

An integrated single cell reference atlas of the mouse and human hypothalamus

Abstract

The hypothalamus plays a key role in the regulation of metabolism and energy homeostasis, as well as several other fundamental body functions, which makes this highly conserved brain region of central importance in obesity research. Recent advances in single-cell RNA sequencing (sc-seq) have revealed the massive heterogeneity of hypothalamic neurons through a multitude of studies conducted in mouse. However, until now a unified catalog of the heterogeneous neuronal cell types is still lacking. Here, sc-seq integration algorithms are systematically evaluated and the best-performing method, single-cell variational inference (scvi), is utilized to build an integrated reference atlas "HypoMap" of the murine hypothalamus consisting of 384,925 cells across 18 data sets. This includes a novel single-nucleus RNA sequencing (sn-seq) data set that is used to reveal hypothalamic neurons activated after fasting. Using data collected from SmartSeq2 and bulk RNA sequencing of selected neuronal cell types, the mouse HypoMap is validated at different degrees of cellular granularity. Novel human sn-seq data is then integrated into a complementary human HypoMap that for the first time provides a comprehensive census of the human hypothalamus including 433,369 cells from 11 donors. The neurons of human and mouse HypoMap are compared extensively, demonstrating that nearly 80% of human neurons have at least one corresponding murine cell type. Despite this striking overlap, strong differences in G protein-coupled receptor (GPCR) expression patterns of corresponding cell types between the two species exist. Classes of neurons involved in the regulation of metabolism, including glucagon-like peptide-1 receptor (Glp1r) and Prepronociceptin (Pnoc) expressing cell types are identified across species and are validated using single-molecule in-situ hybridization in mouse. Collectively, the human and mouse HypoMap aid in the systematic functional annotation of hypothalamic cell types, facilitate the projection and annotation of newly generated data and allow translatability between human and mouse to identify druggable targets for treating metabolic disorders.

Zusammenfassung

Der Hypothalamus spielt eine Schlüsselrolle bei der Regulierung des Stoffwechsels und der Energiehomöostase sowie bei verschiedenen weiteren grundlegenden Körperfunktionen, wodurch diese hochkonservierte Gehirnregion von zentraler Bedeutung in der Adipositasforschung ist. Fortschritte im single-cell sequencing (sc-seq) haben durch eine Vielzahl von Studien an Mäusen die enorme Heterogenität hypothalamischer Neuronen offenbart. Allerdings fehlt bislang noch ein einheitlicher Katalog der heterogenen Zelltypen und insbesondere der neuronalen Subtypen in Hypothalamus. In dieser Arbeit werden sc-seq-Integrationsalgorithmen systematisch evaluiert und die leistungsstärkste Methode, Single-Cell-Variational-Inferenz (scvi), wird verwendet um „HypoMap“, einen integrierten Referenzatlas des Hypothalamus der Maus zu erstellen, welcher 384.925 Zellen aus 18 Datensätzen umfasst. Dazu gehört ein neuartiger Single-Nucleus-Sequencing-Datensatz (sn-seq), der verwendet wird, um hypothalamische Neuronen zu beschreiben, die durch Fasten aktiviert werden. Die Maus HypoMap wird durch den Vergleich von Daten aus SmartSeq2 und bulkRNA-Sequencing ausgewählter neuronaler Zelltypen mit unterschiedlichem Grad an zellulärer Heterogenität validiert. Neue menschliche sn-seq-Daten werden anschließend zu einer komplementären menschlichen HypoMap integriert, die zum ersten Mal einen umfassenden Zensus des menschlichen Hypothalamus mit 433.369 Zellen von 11 Spendern ermöglicht. Die Neuronen von menschlicher und Maus HypoMap werden verglichen um zu zeigen, dass sich für fast 80% der menschlichen Neuronen mindestens ein entsprechender Zelltyp in der Maus finden lässt. Trotz dieser deutlichen Ähnlichkeit, bestehen starke Unterschiede in den GPCR-Expressionsmustern der korrespondierenden Zelltypen zwischen den beiden Arten. Anschließend werden Klassen von Neuronen, die an der Regulierung des Stoffwechsels beteiligt sind, einschließlich Zelltypen, die den Glucagon-ähnlichen Peptid-1-Rezeptor (Glp1r) und Prepronociceptin (Pnoc) exprimieren, speziesübergreifend identifiziert und mithilfe von single-molecule in situ hybridization in Mäusen validiert. Die menschliche und Maus HypoMap bieten einen einheitlichen Rahmen für die systematische funktionelle Annotation hypothalamischer Zelltypen, erleichtern die Projektion und Annotation neu generierter Daten und ermöglichen den Vergleich zwischen Mensch und Maus, um Kandidaten-Gene zur Behandlung von Stoffwechselstörungen zu identifizieren.