россия*
[3] *Лифт Центр (LIFT), Москва, Россия*
[4] *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
[5] *ЦКП в области геномики и биовизуализации, Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия*
[6] *Высшая школа медицины, Университет Джунтэндо, Токио, Япония*
* *andrey.tokyo23@gmail.com*

Ключевые слова: секвенирование единичных клеток; пространственная транскриптомика; надпочечник; адренокортикальные зоны; *Acomys cahirinus*; RNA velocity; стероидогенез; StereoSeq

Мотивация и цель: Ранее мы показали, что надпочечник *Acomys cahirinus* обладает морфологически и транскрипционно обособленной сетчатой зоной (*zona reticularis*), экспрессирующей ген *Cyp17a1*, что делает его значительно ближе к человеческому, чем у стандартных лабораторных мышей. С помощью методов транскриптомики – RNA-seq и CAGE-seq – было выявлено повышение экспрессии ключевых генов стероидогенеза (*Cyp17a1, Sult1e1, Hsd3b2, Kiss1, H2-Ke6*), а также показано соответствие транскрипционного профиля надпочечника акомиса человеческим профилям [1]. Однако методы классического транскриптомного анализа не позволяют определить зоноспецифичные и клеточные программы экспрессии, также как и идентифицировать переходные состояния, лежащие в основе пластичности коры надпочечника. В настоящей работе мы применили технологию секвенирования единичных клеток 10x Chromium snRNA-seq и пространственную транскриптомику по технологии StereoSeq для построения мультимодального атласа надпочечника акомиса. Это позволило изучить зональные программы экспрессии, переходные клеточные состояния и пространственную организацию стероидогенных путей.
Методы и алгоритмы: Методом StereoSeq с клеточным разрешением было выполнено пространственное секвенирование четырех образцов надпочечников *Acomys cahirinus*. Сегментация тканевых срезов была проведена с помощью кластеризации DBSCAN по пространственным координатам с последующей оценкой качества сегментов по стандартным метрикам качества. Сегменты, прошедшие контроль качества, были отобраны для дальнейшего анализа с использованием программного обеспечения Scanpy и Stereopy. Пространственно вариабельные генные модули были идентифицированы методом Hotspot (Stereopy), обогащение путей по Gene Ontology выполнено с помощью gseapy. Параллельно обрабатывались результаты секвенирования единичных клеток (scRNA-seq), в ходе чего методом CCA из пакета Seurat было интегрировано 10 образцов надпочечников акомиса (~46 000 клеток); скорость транскрипции (RNA velocity) рассчитывалась с помощью scVelo. Линии траекторий velocity были спроецированы на UMAP; для оценки воспроизводимости реконструированных траекторий был выполнен анализ velocity по отдельным образцам. Также был применен анализ псевдовремени с помощью Monocle3 для восстановления линий клеточной дифференцировки между зонами коры надпочечника.
Результаты: В результате анализа пространственных транскриптомных данных надпочечников акомиса было обнаружено 5 пространственно вариабельных генных модулей, соответствующих основным анатомическим зонам: капсуле, клубочковой зоне (*zona glomerulosa*, ZG), пучковой зоне (*zona fasciculata*, ZF), сетчатой зоне (*zona reticularis*, ZR) и мозговому веществу, что согласуется с зоноспецифичной экспрессией маркеров, ранее установленной методами иммуногистохимии и классического анализа RNA-seq [1]. Один из модулей помог установить морфологически и транскрипционно обособленную сетчатую зону (ZR). Эта зона также характерна для надпочечника человека, но отсутствует у стандартных лабораторных мышей. Анализ обогащения путей по Gene Ontology связал эти модули с зоноспецифичными биологическими процессами, включая биосинтез стероидов, метаболизм катехоламинов и организацию внеклеточного матрикса. Конститутивно экспрессирующиеся гены стероидогенеза (*Hmgcr, Star, Cyp11a1*), известные активностью у акомиса [1], входили в состав нескольких кортикальных модулей, подтверждая их кортикальную экспрессию. Анализ транскриптомных данных единичных клеток выявил выраженную гетерогенность ZG, включающую субкапсулярную популяцию *Dlk1*+ клеток, сходную с недифференцированными прогениторными клетками человека. Это клеточное состояние отсутствует в надпочечнике мыши. Анализ экспрессии генов стероидогенеза обнаружил активность нестандартного набора паралогов генов семейства *Hsd3b* (2 копии *Hsd3b1*, по 1 копии *Hsd3b4* и *Hsd3b7*), в то время как для человека характерна экспрессия гена *Hsd3b2*, а для мыши – *Hsd3b6*. При этом экспрессия гена *Hsd3b4* у акомиса была детектирована в образцах самцов, а *Hsd3b1* – в образцах самок.
Было показано, что *Wnt4* – ключевой лиганд сигнального пути Wnt/β-катенин, регулирующий гомеостаз коры, – экспрессируется преимущественно в пучковой, а не в клубочковой зоне, как у мыши и человека, что

говорит о нестандартном смещении путей Wnt-сигналинга относительно данных видов. Экспрессия гена *Shh* в образцах акомиса практически отсутствовала, что согласуется с отсутствием канонических субкапсулярных *Shh*+ прогениторов мышиного типа. Вместо этого обновление коры у акомиса следует человеческому паттерну: капсулярные *DCN*+ фибробласты и *ACTA2+/RGS5*+ гладкомышечные клетки сосудов (VSMCs) служат источниками переходов, *EZH2*+ прогениторы распределены диффузно по коре. При этом мыше-специфичные капсулярные стволовые клетки *Wt1*+ практически отсутствуют. Анализ скорости транскрипции (RNA velocity) выявил бифуркационную траекторию дифференцировки, берущую начало от ZG-Dlk1+ прогениторов: одна ветвь направлена к ZF, другая – к ZR через переходный кластер клеток, что согласуется с центрипетальной моделью дифференцировки коры от общего пула прогениторных клеток. Сопоставление пространственных модулей Hotspot с аннотацией кластеров scRNA-seq подтвердило, что вычислительно определенные клеточные состояния имеют чёткую пространственную локализацию в ткани.
Выводы: В данной работе впервые представлен первый атлас клеток надпочечника *Acomys cahirinus*, разработанный на основе анализа данных траскриптомики единичных клеток, в том числе, пространственной транскриптомики. Результаты развивают нашу предыдущую характеристику этого вида как человекоподобной модели надпочечника [1]. На уровне единичных клеток показано, что акомис разделяет с человеком ключевые особенности биологии коры надпочечника, отсутствующие у лабораторных мышей: транскрипционно обособленную сетчатую зону (ZR), гетерогенную клубочковую зону (ZG) с *Dlk1*+ прогениторными клетками и обновление коры через капсулярные фибробласты и VSMCs, а не через *Wt1*+ стволовые клетки. В то же время акомис демонстрирует видоспецифичные черты: расширенное разнообразие паралогов – генов семейства *Hsd3b* – и смещение зоны экспрессии гена *Wnt4* в пучковую зону (ZF). В совокупности полученные данные позиционируют *Acomys cahirinus* как уникальную модель для изучения зональности и стероидогенной регуляции надпочечника человека.
Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Программы академического стратегического лидерства Казанского федерального университета (Приоритет-2030).

Multi-modal transcriptomic profiling of adrenal gland of *Acomys cahirinus*

Bydanov A.[1]*, Bilyalov A.[2, 3], Voronina T.[1, 3], Maksimov D.[4], Gazizova G.[1],
Shagimardanova E.[3, 5], Gusev O.[3, 6], Kozlova O.[1]
[1] *Regulatory Genomics Research Center, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia*
[2] *Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia*
[3] *Life Improvement by Future Technologies (LIFT) Center, Moscow, Russia*
[4] *Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*
[5] *Genomics and bioimaging Core Facility, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia*
[6] *Graduate School of Medicine, Juntendo University, Tokyo, Japan*
* *andrey.tokyo23@gmail.com*

Key words: single-cell RNA sequencing; spatial transcriptomics; adrenal gland; adrenocortical zonation; *Acomys cahirinus*; RNA velocity; steroidogenesis; StereoSeq

Motivation and Aim: We previously demonstrated that *Acomys cahirinus* possesses a transcriptionally and morphologically distinct *zona reticularis* (ZR) expressing *Cyp17a1* gene, making it closer to human adrenal cortex more than to conventional mouse models [1]. Bulk RNA-seq and CAGE-seq revealed upregulation of key steroidogenic genes (*Cyp17a1, Sult1e1, Hsd3b2, Kiss1, H2-Ke6*) and GTEx-based alignment with human adrenal transcriptional signatures [1]. However, bulk approaches cannot resolve zone- and cell-type-specific programs or capture transitional states underlying cortical plasticity. Here, we apply 10x Chromium scRNA-seq and StereoSeq spatial transcriptomics to construct a multi-modal atlas of acomys adrenal gland, resolving zone-specific expression programs, transitional cell states and spatial organization of steroidogenic pathways.
Methods and Algorithms: Adrenal glands of *Acomys cahirinus* were profiled using StereoSeq spatial transcriptomics at bin- and cell-level resolution. Tissue sections were segmented via DBSCAN clustering on spatial coordinates, followed by quality control assessment of per-section metrics. High-quality sections were selected for downstream analysis using Scanpy and Stereopy. Spatially variable gene modules were identified using Hotspot analysis, and Gene Ontology enrichment was performed with gseap. In parallel, scRNA-seq data from 10 Acomys adrenal samples (~46,000 cells) were integrated using Seurat CCA, and RNA velocity was computed with scVelo. Velocity streamlines were projected onto UMAP embeddings, and per-sample velocity analysis was performed to assess reproducibility of inferred trajectories. Monocle3 pseudotime analysis was applied to reconstruct lineage trajectories across adrenocortical zones.
Results: Spatial transcriptomic profiling of Acomys adrenal glands revealed 5 spatially variable gene modules corresponding to major anatomical compartments, including capsule, ZG (*zona glamerulosa*), ZF (*zona fasciculata*), ZR (*zona reticularis*) and medulla, consistent with the zone-specific marker expression previously established by immunohistochemistry and bulk RNA-seq data [1]. Notably, the ZR module defined a morphologically and transcriptomically distinct *zona reticularis* – a feature shared with humans but absent in standard laboratory mice. GO enrichment analysis connected these modules to zone-specific biological processes including steroid biosynthesis,

catecholamine metabolism and extracellular matrix organization. Constitutively expressed steroidogenesis genes (*Hmgcr, Star, Cyp11a1*), previously identified as upregulated in acomys [1], were shared across cortical modules at the spatial level, confirming their pan-cortical expression.

ScRNA-seq analysis revealed marked heterogeneity within the ZG, including a *Dlk1*+ subcapsular population similar to human undifferentiated progenitors. This cell state is absent in mouse adrenal. Steroidogenic enzyme profiling uncovered a complex pattern of *Hsd3b* paralogs (*Hsd3b1* – 2 copies, 1 copy of *Hsd3b4* and *Hsd3b7*), diverging from the single-gene usage in humans (*Hsd3b2*) and mice (*Hsd3b6*). It also was noted, that *Hsd3b4* showed male-specific expression, while *Hsd3b1* – female-specific one.

Wnt4 – key ligand of the Wnt/β-catenin pathway regulating cortical homeostasis – was highly expressed in ZF rather than ZG. It is a non-canonical shift of the Wnt-signaling niche relative to both humans and mice. *Shh* expression was near-absent, consistent with the lack of canonical mouse-type subcapsular *Shh*+ progenitors. Instead, acomys cortical renewal shows the human pattern: capsular *DCN*+ fibroblasts and *ACTA2+/RGS5*+ VSMCs served as transition sources, with diffuse *EZH2*+ progenitors throughout the cortex, while mouse-specific *Wt1*+ capsular stem cells were minimal. RNA velocity analysis revealed a bifurcating differentiation trajectory originating from ZG-Dlk1 progenitors: one branch directed toward ZF, the other toward ZR via a transitional intermediate, consistent with centripetal zonation from a common progenitor pool. Spatial Hotspot modules with scRNA-seq cluster annotations confirmed spatial coherence of computationally defined cell states.

Conclusion: This study presents the first single-cell and spatial transcriptomic atlas of *Acomys cahirinus* adrenal gland, extending our earlier characterization of this species as a human-like adrenal model [1]. At single-cell resolution, acomys shares key features of human adrenocortical biology that are absent in laboratory mice: a transcriptomically distinct *zona reticularis*, a heterogeneous *zona glomerulosa* containing *Dlk1*+ progenitors and cortical renewal via capsular fibroblasts and VSMCs rather than *Wt1*+ stem cells. At the same time, acomys displays species-specific features, including expanded *Hsd3b* paralog diversity and ZF-shifted *Wnt4* expression domain. Together, these data establish *Acomys cahirinus* as a uniquely informative model for human adrenal zonation and steroidogenic regulation.

Funding: This work was supported by the Strategic Academic Leadership Program of Kazan (Volga Region) Federal University (PRIORITY-2030).

Список литературы/References

1. Bilyalova A., Bilyalov A., Kozlova O., Filatov N., Filimoshina D., Gazizova G., Deviatiiarov R., Titova A., Bydanov A., Mukhamedshina Y., Shagimardanova E., Kiyasov A., Tychinin D., Woroncow M., Gusev O. Morphological and Transcriptomic Analyses of the Adrenal Gland in Acomys cahirinus: A Novel Model for Murine Adrenal Physiology. Cells. 2025;14(18):1431. doi 10.3390/cells14181431