

# Імунобіологічні властивості нейрогенних клітин фетального мозку.

## I. Експресія молекул з імунними властивостями

Л.Д. Любич, М.І. Лісяний

ДУ «Інститут нейрохірургії ім.акад.А.П.Ромоданова НАМН України»;  
lyubichld@gmail.com, nimun.neuro@gmail.com

*В огляді представлено аналіз сучасного стану розробки проблеми імунобіологічних властивостей нейрогенних стовбурових та прогеніторних клітин (НСК / НПК) головного мозку. У частині I узагальнено дані щодо НСК / НПК протягом пренатального розвитку. Розглянуто дискусійні питання відносно експресії ними та клітинами зрілої нервової тканини антигенів гістосумісності у порівняльному аспекті, а також ієрархію потенціалу презентації антигенів клітинами центральної нервової системи. Звернено увагу на роль молекул головного комплексу гістосумісності у розвитку пре- і постнатального мозку. Наведено дані про експресію НСК / НПК імуноактивних коstimуловальних молекул, що може визначати їх імуномодульований вплив на клітини імунної системи при контактній взаємодії. Підсумовано відомості про експресію і продукцію НСК / НПК імунорегуляторних цитокінів та ростових факторів, що є підтвердженням механізму регенеративної дії даних клітин при нейротрансплантації – так званого “bystander” ефекту, на якому ґрунтується концепція «функціональної або терапевтичної пластичності».*

*Ключові слова:* нейрогенні стовбурові клітини, нейрогенні прогеніторні клітини, молекули головного комплексу гістосумісності I і II класу, коstimуловальні молекули, цитокіни, ростові фактори.

**Уявлення про нейрогенні стовбурові та прогеніторні клітини (НСК / НПК) протягом пренатального розвитку.** Нейрогенні клітини фетального мозку генерують основні клітинні типи нервової системи протягом пренатального періоду розвитку, який триває впродовж вагітності від запліднення до народження у живородних організмів (у т.ч. ссавців) та поділяється на ембріогенез (ранні стадії розвитку) та фетальний період. До числа нейрогенних клітин фетального мозку можна віднести НСК / НПК, а також лінійно-специфічні прогенітори і прекурсори.

НСК – самовідновлювальні мультипотентні клітини, відмінними ознаками яких є здатність до проліферації (симетричного і асиметричного поділу) та генерації кількох типів клітин – нейронів, астроцитів та олігодендроцитів [1,2]. З часу їх відкриття в 1989 р. у субвентрикулярній зоні (СВЗ)

мозку миші та виділення у 1992 р. Reynolds і Weiss з тканини стріатуму та СВЗ дорослих ссавців [3] накопичено значну кількість даних щодо їх біологічних властивостей. Нині відомо, що НСК / НПК забезпечують безперервну продукцію нейронів. На відміну від перших, НПК є проліферуєчими клітинами з обмеженим самовідновленням, але з властивістю мультипотентності [2,4]. Водночас лінійно-специфічні прогенітори і прекурсори можуть диференціюватись в один клітинний тип, тобто є уніпотентними.

Протягом раннього ембріонального розвитку клітини центральної нервової системи походять з нейроектодерми, організованої у вигляді нервової трубки [2]. Далі нервова трубка вивертається, формуючи структури включно з переднім мозком (prosencephalon), з якого утворюються мозковий міхур (telencephalon) і проміжний мозок (diencephalon).

Кора головного мозку виникає з дорсальної частини мозкового міхура (pallium), в той час як вентральна його частина (subpallium) дає початок базальним гангліям (нервовим вузлам). НСК із дорсального і вентрального мозкового міхура є визначальними для генерації двох основних класів нейронів кори головного мозку – збудливих проєкційних, які для передачі сигналу використовують глутамат, та гальмівних інтернейронів, що використовують  $\gamma$ -аміномасляну кислоту. Збудливі проєкційні нейрони утворюються з локальних НСК, що знаходяться в дорсальному мозковому міхурі, і мігрують радіально до кори, котра розвивається, та гіпокампа [5]. Різні субтипи збудливих кортикальних проєкційних нейронів генеруються у часовій послідовності так, щоб сформувати шари від I до IV. Гальмівні інтернейрони утворюються з локальних НСК, що знаходяться у вентральному мозковому міхурі і тангенціально мігрують на велику відстань, заселяючи дорсальні кортикальні структури. Протягом мозкового кортикогенезу відбувається синхронний розвиток і доповнює позиціонування утворених основних класів нейронів, в результаті якого встановлюються функціональні нервові кола (дуги) між збудливими проєкційними нейронами та відповідними гальмівними інтернейронами [5].

Дорсальний мозковий міхур містить однорідний шар нейроепітеліальних клітин. Локальні НСК з гермінальної вентрикулярної зони (ВЗ) спочатку зазнають самовідновлювальних проліферативних поділів. Приблизно в середньому гестаційному періоді у щурів частина НСК переходить у лінійно-рестриковані НПК і накопичується у вигляді другого проліферативного шару над ВЗ – СВЗ. Популяція НСК зазнає нейрогенних поділів, формуючи ранній, тимчасовий нейрональний шар над СВЗ – препластину. Під час кортикогенезу новоутворені нейрони розщеплюють її шар і утворюють зовнішню крайову зону, яка знаходиться під кортикальною пластиною і субпластиною. Крайова зона містить невелику (1-3 %) популяцію різних прогеніторів. Надалі

новоутворені кортикальні нейрони продовжують мігрувати в кортикальну пластину, збільшуючи її і формуючи різні шари. В результаті крайова зона формує шар I, тоді як ВЗ/СВЗ редукується до одноклітинного шару епендимальних клітин, за винятком бічної стінки кортикальної СВЗ, яка продовжує підтримувати «нішу» резидентних гліально-подібних НСК, що генерують нейрони у дорослому віці [2].

Ідентифіковано три основних типи НПК на основі їх співвідношення з апікальною поверхнею дорсального мозкового міхура та клітинно-молекулярних особливостей: апікальні, базальні та субапікальні прогенітори [6,7]. Апікальні прогенітори – це нейроепітеліальні клітини, що зазнають проліферативних симетричних поділів, збільшуючи їх локальний пул. В процесі кортикогенезу ці клітини набувають асиметричного способу поділу, генеруючи апікальні клітини радіальної глії та апікальні проміжні прогенітори (нейральні прекурсори), а також, зрідка – нейрони. Нейроепітеліальні клітини та клітини радіальної глії здатні до проліферативних поділів, тоді як апікальні проміжні прогенітори зазнають одного симетричного поділу, генеруючи два ідентичні дочірні нейрони.

Базальні прогенітори є продуктом клітинного поділу нейроепітеліальних клітин та апікальних клітин радіальної глії і включають два клітинні типи: базальні проміжні прогенітори і базальну радіальну глію. Перші зазнають симетричних нейрогенних поділів, які в результаті вичерпують пул прогеніторів СВЗ. Здатність базальних прогеніторів до проліферації, а також відносний об'єм популяцій їх субтипів значуще відрізняється у гризунів і вищих приматів (людини) [6]. Клітини базальної радіальної глії переважають у вентральному передньому мозку людини, генеруючи велику кількість кортикальних інтернейронів [8]. Субапікальні прогенітори здатні до проліферативних поділів і переважно містяться у вентральному мозковому міхурі [7].

Протягом ембріонального кортикального розвитку хронометраж проліферації НСК та

нейрогенезу керується зовнішніми і внутрішніми клітинними факторами. Спинномозкова рідина через шлуночкову систему нервової трубки доставляє численні сигнальні фактори, що впливають на проліферативний потенціал НСК. Так, у мишей у період E8,5-9,5 фактори *sonic hedgehog*, фактор росту фібробластів (FGF), кісткові морфогенетичні протеїни (BMPs) встановлюють градієнт через ростокаудальний, латеромедіальний і дорсовентральний мозковий міхур [5]. Ці зовнішні сигнали індують у НСК експресію генів, що кодуєть транскрипційні фактори Lhx2, FoxG1, Pax6, Emx-1,-2 залежно від ділянки мозку, який формується. Lhx2 та Emx2 визначаються у всьому мозковому міхурі, крім дорсальної серединної лінії, тоді як FoxG1, Pax6, Emx1 - в клітинах дорсальної частини міхура [2], відображаючи їх інструктивні ролі як внутрішньоклітинних факторів у проліферації НСК та нейрогенезі. Також важливими для утворення нейронів є пронейрональні транскрипційні фактори *basic helix-loop-helix* – Neurog2 та Ascl1. Їх експресія необхідна для підтримання нейрогенного потенціалу в НСК та запобігання активації гліогенезу.

Популяція НСК зберігається у постнатальному і дорослому мозку ссавців упродовж життя. Біологія НСК дорослих загалом дуже подібна до пренатального періоду, але вони є довговічними і знаходяться, в основному, у відповідних нейрогенних «нішах» у стані спокою. У ссавців цими «нішами» є субгранулярна зона (СГЗ) зубчатого ядра гіпокампа і СВЗ бічних шлуночків переднього мозку [2,4]. У СГЗ НСК генерують проміжні прогенітори і, згодом, незрілі гранулярні нейрони, які інтегруються в мережу гіпокампа. У СВЗ дорослих НСК (В1-клітини) локалізуються в стінках бічних шлуночків, прилеглих до гіпокампа, кори, стріатума та перегородки, і дають початок проміжним прогениторам (*transit amplifying progenitors*, С-клітини), а згодом незрілим нейронам (нейробласти, А-клітини), які мігрують по ростральному

міграційному шляху до нюхової цибулини, де вони остаточно диференціюються у різні типи інтернейронів [2,4]. Таким чином, НСК з СГЗ та СВЗ забезпечують нейрогенез у дорослих індивідуумів (фізіологічне оновлення або поповнення клітин у специфічних зонах мозку – нюховій цибулині та гранулярному шарі зубчатого ядра гіпокампа). Важливим є те, що НСК з нейрогенних «ніш» СГЗ та СВЗ у дорослому мозку визначаються ще у середині фетального періоду. Нині з'явилися також дані щодо нейрогенезу в інших зонах мозку – новій корі, мозочку, смугастому тілі, чорній субстанції, гіпоталамусі, гангліях спинного мозку, засвідчуючи існування мультипотентних локальних НПК з повільним клітинним циклом, розсіяних всередині паренхіми головного мозку і здатних до диференціювання у всі нейроектодермальні типи, слугуючи джерелом оновлення клітин нервової системи як у фізіологічних умовах, так і за умов патології [4].

Продукція нових клітин у мозку є багаторівневим процесом, протягом якого новоутворені клітини зазнають впливу численних факторів, що регулюють їх проліферацію, дозрівання, визначення долі та виживання. Ендогенний нейрогенез посилюється у відповідь на такі ураження ЦНС, як ішемічний інсульт, розсіяний склероз, нейродегенеративні захворювання, пухлини мозку, відображаючи пластичність та значний відновлювальний потенціал мозку ссавців [1]. Імунна система є важливим регулятором нейрогенних «ніш» у дорослому мозку завдяки продукції цитокінів і хемокінів, що визначають проліферацію, диференціацію, міграцію та виживання НСК у фізіологічних та патологічних умовах [9-12]. НСК, НПК та їх похідні характеризуються за допомогою клітинних поверхневих або внутрішньоклітинних маркерів (табл.1) [1,13].

**Експресія нейрогенними клітинами фетального мозку молекул з імунними властивостями.** Оскільки НСК / НПК, отримані з фетальних тканин, успішно диференціюються

**Таблиця 1. Основні маркери нейрогенних стовбурових / прогеніторних та диференційованих клітин нервової системи**

Типи клітин	Позитивний маркер
Нейрогенні стовбурові клітини	Нестин, промінін-1 (CD133), <i>musashi 1</i> , SOX2, Oct4, Notch2, нейрональна клітинна молекула адгезії (NCAM, CD56), віментин
Нейрогенні прогеніторні клітини	Нестин, віментин, PSA-NCAM
Нейрональні прогенітори	PSA-NCAM, нейротрофіновий рецептор P75
Нейрони	MAP-2ab, MAP-5, даблкортин (DCX), $\beta$ -тубулін III, Neuro D, Neu N
Астроцитарні прогенітори	A2B5, CD44
Астроцити	GFAP
Олігодендроцитарні прогенітори	PDGF-R- $\alpha$ , NG2, Olig-2
Олігодендроцити	Галактоцеребозид (Gal C), Olig-1, Olig4

у всі типи клітин нервової системи, нейрогенні клітини фетального мозку вважаються найкращим варіантом для клітинної терапії дегенеративних захворювань ЦНС [14,15]. НСК / НПК з фетального мозку продемонстрували більшу ефективність при алогенній трансплантації, ніж вилучені у дорослих індивідуумів [14]. Також ці клітини, на відміну від ембріональних стовбурових клітин (ЕСК) та індукованих плюрипотентних стовбурових клітин, є більш безпечними, оскільки не формують пухлини при трансплантації у сингенний мозок [16].

Основним фактором, здатним суворо обмежити застосування НСК / НПК у терапевтичних цілях, є імунні реакції, що можуть бути згенеровані проти пересаджених клітин після трансплантації пацієнтам. Залежно від сумісності донорських клітин з реципієнтом за антигенами головного комплексу гістосумісності (*major histocompatibility complex* – МНС; у людини – також система *human leucocyte antigens* – HLA) розрізняють такі види трансплантації: *ауто-*, *ізо-*, *ало-*, *ксенотрансплантація*. Відповідно клітини трансплантата можуть бути *аутологічними* (пересадка власних клітин), *сингенними* (пересадка клітин у межах однієї лінії лінійних (генетично ідентичних) тварин або одно-

яйцевих близнюків), *алогенними* (пересадка клітин в межах одного виду тварин) та *ксеногенними* (пересадка клітин між особинами різних видів). Згідно з класичними уявленнями, імунна відповідь у процесі відторгнення трансплантата включає як клітинний, так і гуморальний компоненти [16], значущість яких залежить від філогенетичної відстані між донором і реципієнтом.

Основну роль у розвитку імунної відповіді проти алогенного трансплантата, несумісного з реципієнтом за антигенами МНС, відіграє успішне залучення антиген-презентуючих клітин (АПК) та Т-лімфоцитів [17,18]. Розпізнавання молекул МНС є одним із основних механізмів відторгнення трансплантата [18-22]. Після трансплантації алогенні донорські АПК (особливо дендритні клітини – ДК) мігрують у регіональні лімфовузли, в яких вони зустрічають і стимулюють до проліферації «наївні» Т-клітини чи алоспецифічні Т-клітини пам'яті реципієнта після розпізнавання чужорідних молекул МНС Т-клітинним рецептором [19-21]. В свою чергу АПК реципієнта здатні захоплювати антигени донора як у формі інтактних молекул МНС, так і у формі протеїнових фрагментів, процесувати їх і представляти у комплексі з власними антигенами МНС [19-21,23]. При

з'єднанні Т-клітинного рецептора з комплексом МНС-антигенний пептид на АПК у сполученні з посилювальним сигналом від CD4, CD8 молекул, додаткові костимуляторні ліганди формують комплекси (B7-CTLA4, CD40-CD40L, LFA3-CD2, ICAM1-LFA1, B7-CD28) і відбувається активація Т-лімфоцитів. Костимуляторні молекули B7.1 (CD80) і B7.2 (CD86) сприяють клональній експансії Т-клітин і їх диференціації в ефекторні клітини, що можуть атакувати трансплантат при поверненні у циркуляцію [24]. Якщо ця послідовність порушується за відсутності костимулювального сигналу, то розпізнавання чужорідних молекул МНС може призвести до анергії Т-клітин (часткової толерантності) або утворення Т-регуляторних клітин, що модифікують імунну відповідь реципієнта, знижуючи або гальмуючи її [23]. Процес алоспецифічного розпізнавання молекул МНС може бути заблокований імуносупресивними чинниками. У зв'язку з цим центральне місце займає питання про експресію НСК / НПК молекул з імуnoreгуляторними властивостями.

Система МНС виконує такі важливі фізіологічні функції, як взаємодія всіх імунокомпетентних клітин організму, розпізнавання своїх і чужорідних, у тому числі змінених власних клітин, запуск і реалізація імунної відповіді і загалом забезпечує виживання людини як виду в умовах екзогенної і ендогенної агресії [25]. Антигени МНС I і II класу здійснюють презентацію і розпізнавання антигенів двома основними способами – ендогенним (за участю молекул МНС I класу, спрямований на представлення CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитам) та екзогенним (за участю молекул МНС II класу та АПК, комплекс пептид-молекули МНС II класу на поверхні АПК залучається у розпізнавання CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцитами). Основними АПК є В-лімфоцити, макрофаги і ДК. Здатність АПК презентувати антигени практично відсутня в період з 3-ї по 7-му доби після народження, а згодом в процесі онтогенезу починає збільшуватись [26].

Антигени HLA I класу кодуються генами локусів A, B, C (класичні молекули з виразним поліморфізмом) і G, E, F, а також MIC-A, -B (МНС class I chain-related genes) – неklasичні. Молекула антигенів МНС I класу являє собою інтегральний мембранний глікопротеїн (гетеродимер з молекулярною масою 45 кДа) і складається із важкого  $\alpha$ -ланцюга і легкого ланцюга  $\beta_2$ -мікроглобуліну ( $\beta_2$ -m). До складу  $\alpha$ -ланцюга входять  $\alpha 1$ -,  $\alpha 2$ - і  $\alpha 3$ -домени. Перші два можуть безпосередньо зв'язуватися з пептидами клітин, тоді як  $\alpha 3$ -домен містить неpolіморфний регіон – ліганд для цитотоксичних Т-клітин, який взаємодіє з рецептором CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитів і гомологічний контактний ділянці імуноглобулінів. Для оптимального лізису клітин цитотоксичними лімфоцитами необхідним є високий вміст антигенів МНС I класу, тоді як для ефективного лізису природними кілерами (ПК) достатньо і низького їх рівня [27]. Крім того, ПК розпізнають і вбивають клітини, що втратили експресію протеїнів МНС I, за допомогою рецепторів NKp30, NKp44, NKp46, CD16 [17,28].

У класі II МНС основними локусами є DR, DQ, DP, а також DM, LMP, TAР. Три останні виконують такі важливі функції, як процесинг і експресія антигенів HLA на поверхні клітин. Молекула антигенів МНС II класу містить  $\alpha$ - і  $\beta$ -ланцюги з молекулярною масою 34 і 28 кДа відповідно. Обидва ланцюги синтезуються в ендоплазматичному ретикулумі, звідки транспортуються в ендодитарний компартмент, де з'єднуються з пептидами; за відсутності зв'язку пептиди деградують в лізосомах.  $\alpha$ - і  $\beta$ -Ланцюги являють собою інтегральні трансмембранні білки і мають відповідні домени:  $\alpha_1$ ,  $\beta_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_2$ ; останній включається у зв'язування з CD4<sup>+</sup>-лімфоцитами. Антигени МНС II класу відзначаються дуже високим поліморфізмом, який сягає найвищого рівня в локусах DRB1, DQB1, DQA1. Таким чином. мембранні антигени HLA I класу реалізують взаємодію АПК з CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитами, а антигени HLA II класу – з CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцитами.



Антигени класу I також здійснюють взаємодію всіх інших ядерних клітин організму, аж до взаємодії нейрон-синапс. Отже, за допомогою системи HLA забезпечується цілісне функціонування не тільки імунної системи людини, а і організму загалом [25].

Роль системи HLA у розвитку імунної відповіді полягає в забезпеченні презентації імунодомінантних пептидів, які є продуктом внутрішньоклітинного протеолізу чужорідних антигенів, проти яких буде індукована, а потім розвинеться імунна відповідь. Молекули HLA побудовані таким чином, що на зовнішньому краю містять боріздку, в якій утримується презентований для розпізнавання пептид. АПК представляє пептид разом із власною молекулою HLA, що ідентична молекулі HLA на клітині, яка отримує інформацію. Для формування набутої Т-клітинної імунної відповіді потрібно, щоб антиген, захоплений АПК (макрофагами, ДК і В-лімфоцитами), був розщеплений на пептидні фрагменти у пізніх ендосомах, тобто необхідний його внутрішній процесинг. Утворені антигенні пептиди мають зв'язатися з синтезованими *de novo* молекулами МНС II класу і презентуватися специфічним CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцитам на поверхні АПК. Цей класичний шлях презентації залежить від молекулярних шаперонів інваріабельного ланцюга і HLA-DM, які сприяють правильному внутрішньоклітинному транспорту молекул МНС-II і їх зв'язуванню з антигенним пептидом [29]. У зв'язок з кожним пептидом залучаються конкретні ділянки антигенів – алельні варіанти молекул МНС, що лежить в основі генетичного контролю імунної відповіді [25,29]. Для кожної молекули HLA існує велике число різних алелей [25,30]. При проведенні алогенної трансплантації складність HLA-системи спрощують, враховуючи тільки ті HLA-типи, які є найважливішими для клінічного результату трансплантації (гени HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR1, HLA-DQ1) [25].

**Відомості щодо експресії антигенів системи гістосумісності НСК / НПК у**

**порівняльному аспекті.** Антигени МНС I класу у нормі експресуються практично всіма ядерними клітинами (за винятком ранніх стадій ембріонального розвитку). Їх кількість коливається залежно від виду тканини і сягає максимуму на мембрані лімфоцитів усіх лімфоїдних тканин (лімфовузлів, селезінки), а також у периферичній крові. Антигени локусів G та E не беруть участі у класичному розпізнаванні, експресуються трофобластами, на поверхні яких відсутні інші молекули МНС [31]. Ці антигени забезпечують толерантність плода до імунної системи матері. HLA-G-транскрипти наявні у великих кількостях у тканині плаценти першого триместру вагітності [32]. HLA-G, -E пригнічують лізис клітинами CD16<sup>+</sup> (ПК) і є компонентом захисту від розпізнавання материнськими цитотоксичними лімфоцитами та ПК; HLA-G приєднується до інгібіторних рецепторів KIR2DL4 на ПК та ILT2, ILT4 на ПК і Т-клітинах, а також до CD8 на Т-клітинах, а розчинна форма HLA-G здатна викликати апоптоз Т-лімфоцитів та інгібувати цитотоксичність кілерних клітин [31-34]. Антигени МНС II класу значно рідше експресуються різними клітинами. Частота їх експресії найбільш виражена на фагоцитах кісткового мозку, клітинах Лангерганса, різних ДК. Рівень експресії цих антигенів на тимоцитах, Т-лімфоцитах периферичної крові, епітеліальних клітинах значно нижчий. Молекули антигенів МНС II класу, на відміну від молекул I класу, як правило, не експресуються більшістю епітеліальних клітин і з'являються тільки при певних патологічних станах, включаючи запалення, аутоімунну патологію і злоякісну трансформацію.

Зигота (запліднена яйцеклітина) захищена прозорою оболонкою (*zona pellucida*), яка, як і гамети, не має молекул МНС. Не виявлені вони і на наступних стадіях поділу заплідненої яйцеклітини (морула, бластоциста) аж до імплантації останньої на 5-6-ту добу після запліднення у гормонально підготовлену матку [31]. Від стадії бластоцисти до стадії

ектоплацентарного конусу не спостерігається класичного набору антигенів МНС I класу на зовнішніх клітинах ембріона, або вони наявні у дуже малій кількості. На цій стадії ембріон резистентний до дії CD16<sup>+</sup> ПК [31]. Комплекс гормональних факторів сприяє розвитку імуносупресії, підтримуючи толерантність матері до трофобласта, що формується.

Дані літератури щодо експресії антигенів МНС НСК / НПК контroversійні і різняться залежно від джерела отримання клітин, умов їх виділення і культивування та застосованих методів ідентифікації. Так, за допомогою імуногістохімічних досліджень встановлено, що у ссавців протеїни МНС I експресуються вже на ранніх етапах нейрональної диференціації в мозку (E9.5-10.5) [35].

Аналіз поверхневого антигенного фенотипу ЕСК людини (лінія Н7) показав наявність HLA-A,B,C [36]. Протягом диференціювання у нейрони і міоцити експресія цих молекул знижувалася; проте після впливу IFN- $\gamma$  значуще зростала, і була більш вираженою у диференційованих клітинах, ніж у стовбурових. За іншими даними, експресія МНС I класу на поверхні ЕСК людини була дуже низькою, але зростала при диференціації *in vitro* та *in vivo*, а також за дії IFN- $\gamma$  [17]. HLA-G та МНС II класу були відсутні на поверхні недиференційованих і диференційованих клітин.

Фенотиповий аналіз НСК людини, отриманих з 8-12-тижневих плодів, засвідчив значну їх гетерогенність: кількість HLA-A,B,C<sup>+</sup>-клітин становила 6,4 - 13,9 %, HLA-DR<sup>+</sup>-клітин – 3,0 - 9,8 %; значущих змін упродовж двотижневого культивування не зафіксовано [37]. При культивуванні *in vitro* НПК людини з ростом нейросфер збільшувалася експресія HLA I і II класу [38]. Після впливу прозапальних цитокінів нейросфери і їх диференційовані прогенітори експресували антигени МНС, найвищий рівень яких був характерним для астроцитів [39]. У культурах фетального мозку людини спостерігалася експресія МНС класу II (HLA-DR) в цитоплазмі і на клітинній поверхні GFAP<sup>+</sup>астроцитів,

яка зростала у міру тривалості культури і клітинних пасажів [40]. Фетальні астроцити людини були здатні представляти суперантигени (Sag, SEB, TSST1) алогенним CD4<sup>+</sup>T-клітинам [40].

Al Nimer і співавт. показали [41], що НСК людини *in vitro* експресували тільки МНС II класу. У НСК людини 12-го тижня гестації, а також у НПК, отриманих з ЕСК людини чи фетального походження, рівень експресії МНС I класу був низьким, а молекули II класу – відсутні [18,42]. За умов впливу IFN- $\gamma$  експресія МНС I класу збільшувалася [18,42], зростаючи у диференційованих з НПК нейронах та імуноцитохімічно виявлялася у нейритах [42]. TNF- $\alpha$  значуще підсилював експресію молекул МНС I класу і менше – II класу [18].

Аналіз за допомогою проточної цитометрії НПК людини, отриманих з кори вентрального середнього мозку фетусів 7-11-го тижня гестації показав, що МНС I не виявлялися на поверхні свіжоізолюваних фетальних НПК, але починали детектуватись при культивуванні у більшості проліферуючих НПК через 7 діб [43]. Протягом диференціювання експресія МНС I зберігалася на ненейрональних клітинах. Молекули МНС II були наявні на низькому рівні, але після впливу прозапальних цитокінів їх експресія підвищувалася. За іншими даними, НПК людини, отримані з фетального мозку, та НПК, генеровані з ЕСК, містили не менше ніж 80 % HLA I<sup>+</sup>-клітин і не більше ніж 10 % HLA II<sup>+</sup>-клітин [44]. Додавання в культуру IFN- $\gamma$  та / або TNF- $\alpha$  значуще не впливало на експресію цих антигенів.

Експресія молекул МНС змінюється в процесі диференціювання. За даними Vagaska і співавт. [45], НСК людини містили антигени обох класів МНС; половина з них коекспресували МНС II, маркери НСК SOX2 і нестин та були негативні на CD11b (маркер мікроглії). Експресія МНС II змінювалася при диференціюванні клітин у різні типи: GFAP-позитивні астроцити були негативними на МНС II; натомість, у MAP2-позитивних

нейронах підвищувалась експресія МНС II та СІТА. За умов впливу IFN- $\gamma$  вміст молекул МНС II зростав на НСК та астроцитах, на відміну від мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) з пуповини та жирової тканини [45], підтверджуючи гіпоімуногенність МСК і, натомість, значну імуногенність НСК людини.

Цитокіни різного видового походження (людини, мавпи або щура) по-різному впливали на НСК / НПК людини різних ліній, отриманих зі стріатума або гіпокампа [46]. IFN- $\gamma$  людини і мавпи посилював експресію МНС в НСК / НПК обох ліній, тоді як IFN- $\gamma$  щура впливав лише на клітини з гіпокампа. Крім того, IFN- $\gamma$  збільшував втричі диференціацію в нейрональному напрямку культивованих НСК / НПК з стріатума та вдвічі – кількість олігодендроцитів у культурах клітин з гіпокампа. TNF- $\alpha$ , але не IL-6, підвищував експресію МНС в обох клітинних лініях, посилюючи гліогенез, тоді як IL-6 стимулював нейрогенез [46].

НСК з фетального переднього мозку щурів експресували молекули МНС I та II класу на низькому рівні. Клітини, що диференціювались з НСК (нейрони, астроцити, олігодендроцити) втрачали антигени МНС, але після впливу IFN- $\gamma$  відбувалась індукція та підвищення вмісту молекул МНС як у НСК, так і в диференційованих з них клітинах [47].

НСК іморталізованої клітинної лінії з гіпокампа миші експресували МНС I і II класу при культивуванні у проліферативних умовах (33<sup>0</sup> C), тоді як клітини з морфологічними ознаками диференціювання при культивуванні у непроліферативних умовах (37-39<sup>0</sup> C) характеризувалися дуже низьким вмістом МНС I/II або їх відсутністю, тобто в процесі диференціювання НСК експресія антигенів МНС I/II класу знижувалась [48]. Водночас недиференційовані НСК у непроліферативних умовах культивування зберігали рівень молекул МНС I і II класу. Культивовані НСК з кори головного мозку (E13, E14,5) мишей експресували МНС I та II класу на низькому рівні і значно підвищували його після впливу

IFN- $\gamma$  [49,50], але при цьому гальмувалась їх проліферація. TNF- $\alpha$  збільшував частку МНС I<sup>+</sup>-НСК з 18 до 38 %. Вказані ефекти не спостерігалися при дії IL-1 $\beta$ , IL-10 [50]. Імуноцитофлуориметричне дослідження *in vitro*, а також імуногістохімічне – після пересадки нейросфер під капсулу нирки алогенних мишей не виявило у НПК мишей наявності молекул МНС I та II класу [51,52]. Ці антигени були відсутні також при диференціюванні у середовищі з додаванням 10 %-ї сироватки і з'являлися лише за умов впливу IFN- $\gamma$ . НПК, отримані від 1-6-добових новонароджених мишей, не експресували, або експресували у незначних кількостях молекули МНС I, а також Тар 1/2 [53].

З нашої точки зору, важливими у порівняльному аспекті є дані щодо експресії антигенів МНС у процесі розвитку ЦНС та на клітинах зрілого мозку, оскільки вони відображають зміни експресії антигенів МНС при диференціації НСК у різні клітинні типи ЦНС. Chacon і Boulanger показали, що протеїни МНС I широко представлені в ЦНС мишей у середній гестаційний період (E9.5-10.5) [35]. Підвищена експресія МНС I була виявлена в кількох ділянках пренатального мозку безпосередньо в НПК, що доведено коекспресією МНС I та нейронспецифічного  $\beta$ -тубуліну III (Tuj1) або Рах6 (маркера НПК) в дорсальному нейроепітелії та коекспресією з нестином (маркером НСК/НПК) в нюховій плакоді. МНС I також візуалізовано у невеликій популяції постмітотичних нейронів (доведено коекспресією з нейрональним протеїном 2, асоційованим з мікротрубочками - MAP2). Наявність молекул МНС I в НПК та нейронах у середньому гестаційному періоді, раніше від дозрівання адаптивної імунної системи, узгоджується з виконанням молекулами МНС I неімунних функцій під час розвитку пренатального мозку, порушення яких може робити внесок у патогенез вад розвитку нервової системи [35].

За допомогою імуногістохімічних та імунофлуоресцентних методів дослідження



експресії антигенів МНС протягом розвитку ЦНС людини встановлено, що впродовж 20-33 тиж гестації експресія МНС I класу у корі головного мозку в основному була відсутня, за винятком декількох нейронів; натомість у цей проміжок вона швидко зростала у кохлеарних ядрах та клітинах Пуркінє кори мозочка та повільно зростала у чорній субстанції [54,55]. Також експресія МНС I візуалізувалась у деяких ядрах і нервових волокнах стовбура мозку. Ці ранні нейральні клітини з експресією МНС I пізніше диференціювалися у клітини нейрональної морфології. Протягом 30-33 тиж гестації молекули МНС I виявлялися в нейронах не лише у клітинних тілах і нейритах, але також у нервових волокнах і навколишній стромі. У дорослому мозку не виявлено експресії МНС I, за винятком ендотелію мозкових судин.

Молекули МНС практично не ідентифікуються на клітинах нервової тканини дорослого індивідууму [56]. Вважають, що імунний контроль у тканині ЦНС є унікальним, оскільки тільки активовані Т-клітини здатні патрулювати тканини мозку, а презентація антигену здійснюється тільки індукованими, але не специфічними АПК. У здоровій тканині ЦНС іммігрантні Т-клітини не знаходять МНС<sup>+</sup>-клітин, здатних представляти антигени для розпізнавання. Завдяки своєму активованому стану (попередня умова для проходження через гематоенцефалічний бар'єр) іммігрантні Т-клітини вивільняють великі кількості прозапальних цитокінів (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), які індукують *de novo* МНС-детермінанти на клітинах ЦНС [56]. Встановлено, що на нервових клітинах всіх ліній можуть бути індуковані МНС-молекули після дії IFN- $\gamma$ , зокрема, *in vitro*. Проте індукцйельність МНС I класу на нейронах обмежена для клітин, що не мають електричної активності. При вірусних, аутоімунних і нейродегенеративних процесах у мозку на резидентних клітинах, включно з нейронами, індукується експресія МНС I класу, що супроводжується інфільтрацією запальних клітин в уражену

тканину мозку [57].

Не всі клітини ЦНС мають однакову здатність до презентації антигенів Т-клітинам. Мікрогліальні клітини є нейрогліальним компонентом ЦНС, відіграючи важливу роль як резидентні імунокомпетентні фагоцити в ЦНС при інфекціях, запаленні, травмі, ішемії, нейродегенерації [58], і вважаються найбільш кваліфікованими нейральними АПК. У стані спокою мікроглія має дефіцит МНС-детермінант, але при дії IFN- $\gamma$  індукується експресія МНС-антигенів обох класів і вона набуває здатності до презентації антигенів специфічним Т-клітинам, а також до експресії костимуляторних молекул (B7-1,-2). Тобто після цитокінової індукції мікрогліальні клітини отримують імунологічний потенціал, подібний до професійних АПК на периферії [56]. Індукція на мікроглії МНС II класу є чутливим індикатором патологічних процесів в ЦНС. Вважають, що мікроглія походить з CD45<sup>+</sup> кісткомозкових прекурсорів, які колонізують фетальний мозок і відіграють ключову роль при запаленні у ЦНС [59]. Однак нещодавні дослідження [45] вказують на те, що головний і спинний мозок ембріона людини (стадія Карнегі 23) містить субпопуляцію клітин, яка одночасно експресує МНС II, CD11b (маркер мікроглії) та SOX2 (маркер НСК), що суперечить загальноприйнятій точці зору про походження мікрогліальних клітин. Вважається, що паренхімна мікроглія є прогеніторами незрілих ДК та макрофагів і експресує на поверхні протеїни МНС II класу. На відміну від інших органів, де резидентні ДК і/або попередники макрофагів наявні у вигляді остаточно диференційованих популяцій, більшість мікрогліальних клітин у мозку залишається у недиференційованому вигляді, і може диференціюватись у відповідь на гранулоцитарний-макрофагальний та макрофагальний колонієстимулювальні фактори (GM-CSF, M-CSF). За допомогою імуногістохімічного дослідження ураженої тканини мозку хворих з розсіяним склерозом показано, що активована мікроглія експе-

сувала високі рівні МНС-специфічних транскрипційних факторів RFX, СІТА, а також МНС I і II класів, тоді як в астроцитах і олігодендроцитах ці фактори були на низькому рівні або відсутні [60]. Клітини імуорталізованої мікрогліальної лінії НМ06 були позитивні на HLA-A,B,C і HLA-DR, а також B7-2 [58]. Зростала експресія HLA-DR на мікрогліальних клітинах при нейродегенеративних процесах, зокрема хворобі Паркінсона [61].

Астроцити вважаються менш компетентними АПК, ніж мікроглія. Вони здатні експресувати МНС II класу у відповідь на дію IFN- $\gamma$ , а також процесувати і презентувати антигени мієліну Т-клітинам [56]. При стимуляції IFN- $\gamma$  як первинні, так й імуорталізовані астроцити миші збільшували експресію СІТА, інваріантного ланцюга Ii, H-2Ma, H-2Mb. Проте у зв'язку з недостатністю на них коstimулювальних молекул, МНС-індуковані астроцити презентують антигени тільки Т-клітинам пам'яті, але не здатні запускати повну активаційну програму у «наївних» Т-клітинах [56]. Інтактні астроцити були МНС II-негативними [45].

Культивовані клітини гематоенцефалічного бар'єру і олігодендроцити ще менш ефективні у презентації антигену, ніж астроцити. Та в умовах гострого запального або демієлінізуючого процесу в ЦНС виявлялися МНС II<sup>+</sup>-ендотеліальні клітини у судинах головного мозку, підтверджуючи потенціал до процесингу антигену; при цьому позитивними були також периваскулярні клітини, паренхімна мікроглія, мононуклеари [62]. Такі ендотеліальні клітини можуть відігравати роль на ініціальних стадіях Т-клітинної відповіді при ураженнях ЦНС, зокрема розсіяному склерозі. *In vitro* ендотеліальні клітини зрілого мозку людини експресували HLA-DR, B7.1 і B7.2 лише після індукції IFN- $\gamma$  і не могли підтримувати Т-клітинну проліферацію і продукцію цитокінів. Це свідчить про здатність ендотеліальних клітин в умовах прозапального оточення підтримувати імунну відповідь [63].

Ієрархія гліального потенціалу презентації антигенів спостерігається також *in vivo*. Інтрацельний вплив IFN- $\gamma$  призводить до швидкої і сильної експресії МНС II на периваскулярних і мікрогліальних клітинах, і сповільненої та більш слабкої індукції МНС II на астроцитах. Найбільш рання і сильна експресія МНС II протягом запального процесу у головному мозку відбувається на клітинах мікроглії [56].

У культурі нейрони, виділені з гіпокампа мишей C57BL/6, не експресували МНС I на плазматичній мембрані, проте при індукції IFN- $\gamma$  (протягом 72 год), коли нейрональна активність була заблокована тетродотоксином, імуногістохімічно експресія МНС I виявлялася як на тілах нейронів, так і на нейритах (аксонах і дендритах) [57]. Після впливу IFN I типу експресія МНС I була вдвічі вищою у диференційованих нейронах у культурі нейробластомної лінії BE(2)-C [64]. За іншими даними, суттєвої експресії HLA-A,B,C і  $\beta$ 2-m не спостерігалось на жодній стадії розвитку нейронів, включно з ольфакторним епітелієм, нервовою тканиною ембріона і нормальним зрілим мозком. HLA і  $\beta$ 2-m визначалась у редуктованих кількостях у клітинах нейробластомної лінії, зростаючи при дії IFN- $\gamma$  [65]. Інфікування клітин нейробластоми Т-лімфотропним вірусом людини HTLV-I індукувало експресію антигенів HLA II [66]. Також HLA-DR зареєстровано на нейронах у 2 випадках із 12 при хворобі Піка (прогресивна форма деменції), що супроводжувалося сильною активацією мікроглії; при цьому не виявлено HLA I класу на нейронах і глії [67].

Електрично активні нейрони модулюють імунну реактивність ЦНС через зниження експресії молекул МНС [56]. Таким чином, вони запобігають прозапальному стимулу активованих імунних клітин, що інфільтрують ЦНС внаслідок периферичної стимуляції. Інтактні нейрони пригнічують індукцію МНС II на астроцитах та інших клітинах ЦНС [45,56]. Блокада нейрональної активності тетродотоксином відновлювала індукцибельність молекул МНС II на астроцитах,

а також збільшувала їх вміст на мікроглії. Отже, функційно активні нейрони не тільки контролюють експресію МНС на навколишніх астроцитах і мікрогліальних клітинах, але і свою власну МНС-індуцибельність. У цей пригнічувальний механізм залучається глутамат, що вивільняється синапсами [56]. Крім того, експресія МНС I регулюється нейрональною активністю і залучається в гомеостатичну регуляцію функції та морфологічної структури синапсів протягом індивідуального розвитку і у відповідь на блокаду нейрональної активності [68]. Нещодавні дослідження підтвердили роль МНС I у розвитку ЦНС, регуляції росту нейритів і синаптичної пластичності пре- і постнатального мозку, що розвивається [35,54,55,69-71].

Sun і співавт. виявили зростання експресії МНС I в мозку щурів Sprague-Dawley із моделюваною ішемією та наступним введенням фактора росту нервів (NGF) або суспензії алогенних фетальних НСК (E16) кори головного мозку [72]. Імуногістохімічними дослідженнями було показано, що високий вміст HLA-G протеїна експресувався при розсіяному склерозі у гострих бляшках, у хронічних активних бляшках, а також в нормальній білій речовині, локалізуючись у мікрогліальних клітинах, макрофагах і частині ендотеліальних клітин, і дуже рідко виявлявся у контрольних непатологічних зразках. Експресія HLA-G також знайдена при менінгітах і хворобі Альцгеймера, і корелювала з підвищенням рівня МНС II на мікрогліальних клітинах. Вважають, що залучення HLA-G як інгібіторного механізму спрямоване на зменшення руйнівного ефекту Т-клітинної інфільтрації при нейрозапаленні [62].

Отже, експресія антигенів МНС клітинами мозку зростає при дії прозапальних чинників при патологічних процесах у мозку. Дані літератури щодо наявності антигенів МНС на НСК / НПК є фрагментарними і досить суперечливими. Проте важливими, з

нашої точки зору, є принципові відмінності імуногенних властивостей НСК / НПК фетального мозку та інших типів стовбурових клітин (СК) (зокрема, МСК з пуповини та жирової тканини) [45,73]. З високою імуногенністю НСК / НПК асоціюють експресію саме МНС II класу [45].

**Експресія НСК / НПК поверхневих антигенів та коstimулювальних молекул.** Для реалізації повноцінної імунної відповіді необхідною умовою, крім розпізнавання антигенів МНС, є взаємодія коstimулювальних молекул. ЕСК людини та їх диференційовані похідні не мали CD80 та CD86, їх експресія не індукувалася після впливу IFN- $\gamma$  [17]. Також були відсутні або наявні у дуже малих кількостях ліганди для ПК (NKp30, NKp44, NKp46, CD16) [17].

При культивуванні *in vitro* НПК людини з ростом нейросфер підвищувалась експресія HLA I і II, але не коstimуляторних протеїнів CD40, CD80, CD86; тому НПК не викликали реакцій співкультивованих периферичних лімфоцитів [40]. Молекули CD9, CD15, CD81, CD95 виявлялись на НПК людини після впливу FGF та епідермального фактора росту (EGF) [74]. НПК, отримані з ЕСК людини чи фетального походження, не мали коstimуляторних молекул CD40, CD80, CD86, B7H1 [42], але містили ліганди ULBP1, ULBP2, ULBP3, MICA/B, що активують рецептори NKG2D ПК і можуть залучатися до лізису НПК цими клітинами. Експресія CD80, CD86 не виявлена також у НПК з фетальної кори вентрального середнього мозку людини 7-11-го тижня гестації [43] та НСК з фетального мозку людини 14-го тижня гестації, але останні експресували коstimуляторні молекули CD70 [75].

За даними Liu і співавт. [44], НПК людини з фетального мозку, та НПК, генеровані з ЕСК, мали схожі властивості щодо експресії поверхневих молекул: CD24 (~ 5 % клітин), CD31 (маркер ендодермальних клітин, 0-3 %), CD29 (протеїн, що регулює проліферацію,

виживання, міграцію і диференціацію нейральных клітин, 80 - 90 %) та CD44 (80-90 % клітин). Водночас костимуляторні молекули CD80, CD86 виявлено менш ніж у 5 % клітин, CD40 – у 3-8 % клітин; тоді як експресія CD54 (молекула, що зв'язується з функціонально-асоційованим антигеном лімфоцитів 1) визначалася у менш ніж 25 %, а CD58 (відповідає за приєднання до CD2 на Т-лімфоцитах та силу зв'язування) – у понад 80 % клітин. Частка HLA-I<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup>CD80<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup>-клітин серед фетальних НПК становила 3-5 %, тоді як серед генерованих з ЕСК їх не виявлено [44].

*In vitro* в культурах фетального мозку людини нейрони експресували CD4 протягом перших 2 тиж, а астроцити ставали CD4<sup>+</sup> через 4-6 тиж, крім того вони експресували також CD21 і CD24, а нейрони – CD24 [76]. НПК щура експресували CD3, CD172a (10 %), CD133 (15 %), CD3 (40 %), CD71 (40 %); але не мали костимуляторних молекул CD80, CD86 і виявляли слабку експресію CD26, CD161 [41,77]. Однак молекули CD80 і CD86 визначалися на клітинах НСК із СВ3 дорослих тварин [78], їх вміст підвищувався при дії IFN- $\gamma$  або TNF- $\alpha$ .

НПК мишей мали високий вміст CD24 (маркер плюрипотентних ЕСК), CD133 (маркер нейроепітеліальних СК) та CD9, CD15, CD81 [74,79], на відміну від мультипотентних фетальних СК, вміст CD133 та CD15 на яких був значно нижчим, а CD24 - відсутні [79]. НПК мишей конститутивно експресували CD80/CD86 і не змінювали рівень експресії після впливу IFN- $\gamma$  [52]. Також показано, що НПК, отримані від 1-6-добових новонароджених мишей, експресують ліганди для рецепторів ПК NKG2D (Rae1) та NKp46 [53].

Щодо молекул адгезії, то ICAM-1 не виявили на клітинах НСК із СВ3 дорослих тварин [78]. Проте в НСК людини виявлено нейрональну молекулу адгезії NCAM (CD56<sup>+</sup> - 5-12 % клітин), білок міжклітинної адгезії N-CAD (4-8 % клітин, наявний з початку закладки нервової трубки), та білок адгезії OB-CAD (4-10 % клітин), що характерний для

мезенхімальних клітин [37]. НПК людини з фетального мозку, та НПК, генеровані з ЕСК, експресували NCAM (CD56<sup>+</sup> - 80-100 %) та PSA-NCAM (~ 40 % клітин) [44]. НСК людини і мишей на своїй поверхні мають також рецептори до ендотелію, зокрема, CD49d - адгезивну молекулу, відповідальну за зв'язування з  $\alpha_4$ -інтегрином, експресованим на поверхні ендотелію судин [80]. Крім того, НСК миші (C17.2) експресували CD44 – поверхневий глікопротеїн, головним лігандом якого є гіалуронова кислота - основний компонент екстрацелюлярного матриксу у головному мозку [80]. НСК мишей і людини мають також такі молекули адгезії як інтегрини ( $\alpha_4$ ,  $\beta_1$ ) і селектини [81].

Таким чином, НСК та НПК можуть експресувати досить широкий спектр імуноактивних молекул, що може визначати їх імуномодулювальну дію на клітини імунної системи при контактній взаємодії.

**Продукція НСК / НПК біологічно активних молекул.** Дослідження НСК ссавців протягом останніх років підкреслили роль цитокинового сигналювання у проліферації і диференціації цих мультипотентних клітин [9,11,44,82-84]. Важливими регуляторами проліферації НСК дорослого мозку вважають TNF- $\alpha$ , лейкемієінгібувальний фактор (LIF), циліарний нейротрофічний фактор (CNTF), стромальний клітинний фактор (SDF-1), інсуліноподібний ростовий фактор 1 (IGF-1), IL-1, IL-6. Диференціацію НСК переважно контролюють IL-6, LIF, IL-4, IFN- $\gamma$ , CCL2 (або моноцитарний хемотаксичний протеїн, MCP-1), еритропоетин, GM-CSF та гранулоцитарний колонієстимулювальний фактор (G-CSF). Міграцію НПК спричиняють MCP-1 та SDF-1, тоді як виживання НСК / НПК підтримується TNF- $\alpha$ , SDF-1 і зменшується під впливом IFN- $\gamma$  [9]. Цитокіни родини трансформувального ростового фактору  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), включно з ним, BMPs та активіном / nodal, є групою найважливіших морфогенів у ембріональному розвитку і відіграють



ключову роль у модуляції долі стовбурових / прогеніторних клітин, зокрема НСК / НПК (виживання, самопідтримання, міграція, нейронально-гліальна диференціація) [85-88]. Цитокіни і хемокіни впливають на самопідтримання, клітинний поділ та диференціацію НСК / НПК, залучаючи різні сигнальні шляхи: JAK/STAT, NF- $\kappa$ B, ERK/MAPK, PKC і PI3K/Akt, JNK тощо [9,16,89]. Однак хоча відповідь НСК / НПК на екзогенні ростові фактори продемонстрована *in vitro* та *in vivo*, досить мало уваги приділялося можливості безпосередньої продукції цитокінів цими клітинами. Поряд з концепцією *клітинного заміщення* у механізмах дії НСК / НПК останнім часом запропоновано паралельну концепцію «*функціональної або терапевтичної пластичності*» [4], що враховує «*bystander*» ефекти - здатність цих клітин до секреції регенеративних факторів, до числа яких зараховують нейропротективні та імуномодуляторні цитокіни, ростові фактори, морфогени тощо.

Зокрема, за допомогою імуноцитохімії, RT-PCR та імуноферментного аналізу показано, що в стандартних умовах росту мультипотентні НПК людини експресують такі цитокіни, як IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TNF- $\alpha$ , але не IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$  [83]. НПК щура і миші також експресували деякі, але не всі, згадані цитокіни за тих же умов. Хоча функціональне значення експресії цитокінів НПК не до кінця визначене, відомо, що ці сигнальні молекули залучаються у розвиток нервової системи і можуть відігравати роль у активації СК, що знаходяться у стані спокою, при різних патологічних процесах.

Zhang і співавт. у супернатантах НСК фетального мозку людини зафіксували у невеликих кількостях (менше ніж 1 пкг/мл) IL-2, IL-4, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$  (~40 пкг/мл); IL-6 не виявлено [82]. НПК людини з фетального мозку 5-7,5 тиж гестації, а також НПК, генеровані з ЕСК, продукували *in vitro* TGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2 та IL-10 [44]. Додавання в культуру IFN- $\gamma$  та / або TNF- $\alpha$  суттєво не впливало

на продукцію цих цитокінів фетальними НПК, натомість підвищуючи їх продукцію НПК, генерованих з ЕСК. НСК людини 12-го тижня гестації продукували TGF- $\beta$ 1 [18]. У супернатантах НСК з фетального мозку людини 14-го тижня гестації виявлено підвищені концентрації IL-6; натомість IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IFN- $\gamma$  були відсутні [75]. Попередники олігодендроцитів продукували TGF- $\beta$ 1 [90]. Інфікування НПК людини вірусом грипу H5N1 призводило до невеликого підвищення експресії ними мРНК IFN- $\gamma$  і до значущого - мРНК TNF- $\alpha$  [91]. У культивованих фетальних НСК (E16) кори головного мозку щурів на транскрипційному і трансляційному рівнях встановлено експресію NGF, нейротрофічного фактора мозку (BDNF) та нейротрофіну-3 (NT-3) [72]. НПК мишей при співкультивуванні з астроцитами *in vitro*, а також *in vivo* при трансплантації мишам з інсультом продукували VEGF, підвищуючи на астроцитах гліальний глутаматний транспортер 1, що сприяло поновленню аксональних оболонок і пластичності дендритів та забезпечувало тривале функціональне відновлення (протягом 60 діб) після ішемії [92]. Продукція IFN- $\gamma$  НСК мишей не виявлена [84]. НСК мишей і людини експресують також багато хемокінів та їх рецепторів (CCR-1,-2,-5, CXCR-3,-4), які опосередковують їх хомінг до джерел прозапальних цитокінів, таких як SDF-1 $\alpha$  [81].

Таким чином, НСК / НПК можуть реалізувати регуляторні ефекти через секрецію масиву імуномодуляторних цитокінів, хемокінів, ростових факторів. Вважають, що ці молекули сприяють відновленню тканин, особливо TGF- $\beta$  та IL-10 [82]. НСК та НПК можуть експресувати достатньо широкий спектр імунологічно активних молекул, включаючи антигени гістосумісності, що може визначати їх імуномодуляторну дію на клітини імунної системи при контактній взаємодії, а також викликати індукцію реакцій імунного відторгнення чи блокаду імунних реакцій при нейротрансплантації.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.*

**Л.Д. Любич, Н.І. Лісяний**

## **ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕЙРОГЕННЫХ КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОГО МОЗГА.**

### **I. ЭКСПРЕССИЯ МОЛЕКУЛ С ИММУННЫМИ СВОЙСТВАМИ**

В обзоре представлен анализ современного состояния разработки проблемы иммунобиологических свойств нейрогенных стволовых и прогениторных клеток (НСК / НПК) головного мозга. В разделе I обобщены данные об НСК/НПК в процессе пренатального развития. Рассмотрены дискуссионные вопросы относительно экспрессии ними и клетками зрелой нервной ткани антигенов гистосовместимости в сравнительном аспекте, а также иерархии потенциала презентации антигенов клетками центральной нервной системы. Обращено внимание на роль молекул главного комплекса гистосовместимости в развитии пре- и постнатального мозга. Приведены данные об экспрессии НСК / НПК иммуноактивных костимулирующих молекул, что может определять их иммуномодулирующее влияние на клетки иммунной системы при контактном взаимодействии. Суммированы сведения об экспрессии и продукции НСК / НПК иммунорегуляторных цитокинов и ростовых факторов, являющихся подтверждением механизма регенеративного действия данных клеток при нейротрансплантации – так называемого “bystander” эффекта, обосновывающего концепцию «функциональной или терапевтической пластичности». Ключевые слова: нейрогенные стволовые клетки, нейрогенные прогениторные клетки, молекулы главного комплекса гистосовместимости I и II класса, костимулирующие молекулы, цитокины, ростовые факторы.

**L.D. Liubich, M.I. Lisyany**

## **IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES OF NEUROGENIC CELLS OF THE FETAL BRAIN. I. EXPRESSION OF MOLECULES WITH IMMUNE PROPERTIES**

The review presents an analysis of the current state of development of the problem of the brain neurogenic stem and progenitor cells (NSC / NPC) immunobiological properties. Section I summarizes data on NSC / NPC during the prenatal development. Discussion issues regarding the expression of histocompatibility antigens by NSC / NPC and mature nerve tissue cells in a comparative aspect, as well as the hierarchy of the antigen presenting potential of cells of the central

nervous system are considered. Attention is drawn to the role of molecules of the main histocompatibility complex in the development of pre- and postnatal brain. Data on the expression of NSC / NPC immunoactive costimulatory molecules are given, which can determine their immunomodulating effect on cells of the immune system during contact interaction. The data on the expression and production of NSC / NPC immunoregulatory cytokines and growth factors are summarized; they are evidence of the mechanism of the regenerative action of these cells in neurotransplantation, the so-called. “bystander” effect, which justifies the concept of “functional or therapeutic plasticity”.

Key words: neurogenic stem cells, neurogenic progenitor cells, molecules of the main histocompatibility complex of I and II class, costimulatory molecules, cytokines, growth factors.

SI “Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv; e-mail: lyubichld@gmail.com

## **REFERENCES**

1. Vishwakarma SK, Bardia A, Tiwari SK, Paspala SA, Khan AA. Current concept in neural regeneration research: NSCs isolation, characterization and transplantation in various neurodegenerative diseases and stroke: A review. J Adv Res. 2014 May;5(3):277-94. doi: 10.1016/j.jare.2013.04.005.
2. Harris L, Zalucki O, Piper M, Heng JI. Insights into the Biology and Therapeutic Applications of Neural Stem Cells. Stem Cells Int [serial on the Internet]. 2016 Mar [cited 2017 Sep 8];2016:9745315 [18 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4812498/pdf/SCI2016-9745315.pdf>. doi: 10.1155/2016/9745315.
3. Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system Science. 1992 Mar 27;255(5052):1707-10. PMID:1553558.
4. Martino G, Pluchino S, Bonfanti L, Schwartz M. Brain regeneration in physiology and pathology: the immune signature driving therapeutic plasticity of neural stem cells. Physiol Rev. 2011 Oct;91(4):1281-304. doi: 10.1152/physrev.00032.2010.
5. Custo Greig LF, Woodworth MB, Galazo MJ, Padmanabhan H, Macklis JD. Molecular logic of neocortical projection neuron specification, development and diversity. Nat Rev Neurosci. 2013 Nov;14(11):755-69. doi: 10.1038/nrn3586.
6. Florio M, Huttner WB. Neural progenitors, neurogenesis and the evolution of the neocortex Development. 2014 Jun;141(11):2182-94. doi: 10.1242/dev.090571.
7. Pilz GA, Shitamukai A, Reillo I, Pacary E, Schwausch J, Stahl R, Ninkovic J, Snippet HJ, Clevers H, Godinho L, Guillemot F, Borrell V, Matsuzaki F, Götz M. Amplification of progenitors in the mammalian telencephalon includes a new radial glial cell type. Nat Commun [se-

- rial on the Internet]. 2013 Jul [cited 2017 Sep 8];4:2125 [11 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3717501/pdf/ncomms3125.pdf>. doi: 10.1038/ncomms3125.
8. Hansen DV, Lui JH, Flandin P, Yoshikawa K, Rubenstein JL, Alvarez-Buylla A, Kriegstein AR. Non-epithelial stem cells and cortical interneuron production in the human ganglionic eminences. *Nat Neurosci*. 2013 Nov;16(11):1576-87. doi: 10.1038/nn.3541.
9. Gonzalez-Perez O, Gutierrez-Fernandez F, Lopez-Virgen V, Collas-Aguilar J, Quinones-Hinojosa A, Garcia-Verdugo JM. Immunological regulation of neurogenic niches in the adult brain. *Neuroscience*. 2012 Dec 13;226:270-81. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.08.053.
10. Brombacher TM, Nono JK, De Gouveia KS, Makena N, Darby M, Womersley J, Tamgue O, Brombacher F. IL-13-Mediated Regulation of Learning and Memory. *J Immunol*. 2017 Apr 1;198(7):2681-2688. doi: 10.4049/jimmunol.1601546.
11. de Miranda AS, Zhang CJ, Katsumoto A, Teixeira AL. Hippocampal adult neurogenesis: Does the immune system matter? *J Neurol Sci*. 2017 Jan 15;372:482-495. doi: 10.1016/j.jns.2016.10.052.
12. Song EJ, Jeon SG, Kim KA, Kim JI, Moon M. Restricted CD4+ T cell receptor repertoire impairs cognitive function via alteration of Th2 cytokine levels. *Neurogenesis (Austin)* [serial on the Internet]. 2017 Jan 5 [cited 2017 Sep 15];4(1):e1256856 [4 p.]. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/23262133.2016.1256856>. doi: 10.1080/23262133.2016.1256856.
13. Zhang J, Jiao J. Molecular Biomarkers for Embryonic and Adult Neural Stem Cell and Neurogenesis. *Biomed Res Int* [serial on the Internet]. 2015 [cited 2017 Sep 18];2015:727542 [14 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4569757/pdf/BMRI2015-727542.pdf>. doi: 10.1155/2015/727542.
14. Bonnamain V, Neveu I, Naveilhan P. Neural stem/progenitor cells as promising candidates for regenerative therapy of the central nervous system. *Front Cell Neurosci* [serial on the Internet]. 2012 Apr [cited 2017 Sep 4]; 6: 17 [8 pages]. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3323829/pdf/fncel-06-00017.pdf>. doi:10.3389/fncel.2012.00017.
15. Abbott A. Fetal-cell revival for Parkinson's. *Nature*. 2014 Jun 12;510(7504):195-6. doi: 10.1038/510195a.
16. Gao M, Yao H, Dong Q, Zhang H, Yang Z, Yang Y, Zhu J, Xu M, Xu R. Tumorigenicity and Immunogenicity of Induced Neural Stem Cell Grafts Versus Induced Pluripotent Stem Cell Grafts in Syngeneic Mouse Brain. *Sci Rep* [serial on the Internet]. 2016 Jul 15 [cited 2017 Sep 8];6:29955 [13 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4945932/pdf/srep29955.pdf>. doi: 10.1038/srep29955.
17. Drukker M, Katchman H, Katz G, Even-Tov Friedman S, Shezen E, Hornstein E, Mandelboim O, Reisner Y, Benvenisty N. Human embryonic stem cells and their differentiated derivatives are less susceptible to immune rejection than adult cells. *Stem Cells*. 2006 Feb;24(2):221-9. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0188.
18. Ubiali F, Nava S, Nessi V, Frigerio S, Parati E, Bernasconi P, Mantegazza R, Baggi F. Allorecognition of human neural stem cells by peripheral blood lymphocytes despite low expression of MHC molecules: role of TGF-beta in modulating proliferation. *Int Immunol*. 2007 Sep;19(9):1063-74. DOI:10.1093/intimm/dxm079.
19. Alegre ML, Lakkis FG, Morelli AE. Antigen Presentation in Transplantation. *Trends Immunol*. 2016 Dec;37(12):831-843. doi: 10.1016/j.it.2016.09.003.
20. Boardman DA, Jacob J, Smyth LA, Lombardi G, Lechler RI. What Is Direct Allorecognition? *Curr Transplant Rep*. 2016;3(4):275-283.
21. Marino J, Paster J, Benichou G. Allorecognition by T Lymphocytes and Allograft Rejection. *Front Immunol* [serial on the Internet]. 2016 Dec 14 [cited 2017 Sep 15];7:582 [9 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5155009/pdf/fimmu-07-00582.pdf> doi: 10.3389/fimmu.2016.00582.
22. Weissert R. Adaptive Immunity Is the Key to the Understanding of Autoimmune and Paraneoplastic Inflammatory Central Nervous System Disorders. *Front Immunol* [serial on the Internet]. 2017 Mar 23 [cited 2017 Sep 15];8:336 [10 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5362596/pdf/fimmu-08-00336.pdf> doi: 10.3389/fimmu.2017.00336.
23. Barker RA, Widner H. Immune problems in central nervous system cell therapy. *NeuroRx*. 2004 Oct;1(4):472-81. DOI:10.1602/neurorx.1.4.472.
24. Rogers NJ, Lechler RI. Allorecognition. *Am J Transplant*. 2001 Jul;1(2):97-102. PMID:12099369.
25. Alekseev LP, Khaitov RM, Dolbin AG, Boldyreva MN, Trofimov DY, Alekseeva PL, Minin MG. The main complex of human tissue compatibility (HLA) and clinical transplantology. *Immunologiya*. 2008; (4): 237-44.
26. Garrido F, Cabrera T, Concha A, Glew S, Ruiz-Cabello F, Stern PL. Natural history of HLA expression during tumor development. *Immunol Today*. 1993 Oct;14(10):491-9. PMID: 8274189.
27. Imboden M, Murphy KR, Rakhmilevich AL, Neal ZC, Xiang R, Reisfeld RA, Gillies SD, Sondel PM. The level of MHC class I expression on murine adenocarcinoma can change the antitumor effector mechanism of immunocytokine therapy. *Cancer Res*. 2001 Feb 15;61(4):1500-7. PMID: 11245457.
28. Malmberg KJ, Sohlberg E, Goodridge JP, Ljunggren HG. Immune selection during tumor checkpoint inhibition therapy paves way for NK-cell "missing self" recognition. *Immunogenetics*. 2017 Aug;69(8-9):547-556. doi: 10.1007/s00251-017-1011-9.
29. Wieczorek M, Abualrous ET, Sticht J, Álvaro-Benito M, Stolzenberg S, Noé F, Freund C. Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I and MHC Class II Proteins: Conformational Plasticity in Antigen Presentation. *Front Immunol* [serial on the Internet]. 2017 Mar 17 [cited 2017 Sep 7]; 8:292: [16 p.]. Available from: <https://>

- www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5355494/pdf/fimmu-08-00292.pdf. doi: 10.3389/fimmu.2017.00292.
30. Holdsworth R, Hurley CK, Marsh SG, Lau M, Noreen HJ, Kempenich JH, Setterholm M, Maier M. The HLA dictionary 2008: a summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, and DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ antigens. *Tissue Antigens*. 2009 Feb;73(2):95-170. doi: 10.1111/j.1399-0039.2008.01183.x.
  31. Demina TN, Mailian EA, Gulmamedova ID, Gulmamedov VA. Modern views on the immunology of the gestational process. *Reproductive health of a woman*. 2003; (19130): 43-8.
  32. Agrawal S, Pandey MK. The potential role of HLA-G polymorphism in maternal tolerance to the developing fetus. *J Hematother Stem Cell Res*. 2003 Dec;12(6):749-56. DOI: 10.1089/15258160360732768.
  33. O'Callaghan CA. Natural killer cell surveillance of intracellular antigen processing pathways mediated by recognition of HLA-E and Qa-1b by CD94/NKG2 receptors. *Microbes Infect*. 2000 Apr;2(4):371-80. PMID:10817639.
  34. Lafon M, Prehaud C, Megret F, Lafage M, Mouillot G, Roa M, Moreau P, Rouas-Freiss N, Carosella ED. Modulation of HLA-G expression in human neural cells after neurotropic viral infections. *J Virol*. 2005 Dec;79(24):15226-37. DOI: 10.1128/JVI.79.24.15226-15237.2005.
  35. Chacon MA, Boulanger LM. MHC class I protein is expressed by neurons and neural progenitors in mid-gestation mouse brain. *Mol Cell Neurosci*. 2013 Jan;52:117-27. doi: 10.1016/j.mcn.2012.11.004.
  36. Draper JS, Pigott C, Thomson JA, Andrews PW. Surface antigens of human embryonic stem cells: changes upon differentiation in culture. *J Anat*. 2002 Mar;200(Pt 3):249-58. PMID: PMC1570685.
  37. Poltavtseva RA, Marey MV, Aleksandrova MA, Revishchin AV, Korochkin LI, Sukhikh GT. Evaluation of progenitor cell cultures from human embryos for neurotransplantation. *Brain Res Dev Brain Res*. 2002 Mar 31;134(1-2):149-54. PMID: 11947945.
  38. Odeberg J, Piao JH, Samuelsson EB, Falci S, Akesson E. Low immunogenicity of in vitro-expanded human neural cells despite high MHC expression. *J Neuroimmunol*. 2005 Apr;161(1-2):1-11. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2004.11.016.
  39. McLaren FH, Svendsen CN, Van der Meide P, Joly E. Analysis of neural stem cells by flow cytometry: cellular differentiation modifies patterns of MHC expression. *J Neuroimmunol*. 2001 Jan 1;112(1-2):35-46. PMID: 11108931.
  40. Hassan-Zahrae M, Ladiwala U, Lavoie PM, McCrea E, Sekaly RP, Owens T, Antel JP. Superantigen presenting capacity of human astrocytes. *J Neuroimmunol*. 2000 Jan 24;102(2):131-6. PMID: 10636481.
  41. Al Nimer F, Wennersten A, Holmin S, Meijer X, Wahlberg L, Mathiesen T. MHC expression after human neural stem cell transplantation to brain contused rats. *Neuroreport*. 2004 Aug 26;15(12):1871-5. PMID: 15305127.
  42. Preynat-Seauve O, de Rham C, Tirefort D, Ferrari-Lacraz S, Krause KH, Villard J. Neural progenitors derived from human embryonic stem cells are targeted by allogeneic T and natural killer cells. *J Cell Mol Med*. 2009 Sep;13(9B):3556-69. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00746.x.
  43. Laguna Goya R, Busch R, Mathur R, Coles AJ, Barker RA. Human fetal neural precursor cells can up-regulate MHC class I and class II expression and elicit CD4 and CD8 T cell proliferation. *Neurobiol Dis*. 2011 Feb;41(2):407-14. doi: 10.1016/j.nbd.2010.10.008.
  44. Liu J, Götherström C, Forsberg M, Samuelsson EB, Wu J, Calzarossa C, Hovatta O, Sundström E, Åkesson E. Human neural stem/progenitor cells derived from embryonic stem cells and fetal nervous system present differences in immunogenicity and immunomodulatory potentials in vitro. *Stem Cell Res*. 2013 May;10(3):325-37. doi: 10.1016/j.scr.2013.01.001.
  45. Vagaska B, New SE, Alvarez-Gonzalez C, D'Acquisto F, Gomez SG, Bulstrode NW, Madrigal A, Ferretti P. MHC-class-II are expressed in a subpopulation of human neural stem cells in vitro in an IFN $\gamma$ -independent fashion and during development. *Sci Rep [serial on the Internet]*. 2016 Apr 15 [cited 2017 Sep 11]; 6:24251 [14 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4832187/pdf/srep24251.pdf>. doi: 10.1038/srep24251.
  46. Johansson S, Price J, Modo M. Effect of inflammatory cytokines on major histocompatibility complex expression and differentiation of human neural stem/progenitor cells. *Stem Cells*. 2008 Sep;26(9):2444-54. doi: 10.1634/stemcells.2008-0116.
  47. Yin L, Fu SL, Shi GY, Li Y, Jin JQ, Ma ZW, Lu PH. Expression and regulation of major histocompatibility complex on neural stem cells and their lineages. *Stem Cells Dev*. 2008 Feb;17(1):53-65. doi: 10.1089/scd.2007.0063.
  48. Modo M, Mellodew K, Rezaie P. In vitro expression of major histocompatibility class I and class II antigens by conditionally immortalized murine neural stem cells. *Neurosci Lett*. 2003 Feb 6;337(2):85-8. PMID: 12527394.
  49. Mammolenti M, Gajavelli S, Tsoulfas P, Levy R. Absence of major histocompatibility complex class I on neural stem cells does not permit natural killer cell killing and prevents recognition by alloreactive cytotoxic T lymphocytes in vitro. *Stem Cells*. 2004;22(6):1101-10. DOI: 10.1634/stemcells.22-6-1101.
  50. Cheeran MC, Jiang Z, Hu S, Ni HT, Palmquist JM, Lokensgard JR. Cytomegalovirus infection and interferon-gamma modulate major histocompatibility complex class I expression on neural stem cells. *J Neurovirol*. 2008 Oct;14(5):437-47. doi: 10.1080/13550280802356845.
  51. Hori J, Ng TF, Shatos M, Klassen H, Streilein JW, Young MJ. Neural progenitor cells lack immunogenicity and resist destruction as allografts. *Stem Cells*. 2003;21(4):405-16. PMID: 12832694.
  52. Weinger JG, Weist BM, Plaisted WC, Klaus SM, Walsh CM, Lane TE. MHC mismatch results in neural progenitor cell rejection following spinal cord transplantation in a model of viral-induced demyelination. *Stem Cells*. 2012 Nov;30(11):2584-95. doi: 10.1002/stem.1234.



53. Phillips LK, Gould EA, Babu H, Krams SM, Palmer TD, Martinez OM. Natural killer cell-activating receptor NKG2D mediates innate immune targeting of allogeneic neural progenitor cell grafts. *Stem Cells*. 2013 Sep;31(9):1829-39. doi: 10.1002/stem.1422.
54. Zhang A, Yu H, He Y, Shen Y, Pan N, Liu J, Fu B, Miao F, Zhang J. The spatio-temporal expression of MHC class I molecules during human hippocampal formation development. *Brain Res*. 2013 Sep 5;1529:26-38. doi: 10.1016/j.brainres.2013.07.001.
55. Zhang A, Yu H, He Y, Shen Y, Zhang Y, Liu J, Fu B, Lv D, Miao F, Zhang J. Developmental expression and localization of MHC class I molecules in the human central nervous system. *Exp Brain Res*. 2015 Sep;233(9):2733-43. doi: 10.1007/s00221-015-4345-2.
56. Neumann H, Wekerle H. Neuronal control of the immune response in the central nervous system: linking brain immunity to neurodegeneration. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1998 Jan;57(1):1-9. PMID: 9600191.
57. Medana I, Martinic MA, Wekerle H, Neumann H. Transection of major histocompatibility complex class I-induced neurites by cytotoxic T-lymphocytes. *Am J Pathol*. 2001 Sep;159(3):809-15. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)61755-5.
58. Nagai A, Mishima S, Ishida Y, Ishikura H, Harada T, Kobayashi S, Kim SU. Immortalized human microglial cell line: phenotypic expression. *J Neurosci Res*. 2005 Aug 1;81(3):342-8. PMID: 15957187.
59. Schafer DP, Stevens B. Microglia Function in Central Nervous System Development and Plasticity. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [serial on the Internet]. 2015 Jul 17 [cited 2017 Sep 11];7(10):a020545 [18 p.]. Available from: <http://cshperspectives.cshlp.org/content/7/10/a020545.long>. doi: 10.1101/cshperspect.a020545.
60. Gobin SJ, Montagne L, Van Zutphen M, Van Der Valk P, Van Den Elsen PJ, De Groot CJ. Upregulation of transcription factors controlling MHC expression in multiple sclerosis lesions. *Glia*. 2001 Oct;36(1):68-77. PMID: 11571785.
61. Członkowska A, Kurkowska-Jastrzebska I, Członkowski A, Peter D, Stefano GB. Immune processes in the pathogenesis of Parkinson's disease – a potential role for microglia and nitric oxide. *Med Sci Monit*. 2002 Aug;8(8):RA165-77. PMID: 12165754.
62. Van der Maesen K, Hinojosa JR, Sobel RA. Endothelial cell class II major histocompatibility complex molecule expression in stereotactic brain biopsies of patients with acute inflammatory/demyelinating conditions. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1999 Apr;58(4):346-58. PMID: 10218630.
63. Prat A, Biernacki K, Becher B, Antel JP. B7 expression and antigen presentation by human endothelial cells: requirement for proinflammatory cytokines. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2000 Feb;59(2):129-36. PMID: 10749102.
64. Farmer JR, Altschaeff KM, O'Shea KS, Miller DJ. Activation of the type I interferon pathway is enhanced in response to human neuronal differentiation. *PLoS One*. [serial on the Internet]. 2013 Mar [cited 2017 Sep 11];8(3):e58813 [14 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3591356/pdf/pone.0058813.pdf>. doi: 10.1371/journal.pone.0058813.
65. Lampson LA. Biological significance of HLA-A,B,C expression in neuroblastoma and related cell lines. *Prog Clin Biol Res*. 1988;271:409-20. PMID: 3406009.
66. Lehty TJ, Jacobson S. Induction of HLA class II in HTLV-I infected neuronal cell lines. *J Neurovirol*. 1995 Jun;1(2):145-56. PMID: 9222353.
67. Hollister RD, Xia M, McNamara MJ, Hyman BT. Neuronal expression of class II major histocompatibility complex (HLA-DR) in 2 cases of Pick disease. *Arch Neurol*. 1997 Mar;54(3):243-8. PMID: 9074391.
68. Goddard CA, Butts DA, Shatz CJ. Regulation of CNS synapses by neuronal MHC class I. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007 Apr 17;104(16):6828-33. PMID: 17420446.
69. Tetruashvily MM, Melson JW, Park JJ, Peng X, Boulanger LM. Expression and alternative splicing of classical and nonclassical MHC I genes in the hippocampus and neuromuscular junction. *Mol Cell Neurosci*. 2016 Apr;72:34-45. doi: 10.1016/j.mcn.2016.01.005.
70. Lee H, Brott BK, Kirkby LA, Adelson JD, Cheng S, Feller MB, Datwani A, Shatz CJ. Synapse elimination and learning rules co-regulated by MHC class I H2-Db. *Nature*. 2014 May 8;509(7499):195-200. doi: 10.1038/nature13154.
71. Cebrián C, Zucca FA, Mauri P, Steinbeck JA, Studer L, Scherzer CR, Kanter E, Budhu S, Mandelbaum J, Vonsattel JP, Zecca L, Loike JD, Sulzer D. MHC-I expression renders catecholaminergic neurons susceptible to T-cell-mediated degeneration. *Nat Commun* [serial on the Internet]. 2014 Apr 16 [cited 2017 Sep 11];5:3633 [33 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4024461/pdf/nihms575217.pdf>. doi: 10.1038/ncomms4633.
72. Sun C, Zhang H, Li J, Huang H, Cheng H, Wang Y, Li P, An Y. Modulation of the major histocompatibility complex by neural stem cell-derived neurotrophic factors used for regenerative therapy in a rat model of stroke. *J Transl Med* [serial on the Internet]. 2010 Aug 20 [cited 2017 Sep 11];8:77 [10 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2936305/pdf/1479-5876-8-77.pdf>. doi: 10.1186/1479-5876-8-77.
73. Le Blanc K. Immunomodulatory effects of fetal and adult mesenchymal stem cells. *Cytotherapy*. 2003;5(6):485-9. DOI: 10.1080/14653240310003611.
74. Klassen H, Schwartz MR, Bailey AH, Young MJ. Surface markers expressed by multipotent human and mouse neural progenitor cells include tetraspanins and non-protein epitopes. *Neurosci Lett*. 2001 Oct 26;312(3):180-2. PMID: 11602340.
75. Lee EM, Hurh S, Cho B, Oh KH, Kim SU, Surh CD, Sprent J, Yang J, Kim JY, Ahn C. CD70-CD27 ligation between neural stem cells and CD4+ T cells induces Fas-FasL-mediated T-cell death. *Stem Cell Res Ther* [serial on the Internet]. 2013 May 21 [cited 2017 Sep 11];4(3):56 [10 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3706991/pdf/scrt206.pdf>. doi: 10.1186/scrt206.
76. Ennas MG, Cocchia D, Silvetti E, Sogos V, Riva A, Torelli

- S, Gremo F. Immunocompetent cell markers in human fetal astrocytes and neurons in culture. *J Neurosci Res*. 1992 Jul;32(3):424-36. DOI: 10.1002/jnr.490320314.
77. Sergent-Tanguy S, Véziers J, Bonnamain V, Boudin H, Neveu I, Naveilhan P. Cell surface antigens on rat neural progenitors and characterization of the CD3 (+)/CD3 (-) cell populations. *Differentiation*. 2006 Dec;74(9-10):530-41. DOI: 10.1111/j.1432-0436.2006.00098.x.
  78. Imitola J, Raddassi K, Park KI, Mueller FJ, Nieto M, Teng YD, Frenkel D, Li J, Sidman RL, Walsh CA, Snyder EY, Khoury SJ. Directed migration of neural stem cells to sites of CNS injury by the stromal cell-derived factor 1alpha/CXC chemokine receptor 4 pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Dec 28;101(52):18117-22. DOI: 10.1073/pnas.0408258102.
  79. Panchision DM, Chen HL, Pistollato F, Papini D, Ni HT, Hawley TS. Optimized flow cytometric analysis of central nervous system tissue reveals novel functional relationships among cells expressing CD133, CD15, and CD24. *Stem Cells*. 2007 Jun;25(6):1560-70. DOI: 10.1634/stemcells.2006-0260.
  80. Allport JR, Shinde Patil VR, Weissleder R. Murine neuronal progenitor cells are preferentially recruited to tumor vasculature via alpha4-integrin and SDF-1alpha-dependent mechanisms. *Cancer Biol Ther*. 2004 Sep;3(9):838-44. PMID: 15254391.
  81. Gonzalez R, Hamblin MH, Lee JP. Neural Stem Cell Transplantation and CNS Diseases. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2016;15(8):881-6.
  82. Zhang H, Shao B, Zhuge Q, Wang P, Zheng C, Huang W, Yang C, Wang B, Su DM, Jin K. Cross-talk between human neural stem/progenitor cells and peripheral blood mononuclear cells in an allogeneic co-culture model. *PLoS One* [serial on the Internet]. 2015 Feb 6 [cited 2017 Sep 8];10(2):e0117432 [15 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4319716/pdf/pone.0117432.pdf>. doi: 10.1371/journal.pone.0117432.
  83. Klassen HJ, Imfeld KL, Kirov II, Tai L, Gage FH, Young MJ, Berman MA. Expression of cytokines by multipotent neural progenitor cells. *Cytokine*. 2003 May;22(3-4):101-6. PMID:12849709.
  84. Hu S, Rotschafer JH, Lokensgard JR, Cheeran MC. Activated CD8+ T lymphocytes inhibit neural stem/progenitor cell proliferation: role of interferon-gamma. *PLoS One* [serial on the Internet]. 2014 Aug 18 [cited 2017 Sep 11];9(8):e105219 [11 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4136865/pdf/pone.0105219.pdf>. doi: 10.1371/journal.pone.0105219.
  85. Choe Y, Huynh T, Pleasure SJ. Migration of oligodendrocyte progenitor cells is controlled by transforming growth factor  $\beta$  family proteins during corticogenesis. *J Neurosci*. 2014 Nov 5;34(45):14973-83. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1156-14.2014.
  86. Kandasamy M, Lehner B, Kraus S, Sander PR, Marschallinger J, Rivera FJ, Trümbach D, Ueberham U, Reitsamer HA, Strauss O, Bogdahn U, Couillard-Despres S, Aigner L. TGF-beta signalling in the adult neurogenic niche promotes stem cell quiescence as well as generation of new neurons. *J Cell Mol Med*. 2014 Jul;18(7):1444-59. doi: 10.1111/jcmm.12298.
  87. Khanghahi AM, Zeynali B, Akhlaghpour A, Tafreshi AP, Krieglstein K. Activation of TGF $\beta$ 1 signaling enhances early dopaminergic differentiation in unrestricted somatic stem cells. *Neurosci Lett*. 2014 Nov 7;583:60-4. doi: 10.1016/j.neulet.2014.08.055.
  88. Li W, Wei W, Ding S. TGF- $\beta$  Signalling in Stem Cell Regulation. *Methods Mol Biol*. 2016;1344:137-45. doi: 10.1007/978-1-4939-2966-5\_8.
  89. Wang T, Yuan W, Liu Y, Zhang Y, Wang Z, Zhou X, Ning G, Zhang L, Yao L, Feng S, Kong X. The role of the JAK-STAT pathway in neural stem cells, neural progenitor cells and reactive astrocytes after spinal cord injury. *Biomed Rep*. 2015 Mar;3(2):141-6. DOI: 10.3892/br.2014.401.
  90. Seo JH, Maki T, Maeda M, Miyamoto N, Liang AC, Hayakawa K, Pham LD, Suwa F, Taguchi A, Matsuyama T, Ihara M, Kim KW, Lo EH, Arai K. Oligodendrocyte precursor cells support blood-brain barrier integrity via TGF- $\beta$  signaling. *PLoS One* [serial on the Internet]. 2014 Jul 31 [cited 2017 Sep 12];9(7):e103174 [11 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4117639/pdf/pone.0103174.pdf>. doi: 10.1371/journal.pone.0103174.
  91. Pringproa K, Rungsriwut R, Tantilertcharoen R, Praphet R, Pruksananonda K, Baumgärtner W, Thanawongnuwech R. Tropism and Induction of Cytokines in Human Embryonic-Stem Cells-Derived Neural Progenitors upon Inoculation with Highly-Pathogenic Avian H5N1 Influenza Virus. *PLoS One* [serial on the Internet]. 2015 Aug 14 [cited 2017 Sep 12];10(8):e0135850 [14 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4537284/pdf/pone.0135850.pdf>. doi: 10.1371/journal.pone.0135850.
  92. Bacigaluppi M, Russo GL, Peruzzotti-Jametti L, Rossi S, Sandrone S, Butti E, De Ceglia R, Bergamaschi A, Motta C, Gallizioli M, Studer V, Colombo E, Farina C, Comi G, Politi LS, Muzio L, Villani C, Invernizzi RW, Hermann DM, Centonze D, Martino G. Neural Stem Cell Transplantation Induces Stroke Recovery by Up-regulating Glutamate Transporter GLT-1 in Astrocytes. *J Neurosci*. 2016 Oct 12;36(41):10529-44. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1643-16.2016.

*Матеріал надійшов до редакції 20.04.2017.*