* Article
* Accès libre
* [Publié: 24 février 2020](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#article-info)

**Expression élevée du récepteur ACE2 de 2019-nCoV sur les cellules épithéliales de la muqueuse buccale**

* [Hao Xu](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#auth-1) ,
* [Liang Zhong](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#auth-2) ,
* [Jiaxin Deng](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#auth-3) ,
* [Jiakuan Peng](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#auth-4) ,
* [Hongxia Dan](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#auth-5) ,
* [Xin Zeng](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#auth-6) ,
* [Taiwen Li](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#auth-7) &
* [Qianming Chen](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#auth-8)

[*International Journal of Oral Science*](https://www.nature.com/ijos)**volume 12** , Numéro d'article:  8 ( 2020 ) [Citer cet article](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#citeas)

* **96k**accès
* **10**citations
* **759**Altmetric
* [Détails desmesures](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x/metrics)

**Abstrait**

Il a été signalé que l'ACE2 est le principal récepteur des cellules hôtes du 2019-nCoV et joue un rôle crucial dans l'entrée du virus dans la cellule pour provoquer l'infection finale. Pour étudier la voie potentielle d'infection 2019-nCov sur la muqueuse de la cavité buccale, des profils d'ARN-seq en vrac provenant de deux bases de données publiques, notamment l'Atlas du génome du cancer (TCGA) et l'Annotation fonctionnelle de l'analyse du chapeau de génome de mammifère de l'expression des gènes (CAGE FANTOM5) ensemble de données ont été collectées. Les données de profilage ARN-seq de 13 types d'organes avec des tissus normaux de para-carcinome de TCGA et de 14 types d'organes avec des tissus normaux de FANTOM5 CAGE ont été analysées afin d'explorer et de valider l'expression de l'ACE2 sur la muqueuse de la cavité buccale. Plus loin, Des transcriptomes monocellulaires provenant de données indépendantes générées en interne ont été utilisés pour identifier et confirmer la composition cellulaire et la proportion exprimant l'ACE2 dans la cavité buccale. Les résultats ont démontré que l'ACE2 s'exprimait sur la muqueuse de la cavité buccale. Fait intéressant, ce récepteur était hautement enrichi en cellules épithéliales de la langue. À titre préliminaire, ces résultats ont expliqué le mécanisme de base selon lequel la cavité buccale est un risque potentiellement élevé de sensibilité infectieuse au nCoV 2019 et ont fourni des éléments de preuve pour la future stratégie de prévention dans la pratique clinique dentaire ainsi que dans la vie quotidienne.

**introduction**

Depuis décembre 2019, un nombre croissant de patients atteints de pneumonie sont survenus à Wuhan, dans la province du Hubei, en Chine, qui a attiré beaucoup d'attention non seulement en Chine mais dans le monde [1](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR1),[2](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR2) . La nouvelle pneumonie a été nommée Corona Virus Disease 19 (COVID-19) par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) ( [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22 -ncov.pdf? sfvrsn = fb6d49b1\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1_2) ), les symptômes communs de COVID-19 au début de la maladie étaient la fièvre, la fatigue, la toux sèche, la myalgie et la dyspnée [3](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR3) . De plus, certains patients peuvent souffrir de maux de tête, d'étourdissements, de douleurs abdominales, de diarrhée, de nausées et de vomissements [3](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR3). L'apparition de la maladie peut entraîner une insuffisance respiratoire progressive en raison de lésions alvéolaires et même de la mort [4](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR4) .

Les scientifiques ont ensuite isolé un nouveau coronavirus à partir de cellules épithéliales des voies respiratoires humaines, qui a été nommé 2019-nCoV [5](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR5) . Lu et al. [6 ont](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR6) constaté que 2019-nCoV était plus proche de bat-SL-CoVZC45 et bat-SL-CoVZXC21 au niveau du génome entier, et le sous-domaine externe du domaine de liaison aux récepteurs (RBD) 2019-nCoV était plus similaire à celui du domaine sévère coronavirus du syndrome respiratoire aigu (SRAS) (SARS-CoV). L'étude de Zhou et al. [4 ont](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR4) indiqué que l'enzyme de conversion de l'angiotensine II (ACE2) est probablement le récepteur cellulaire du 2019-nCoV, qui était également le récepteur du SARS-CoV et du HCoV-NL63 [7](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR7),[8](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR8) . Zhou et al. [4](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR4)a également prouvé que 2019-nCoV n'utilise pas d'autres récepteurs de coronavirus, l'aminopeptidase N et la dipeptidyl peptidase 4. L'étude de Xu et al. [9 ont](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR9) découvert que le domaine RBD de la protéine S 2019-nCoV supporte une forte interaction avec les molécules ACE2 humaines. Ces résultats suggèrent que l'ACE2 joue un rôle important dans l'entrée cellulaire, ainsi les cellules exprimant l'ACE2 peuvent agir comme cellules cibles et sont sensibles à l'infection 2019-nCoV [10](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR10) .

L'expression et la distribution de l'ACE2 dans le corps humain peuvent indiquer les voies d'infection potentielles du 2019-nCoV. Grâce à la technique développée de séquençage d'ARN unicellulaire (scRNA-Seq) et aux transcriptomes monocellulaires basés sur la base de données publique, les chercheurs ont analysé le profil d'expression d'ARN ACE2 à une résolution unicellulaire. Une expression élevée d'ACE2 a été identifiée dans les cellules alvéolaires de type II (AT2) des poumons [10](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR10),[11](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR11),[12](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR12) , les cellules épithéliales supérieures et stratifiées de l'œsophage, les entérocytes absorbants de l'iléon et du côlon [12](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR12) , les cholangiocytes [13](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR13) , les cellules myocardiques, les cellules des tubules proximaux du rein et les cellules urothéliales de la vessie cellules [10](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR10). Ces résultats ont indiqué que les organes avec des cellules exprimant ACE2 élevé devraient être considérés comme un risque potentiel élevé d'infection au 2019-nCoV [10](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR10) .

Afin d'étudier les voies potentielles d'infection 2019-nCov sur la muqueuse de la cavité buccale, nous avons exploré si l'ACE2 est exprimée et la composition et la proportion des cellules exprimant l'ACE2 dans la cavité buccale sur la base des profils d'ARN-seq en vrac publics de deux publics bases de données et transcriptomes unicellulaires à partir de données indépendantes générées en interne. Le résultat a montré que l'ACE2 pouvait être exprimé dans la cavité buccale et était fortement enrichi en cellules épithéliales. De plus, parmi différents sites oraux, l'expression de l'ACE2 était plus élevée dans la langue que dans les tissus buccaux et gingivaux. Ces résultats indiquent que la muqueuse de la cavité buccale peut être une voie potentiellement à haut risque d'infection 2019-nCov.

**Résultats**

**Analyse d'ensemble de données RNA-seq public**

Les données de profil NA-seq de 13 organes, dont 695 tissus normaux de para-carcinome comme contrôle du TCGA public, ont été obtenues pour notre analyse, et la figure [1a a](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Fig1) montré que l'ACE2 pouvait être exprimé dans divers organes, l'expression moyenne de différents organes pouvait être trouvée dans Tableau [1](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Tab1) . Selon l'expression moyenne de l'ACE2, la muqueuse de la cavité buccale pourrait exprimer l'ACE2, et les résultats ont été validés par les données des tissus normaux du jeu de données FANTOM5 CAGE (Fig. [1b](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Fig1) ).

**Fig. 1**



Analyse ARN-seq en vrac des ensembles de données publics. **un** tracé d'expression du violon ACE2 dans les tissus normaux de para-carcinome de TCGA, colorés par les organes. **b** Diagramme à barres de l'expression de l'ACE2 dans les tissus normaux du jeu de données FANTOM5 CAGE, coloré par les organes. **c** Diagramme à barres de l'expression ACE2 des tissus normaux de para-carcinome de TCGA dans différents sites oraux, colorés par les sites oraux; **d** Boxplot d'ACE2 dans deux types de sites oraux de TCGA, colorés par des sites oraux

[**Image en taille réelle**](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x/figures/1)

**Tableau 1 Taille de l'échantillon et expression ACE2 des tissus normaux du para-carcinome dans différents organes**

[**Table pleine grandeur**](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x/tables/1)

Pour étudier l'expression de l'ACE2 sur la muqueuse de la cavité buccale, nous avons examiné l'expression de l'ACE2 dans différents sites buccaux. Selon les informations du site fournies par le TCGA, parmi les 32 tissus normaux adjacents, 13 tissus situés dans la langue buccale, 2 tissus situés à la base de la langue, 3 tissus situés dans le plancher de la souris et 14 tissus n'ont pas défini la site et viennent d'être mis dans la catégorie de la cavité buccale. La distribution d'expression moyenne de différents sites a été représentée sur la figure [1c](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Fig1) . Lorsque nous avons combiné la base de la langue, le plancher de la bouche et la cavité buccale comme d'autres sites, et les avons comparés à la langue orale, nous avons constaté la tendance évidente que l'expression moyenne de l'ACE2 était plus élevée dans la langue orale (13 tissus) que dans d'autres (19 tissus). ) (Fig. [1d](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Fig1)), bien que cela puisse être dû à la limitation de la taille de l'échantillon, la valeur *p* n'était pas significative ( *P*  = 0,062).

**Analyse ARN-seq monocellulaire des tissus buccaux**

L'ARN-seq monocellulaire a été utilisé pour quatre tissus buccaux, et les données ont été analysées pour confirmer les résultats ci-dessus et évaluer l'expression spécifique de type cellulaire d'ACE2. Après le prétraitement des données (présenté dans la section «Matériaux et méthodes»), 22 969 cellules ont été acquises et 7 types de cellules ont été identifiés (Fig. [2a](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Fig2)), y compris les cellules épithéliales (gènes marqueurs dont SFN, KRT6A et KRT10), les fibroblastes (gènes marqueurs dont FAP, PDPN, COL1A2, DCN, COL3A1, COL6A1), les cellules T (gènes marqueurs dont CD2, CD3D, CD3E et CD3G)) , macrophages (gènes marqueurs dont CD163, CSF1R, CD68 et FCGR2A), mastocytes (gènes marqueurs dont CMA1, MS4A2, TPSAB1, TPSB2), cellules B (gènes marqueurs dont SLAMF7, FCRL5 et CD79A) et cellules endothéliales (gènes marqueurs y compris PECAM1, VWF et ENG). La carte thermique des principaux marqueurs de cellule à travers les types de cellules peut être trouvée sur la figure [2b](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Fig2) .

**Fig.2**



Analyse ARN-seq monocellulaire des tissus buccaux à partir d'un ensemble de données indépendant. **a** Les types à sept cellules ont été identifiés par les marqueurs cellulaires; les cellules ont été regroupées par la méthode UMAP. **b** Carte thermique des marqueurs de cellule pour identifier les types de cellules. **c** Diagrammes de dispersion de toutes les cellules avec l'expression ACE2. **d** Graphique de violon d'expression de l'ACE2 sur différents sites oraux. **e** Graphique de violon d'expression ACE2 sur différents types de cellules. **f** Diagrammes de dispersion des cellules épithéliales de la langue avec expression ACE2

[**Image en taille réelle**](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x/figures/2)

Selon la figure [2c](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Fig2) , [d](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Fig2) , nous avons confirmé que l'ACE2 était exprimée dans les tissus buccaux (0,52% de cellules positives ACE2), et plus élevée dans la langue orale que les tissus buccaux et gingivaux (95,86% de cellules positives ACE2 situées dans la langue orale). La figure [2e](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Fig2) montre que les cellules positives ACE2 peuvent être trouvées dans les tissus buccaux, y compris les cellules épithéliales (1,19% cellules positives ACE2), les cellules T (<0,5%), les cellules B (<0,5%) et les fibroblastes (<0,5%) et l'ACE2 était hautement enrichi en cellules épithéliales, dont 93,38% de cellules positives ACE2 appartiennent aux cellules épithéliales (Fig. [2f](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#Fig2) ). Les résultats ci-dessus ont indiqué que l'ACE2 pouvait être exprimé sur les cellules épithéliales de la muqueuse buccale et hautement enrichi en cellules épithéliales de la langue.

**Discussion**

Au cours des deux dernières décennies, le coronavirus a provoqué deux pandémies à grande échelle, le SRAS en 2002 et le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS) en 2012 [14](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR14) . En décembre 2019, un nouveau coronavirus (2019-nCov) a provoqué une épidémie de pneumonie à Wuhan, en Chine, a réaffirmé le risque de coronavirus posé pour la santé publique [15](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR15) . Les voies d'infection et la pathogenèse de 2019-nCov ne sont pas complètement comprises de loin, et l'étude du récepteur des cellules hôtes 2019-nCoV ACE2 pourrait être utile pour la prévention et le traitement du COVID-19.

Dans cette étude, l'analyse des ensembles de données d'ARN public en vrac a montré que la muqueuse de la cavité buccale pouvait exprimer l'ACE2 et était plus élevée dans la langue que dans d'autres sites buccaux. Les résultats de cette étude étaient cohérents avec ceux de Zou et al. [10](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR10) en général, de nombreux organes avec une expression d'ACE2 plus élevée que le poumon, tels que l'intestin, le cœur et les reins. Selon l'étude de Zhao et al. [11](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR11) , l'expression ACE2 dans le poumon est concentrée dans une petite population de cellules alvéolaires de type II (AT2), ce qui peut provoquer l'expression relativement faible ACE2 du poumon dans l'analyse des ensembles de données d'ARN en vrac. Même si le résultat de Zou et al. ont indiqué que les voies respiratoires devraient également être considérées comme une cible vulnérable à l'infection au 2019-nCoV [10](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR10) .

Les résultats de nos profils ARN-seq monocellulaires ont validé l'expression de l'ACE2 dans la cavité buccale, et le niveau d'expression de l'ACE2 dans les tissus buccaux était plus élevé dans la langue que dans les tissus buccaux ou gingivaux. De plus, nous avons également démontré que les cellules positives pour l'ACE2 étaient enrichies en cellules épithéliales, ce qui avait également été rapporté par une étude précédente [10](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR10),[11](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR11),[12](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR12),[16](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR16) . Ces résultats ont indiqué que la cavité buccale pouvait être considérée comme un risque potentiellement élevé de sensibilité infectieuse au 2019-nCov.

Fait intéressant, nous avons constaté que l'ACE2 s'exprimait également dans les lymphocytes de la muqueuse buccale, et des résultats similaires ont été trouvés dans divers organes du système digestif et dans les poumons [11](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR11),[12](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR12) . Si ces faits ont rappelé que le 2019-nCoV attaque les lymphocytes et conduit à la maladie grave des patients, il faut davantage de preuves et de validations in vitro et in vivo, bien que la proportion de lymphocytes ACE2 positifs soit assez faible.

Des études antérieures ont étudié l'expression de l'ARNm et de la protéine ACE2 dans divers tissus par des échantillons en vrac [17](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR17),[18](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR18) , cependant, la distribution de l'ACE2 à travers des données en vrac ne pouvait pas indiquer l'expression spécifique de type cellulaire de l'ACE2. La technologie de séquençage d'ARN unicellulaire récemment développée a permis de générer de grandes quantités de données transcriptomiques à une résolution cellulaire [19](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR19) . Le profil d'expression de l'ACE2 dans divers organes, tissus et types de cellules fournit les preuves bioinformatiques des voies d'infection potentielles de 2019-nCov, qui pourraient également être associées aux symptômes présentés.

Bien que des études aient signalé plusieurs symptômes de patients hospitalisés atteints d'une infection au 2019-nCoV [3](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR3),[20](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR20) , certains cas à domicile peuvent être asymptomatiques. Il convient de noter que, une étude précédente a montré que 99% des patients n'avaient aucune manifestation clinique de papillomavirus humain oral (HPV), mais l'ADN du HPV a été détecté dans 81% des échantillons de muqueuse buccale, et l'IgA anti-HPV a été détectée dans le salive de 44% des patients [21](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR21). De même, bien que l'infection à 2019-ncov ne présente guère de symptômes buccaux, l'expression de l'ACE2 dans la cavité buccale indique que la voie d'infection orale de 2019-nCoV ne peut pas être exclue. De plus, une dernière expérience pilote a montré que 4 des 62 échantillons de selles étaient positifs au 2019-nCoV, et quatre autres patients dans une cohorte distincte qui étaient positifs aux écouvillons rectaux avaient le 2019-nCoV détecté dans le tractus gastro-intestinal, la salive ou urine [20](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR20) . Ainsi, nos résultats confirment qu'en plus des gouttelettes respiratoires et du contact direct, la transmission fécale-orale pourrait également être la voie de transmission du 2019-nCoV.

Nos résultats sont principalement basés sur des ensembles de données publics et des données de séquençage d'ARN unicellulaire de tissus buccaux internes avec une lésion minimale de la maladie qui, dans notre projet précédent, n'ont trouvé aucune différence d'expression significative entre les marqueurs épithéliaux communs dans notre étude antérieure et d'autres études antérieures [22](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR22),[23](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR23),[24](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR24) . Il est justifié que d'autres méthodes histologiques soient utilisées pour confirmer nos résultats et renforcer la persuasion de la conclusion.

Les cellules exprimant l'ACE2 dans les tissus buccaux, en particulier dans les cellules épithéliales de la langue, pourraient fournir des voies d'entrée possibles pour le 2019-nCov, ce qui indique que la cavité buccale pourrait être une voie de risque potentiel d'infection au 2019-nCov. Ces résultats préliminaires ont expliqué le mécanisme de base selon lequel la cavité buccale est un risque potentiellement élevé de sensibilité infectieuse au nCoV 2019 et fournissent un élément de preuve pour la future stratégie de prévention dans la pratique clinique ainsi que dans la vie quotidienne.

**matériaux et méthodes**

**Acquisition et analyse de jeux de données publics**

Les données en vrac ARN-seq des tissus normaux de para-carcinome qui ont été prises comme tissus témoins dans les études ont été téléchargées à partir de The Cancer Genome Atlas (TCGA; <https://www.cancer.gov/tcga> ), et 695 tissus normaux de para-carcinome répartis dans différents organes ont été obtenus pour cette étude, qui comprenait l'intestin (51 tissus), les reins (129 tissus), l'estomac (35 tissus), les voies biliaires (9 tissus), le foie (50 tissus), la cavité buccale (32 tissus), poumon (110 tissus), thyroïde (59 tissus), œsophage (11 tissus), vessie (19 tissus), sein (113 tissus), utérus (25 tissus) et prostate (52 tissus). Les données d'ARN-seq étaient des effets de lot normalisés et transformés en log2 pour l'analyse ultérieure. Le complot de violon a été utilisé pour montrer la distribution de l'expression de l'ACE2 entre les différents organes, *t* test a été effectué pour comparer l'expression ACE2 entre deux groupes différents montrés dans le boxplot.

De plus, les données Bulk RNA-seq des tissus normaux ont été téléchargées de Functional Annotation of The Mammalian Genome Cap Analysis of Gene Expression (FANTOM5 CAGE) [25](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR25) , car seuls deux échantillons de ce jeu de données qui possède 60 échantillons au total situés dans la langue, nous vient de télécharger 14 types d'organes pour valider l'expression de l'ACE2 dans la cavité buccale avec graphique à barres, y compris le côlon, l'ovaire, le sein, le cervelet, l'épididyme, l'œsophage, la vésicule biliaire, le muscle cardiaque, les reins, le foie, les poumons, le pancréas, la prostate et la langue.

Toutes les analyses ont été effectuées dans R (R version 3.6.0) et le niveau significatif a été fixé à 0,05.

**Tissus oraux de cohorte interne**

En raison de notre projet précédent sur les troubles malins potentiels oraux, quatre tissus de la muqueuse buccale ont été obtenus de patients après consentement éclairé et approbation éthique de l'hôpital de stomatologie de Chine occidentale, Université du Sichuan. Ces tissus buccaux avaient été envoyés pour une séquence d'ARN unicellulaire. Les quatre ont été prélevés sur trois patients âgés en moyenne de 50 ans, qui ont tous été diagnostiqués comme hyperkératose sans dysplasie par des pathologistes, montrant simplement une augmentation du nombre de cellules dans la couche épineuse et / ou dans les couches cellulaires basales / parabasales sans atypie cellulaire, et ses profils génétiques seraient beaucoup plus fermés aux tissus normaux que les tissus malins [22](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR22),[23](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR23),[24](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x#ref-CR24). Deux tissus provenaient de lésions indépendantes du dos linguae d'un patient. Les deux autres tissus provenaient de sites buccaux et gingivaux.

**Dissociation tissulaire des biopsies fraîches**

Les tissus de biopsie frais ont été lavés deux fois par D-PBS (Hyclone) et recueillis dans une solution de stockage de tissus MACS pré-réfrigérée (Miltenyi). Des suspensions unicellulaires ont été générées à partir de tissus de biopsie en utilisant les directives du fabricant du kit de dissociation de la peau entière humaine (Miltenyi) et filtrées par des filtres intelligents MACS de 70 μm (Miltenyi). Les globules rouges de transfert ont été lysés par le tampon de lyse des globules rouges (Abcam) et les cellules mortes ont été éliminées par le kit Easysep Dead Cell Removal (Annexin V) (STEMCELL). Enfin, les culots cellulaires ont été remis en suspension dans du D-PBS.

**Préparation de la bibliothèque de séquençage d'ARN unicellulaire**

Pour générer des perles en émulsion de gel monocellulaire (GEM), la plate-forme 10 x chrome a été utilisée pour capturer et coder les cellules. Les cellules ont été partitionnées en GEM avec des billes de gel recouvertes d'oligonucléotides et les ADNc avec les deux codes à barres ont été amplifiés, et une bibliothèque a été construite en utilisant le kit 10 x Genomics Chromium Single Cell (chimie v3) pour chaque échantillon. Les bibliothèques résultantes ont été séquencées sur un système Illumina NovaSeq 6000.

**Prétraitement et analyse des données de l'ARN à une seule cellule**

Les fichiers FASTQ ont été analysés avec la suite logicielle Cell Ranger (version 3.1; 10 × Genomics). Le Seurat (version 3.0) a été appliqué pour lire la matrice de code à barres génétique de quatre tissus. Pour contrôler la qualité, nous avons retiré les cellules avec <200 gènes et 500 comptes UMI, ainsi que les cellules avec un contenu mitochondrial supérieur à 5%. De plus, les gènes détectés dans <3 cellules ont été filtrés. L'enveloppe «sctransform» de Seurat a été appliquée pour normaliser les données et éliminer les sources de variation confondantes, «IntegrateData» a été utilisé pour intégrer les objets Seurat de quatre tissus. L'approximation et la projection du collecteur uniforme (UMAP) ont été utilisées pour réduire la dimensionnalité et regrouper les cellules, les types de cellules ont été attribués en fonction de leurs marqueurs canoniques. Des tracés UMAP, des cartes thermiques et des tracés de violon ont été générés avec Seurat dans R.

**Les références**

1. 1.

Wang, C., Horby, PW, Hayden, FG & Gao, GF Une nouvelle flambée de coronavirus préoccupante pour la santé mondiale. *Lancet***395** , 470–473 (2020).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1016/S0140-6736%2820%2930185-9)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=A%20novel%20coronavirus%20outbreak%20of%20global%20health%20concern&journal=Lancet&volume=395&pages=470-473&publication_year=2020&author=Wang%2CC&author=Horby%2CPW&author=Hayden%2CFG&author=Gao%2CGF)
1. 2.

Katoh, K. & Standley, DM MAFFT logiciel d'alignement de séquences multiples version 7: améliorations des performances et de la convivialité. *Mol. Biol. Evol.***30** , 772–780 (2013).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1093/molbev/mst010)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=MAFFT%20multiple%20sequence%20alignment%20software%20version%207%3A%20improvements%20in%20performance%20and%20usability&journal=Mol.%20Biol.%20Evol.&volume=30&pages=772-780&publication_year=2013&author=Katoh%2CK&author=Standley%2CDM)
1. 3.

Wang, D. et al. Caractéristiques cliniques de 138 patients hospitalisés atteints d'une nouvelle pneumonie infectée par un coronavirus en 2019 à Wuhan, en Chine. *JAMA.*<https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2761044> (2020).

1. 4.

Zhou, P. et al. Une épidémie de pneumonie associée à un nouveau coronavirus d'origine probable de chauve-souris. *La nature.*<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7> (2020).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7)
	+ [**PubMed**](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Abstract&list_uids=32094661)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=A%20pneumonia%20outbreak%20associated%20with%20a%20new%20coronavirus%20of%20probable%20bat%20origin&journal=Nature.&doi=10.1038%2Fs41586-020-2012-7&publication_year=2020&author=Zhou%2CP)
1. 5.

Zhu, N. et al. Un nouveau coronavirus de patients atteints de pneumonie en Chine, 2019. *N. Engl. J. Med* . <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2001017> (2020).

1. 6.

Lu, R. et al. Caractérisation génomique et épidémiologie du nouveau coronavirus 2019: implications pour les origines du virus et la liaison aux récepteurs. *Lancet* . [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736%2820%2930251-8) (2020).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1016/S0140-6736%2820%2930251-8)
	+ [**PubMed**](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Abstract&list_uids=32087814)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Genomic%20characterisation%20and%20epidemiology%20of%202019%20novel%20coronavirus%3A%20implications%20for%20virus%20origins%20and%20receptor%20binding&journal=Lancet&doi=10.1016%2FS0140-6736%2820%2930251-8&publication_year=2020&author=Lu%2CR)
1. sept.

Li, W. et al. L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 est un récepteur fonctionnel du coronavirus du SRAS. *Nature***426** , 450–454 (2003).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1038/nature02145)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Angiotensin-converting%20enzyme%202%20is%20a%20functional%20receptor%20for%20the%20SARS%20coronavirus&journal=Nature&volume=426&pages=450-454&publication_year=2003&author=Li%2CW)
1. 8.

Hofmann, H. et al. Le coronavirus humain NL63 utilise le récepteur du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère pour l'entrée cellulaire. *Proc. Natl Acad. Sci. USA***102** , 7988–7993 (2005).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1073/pnas.0409465102)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Human%20coronavirus%20NL63%20employs%20the%20severe%20acute%20respiratory%20syndrome%20coronavirus%20receptor%20for%20cellular%20entry&journal=Proc.%20Natl%20Acad.%20Sci.%20USA&volume=102&pages=7988-7993&publication_year=2005&author=Hofmann%2CH)
1. 9.

Xu, X. et al. Évolution du nouveau coronavirus à partir de l'épidémie en cours à Wuhan et modélisation de sa protéine de pointe pour le risque de transmission humaine. *Sci. China Life Sci.*<https://doi.org/10.1007/s11427-020-1637-5> (2020).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1007/s11427-020-1637-5)
	+ [**PubMed**](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Abstract&list_uids=32086671)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Evolution%20of%20the%20novel%20coronavirus%20from%20the%20ongoing%20Wuhan%20outbreak%20and%20modeling%20of%20its%20spike%20protein%20for%20risk%20of%20human%20transmission&journal=Sci.%20China%20Life%20Sci.&doi=10.1007%2Fs11427-020-1637-5&publication_year=2020&author=Xu%2CX)
1. dix.

Zou, X. et al. L'analyse des données d'ARN-seq monocellulaire sur l'expression du récepteur ACE2 révèle le risque potentiel de différents organes humains vulnérables à l'infection à Wuhan 2019-nCoV. *De face. Med* . <http://journal.hep.com.cn/fmd/EN/10.1007/s11684-020-0754-0> (2020).

1. 11.

Zhao, Y. et al. Profil d'expression d'ARN unicellulaire d'ACE2, le récepteur putatif de Wuhan 2019-nCov. Préimpression sur <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.26.919985v1> (2020).

1. 12.

Zhang, H. et al. Le système digestif est une voie potentielle d'infection 2019-nCov: une analyse bioinformatique basée sur des transcriptomes unicellulaires. Préimpression sur <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.30.927806v1> (2020).

1. 13.

Chai, X. et al. L'expression spécifique d'ACE2 dans les cholangiocytes peut endommager le foie après une infection par le nCoV 2019. Préimpression sur <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.03.931766v1> (2020).

1. 14.

de Wit, E., van Doremalen, N., Falzarano, D. et Munster, VJ SARS et MERS: aperçus récents sur les coronavirus émergents. *Nat. Rev. Microbiol.***14** , 523–534 (2016).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=SARS%20and%20MERS%3A%20recent%20insights%20into%20emerging%20coronaviruses&journal=Nat.%20Rev.%20Microbiol.&volume=14&pages=523-534&publication_year=2016&author=Wit%2CE&author=Doremalen%2CN&author=Falzarano%2CD&author=Munster%2CVJ)
1. 15.

Chen, Y., Liu, Q. & Guo, D.Coronavirus émergents: structure du génome, réplication et pathogenèse. *J. Med. Virol.*<https://doi.org/10.1002/jmv.25681> (2020).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1002/jmv.25681)
	+ [**PubMed**](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Abstract&list_uids=32073161)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Emerging%20coronaviruses%3A%20genome%20structure%2C%20replication%2C%20and%20pathogenesis&journal=J.%20Med.%20Virol.&doi=10.1002%2Fjmv.25681&publication_year=2020&author=Chen%2CY&author=Liu%2CQ&author=Guo%2CD)
1. 16.

Ren, X. et al. Analyse de l'ACE2 dans les cellules épithéliales polarisées: expression en surface et fonction de récepteur du coronavirus associé au syndrome respiratoire aigu sévère. *J. Gen. Virol.***87** , 1691–1695 (2006).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1099/vir.0.81749-0)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Analysis%20of%20ACE2%20in%20polarized%20epithelial%20cells%3A%20surface%20expression%20and%20function%20as%20receptor%20for%20severe%20acute%20respiratory%20syndrome-associated%20coronavirus&journal=J.%20Gen.%20Virol.&volume=87&pages=1691-1695&publication_year=2006&author=Ren%2CX)
1. 17.

Harmer, D., Gilbert, M., Borman, R. & Clark, KL Profil d'expression d'expression d'ARNm quantitatif d'ACE 2, un nouvel homologue de l'enzyme de conversion de l'angiotensine. *FEBS Lett.***532** , 107-110 (2002).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1016/S0014-5793%2802%2903640-2)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Quantitative%20mRNA%20expression%20profiling%20of%20ACE%202%2C%20a%20novel%20homologue%20of%20angiotensin%20converting%20enzyme&journal=FEBS%20Lett.&volume=532&pages=107-110&publication_year=2002&author=Harmer%2CD&author=Gilbert%2CM&author=Borman%2CR&author=Clark%2CKL)
1. 18.

Hamming, I. et al. Distribution tissulaire de la protéine ACE2, le récepteur fonctionnel du coronavirus du SRAS. Une première étape dans la compréhension de la pathogenèse du SRAS. *J. Pathol.***203** , 631–637 (2004).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1002/path.1570)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Tissue%20distribution%20of%20ACE2%20protein%2C%20the%20functional%20receptor%20for%20SARS%20coronavirus.%20A%20first%20step%20in%20understanding%20SARS%20pathogenesis&journal=J.%20Pathol.&volume=203&pages=631-637&publication_year=2004&author=Hamming%2CI)
1. 19.

Rostom, R., Svensson, V., Teichmann, SA & Kar, G. Approches computationnelles pour l'interprétation des données scRNA-seq. *FEBS Lett.***591** , 2213–2225 (2017).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1002/1873-3468.12684)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Computational%20approaches%20for%20interpreting%20scRNA-seq%20data&journal=FEBS%20Lett.&volume=591&pages=2213-2225&publication_year=2017&author=Rostom%2CR&author=Svensson%2CV&author=Teichmann%2CSA&author=Kar%2CG)
1. 20.

Guan, W.-J. et al. Caractéristiques cliniques de la nouvelle infection à coronavirus 2019 en Chine. Préimpression sur <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.06.20020974v1> (2020).

1. 21.

Peixoto, AP, Campos, GS, Queiroz, LB & Sardi, SI Infection par papillomavirus humain oral (HPV) asymptomatique chez les femmes ayant un diagnostic histopathologique de HPV génital. *J. Oral Sci.***53** , 451–459 (2011).

* + [**Article**](https://doi.org/10.2334/josnusd.53.451)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Asymptomatic%20oral%20human%20papillomavirus%20%28HPV%29%20infection%20in%20women%20with%20a%20histopathologic%20diagnosis%20of%20genital%20HPV&journal=J.%20Oral%20Sci.&volume=53&pages=451-459&publication_year=2011&author=Peixoto%2CAP&author=Campos%2CGS&author=Queiroz%2CLB&author=Sardi%2CSI)
1. 22.

Dionne, KR, Warnakulasuriya, S., Zain, RB & Cheong, SC Troubles potentiellement malins de la cavité buccale: pratique actuelle et orientations futures en clinique et en laboratoire. *Int. J. Cancer***136** , 503–515 (2015).

* + [**PubMed**](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Abstract&list_uids=24482244)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Potentially%20malignant%20disorders%20of%20the%20oral%20cavity%3A%20current%20practice%20and%20future%20directions%20in%20the%20clinic%20and%20laboratory&journal=Int.%20J.%20Cancer&volume=136&pages=503-515&publication_year=2015&author=Dionne%2CKR&author=Warnakulasuriya%2CS&author=Zain%2CRB&author=Cheong%2CSC)
1. 23.

Li, J. et al. Associations entre l'activateur protéasomique PA28γ et le résultat du carcinome épidermoïde oral: preuves issues d'études de cohorte et d'analyses fonctionnelles. *EBioMedicine***2** , 851–858 (2015).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.07.004)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Associations%20between%20proteasomal%20activator%20PA28%CE%B3%20and%20outcome%20of%20oral%20squamous%20cell%20carcinoma%3A%20evidence%20from%20cohort%20studies%20and%20functional%20analyses&journal=EBioMedicine&volume=2&pages=851-858&publication_year=2015&author=Li%2CJ)
1. 24.

Wang, Z. et al. RACK1, un excellent prédicteur de mauvais résultats cliniques dans le carcinome épidermoïde oral, similaire à Ki67. *EUR. J. Cancer***45** , 490–496 (2009).

* + [**Article**](https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.11.012)
	+ [**Google Scholar**](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=RACK1%2C%20an%20excellent%20predictor%20for%20poor%20clinical%20outcome%20in%20oral%20squamous%20carcinoma%2C%20similar%20to%20Ki67&journal=Eur.%20J.%20Cancer&volume=45&pages=490-496&publication_year=2009&author=Wang%2CZ)
1. 25.

Forrest, AR et al. Un atlas d'expression des mammifères au niveau du promoteur. *Nature***507** , 462–470 (2014).

[**Télécharger les références**](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x-references.ris)

**Remerciements**

Cette étude a été financée par des subventions de la National Natural Science Foundation of China (81520108009, 81991502, 81771081 et 81991500), le 111 Project of MOE (B14038), Chine.

**Informations sur l'auteur**

**Notes de l'auteur**

1. Ces auteurs ont contribué à parts égales: Hao Xu, Liang Zhong, Jiaxin Deng

**Affiliations**

1. *State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences Research Unit of Oral Carcinogenesis and Management, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China*
	* Hao Xu
	* , Liang Zhong
	* , Jiaxin Deng
	* , Jiakuan Peng
	* , Hongxia Dan
	* , Xin Zeng
	* , Taiwen Li
	* & Qianming Chen

**Contributions**

HX, TW.L. et QM.C. contribué également en concevant et en concevant l'étude. HX, JX.D., LZ, JK.P., HX.D., XZ et TW.L. effectué la collecte de tissus, des expériences et analysé les données. HX, JX.D., LZ, TW.L. et QM.C. a écrit le document.

**auteur correspondant**

Correspondance avec [Taiwen Li](https://www.nature.com/articles/s41368-020-0074-x/email/correspondent/c1/new) .

**Déclarations éthiques**

**Intérêts concurrents**

Les auteurs ne déclarent aucun intérêt concurrent.

**Droits et autorisations**

**Libre accès** Cet article est sous licence Creative Commons Attribution 4.0 International License, qui permet l'utilisation, le partage, l'adaptation, la distribution et la reproduction dans n'importe quel support ou format, tant que vous accordez le crédit approprié aux auteurs originaux et à la source, fournir un lien vers la licence Creative Commons et indiquer si des modifications ont été apportées. Les images ou tout autre matériel tiers dans cet article sont inclus dans la licence Creative Commons de l'article, sauf indication contraire dans une ligne de crédit pour le matériel. Si le matériel n'est pas inclus dans la licence Creative Commons de l'article et que votre utilisation prévue n'est pas autorisée par la réglementation ou dépasse l'utilisation autorisée, vous devrez obtenir la permission directement du détenteur des droits d'auteur. Pour afficher une copie de cette licence, visitez<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> .

[Réimpressions et autorisations](https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet?title=High%20expression%20of%20ACE2%20receptor%20of%202019-nCoV%20on%20the%20epithelial%20cells%20of%20oral%20mucosa&author=Hao%20Xu%20et%20al&contentID=10.1038%2Fs41368-020-0074-x&publication=1674-2818&publicationDate=2020-02-24&publisherName=SpringerNature&orderBeanReset=true&oa=CC%20BY)

**À propos de cet article**

**Citez cet article**

Xu, H., Zhong, L., Deng, J. *et al.*Expression élevée du récepteur ACE2 de 2019-nCoV sur les cellules épithéliales de la muqueuse buccale. *Int J Oral Sci***12,** 8 (2020). https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x