

Імунобіологічні властивості нейрогенних клітин фетального мозку.

II. Імунні реакції на нейрогенні стовбурові клітини *in vitro* та *in vivo*

Л.Д. Любич, М.І. Лісяний

ДУ «Інститут нейрохірургії ім.акад.А.П.Ромоданова НАМН України»;
e-mail: Lyubichld@gmail.com

*В огляді представлено аналіз сучасного стану розробки проблеми імунобіологічних властивостей нейрогенних стовбурових та прогеніторних клітин (НСК/НПК) головного мозку. У частині II наведено дані щодо імунних реакцій *in vitro* при сумісному культивуванні НСК/НПК та клітин імунної системи, а також особливостей їх розвитку *in vivo* після трансплантації НСК/НПК. Розглянуто трансформацію уявлень щодо імунної відповіді в ЦНС при введенні НСК/НПК: від концепції «абсолютної імунопривілейованості» мозку до концепції «функціональної» або «терапевтичної пластичності», що враховує різні аспекти і механізми взаємодії клітин імунної системи і НСК/НПК. Узагальнено дані стосовно імунної відповіді при трансплантації ало- та ксеногенних НСК/НПК та її залежність від імунного статусу реципієнтів. Підкреслено актуальність досліджень імунобіологічних властивостей нейрогенних клітин фетального мозку, які сприяють розкриттю механізмів дії НСК/НПК та надають змогу оцінити доцільність їх практичного використання для клітинної терапії уражень ЦНС.*

Ключові слова: нейрогенні стовбурові клітини; нейрогенні прогеніторні клітини; алотрансплантація; ксенотрансплантація; імунна відповідь; імуномодуляція.

Центральна нервова та імунна системи виконують функцію підтримки динамічного гомеостазу організму за принципом взаємної регуляції, що здійснюється схожим набором продукованих їх клітинами біологічно активних медіаторів (цитокінів, ростових, трофічних факторів) через відповідний рецепторний апарат. У дорослому мозку імунна система впливає на нейрогенні «ніші» за допомогою цитокінів і хемокінів, що визначають проліферацію, диференціацію, міграцію та виживання нейрогенних стовбурових/прогеніторних клітин (НСК/НПК) у фізіологічних та патологічних умовах [1-4]. Експериментальні дослідження *in vitro* та *in vivo* дають змогу висвітлити різні аспекти такої взаємодії між клітинами, а також встановити механізми розпізнавання

© Л.Д. Любич, М.І. Лісяний

і відторгнення або приживлення НСК/НПК при нейротрансплантації.

*Імунні реакції при сумісному культивуванні НСК/НПК та клітин імунної системи *in vitro*. Відомо, що клітини головного мозку дорослих і новонароджених тварин, а також супернатанти цих клітин пригнічують проліферативну відповідь Т-лімфоцитів [5]; супресивна дія є більш вираженою у гліальних клітин порівняно з нейрональними. Водночас додавання до культури нейронів з гіпокампу мишей, позитивних на антигени головного комплексу гістомумісності (*major histocompatibility complex* - МНС) I класу, МНС I/пептид-рестрикованих CD8⁺-цитотоксичних лімфоцитів (ЦТЛ) викликало через 0,5 год деструкцію цитоскелета і мембрани нейритів, не спричиняючи видимого ефекту на тіла*

нейронів. Руйнування відростків залежало від наявності на нейрональній мембрані молекул МНС I та специфічного антигенного пептиду, і реалізувалось CD8⁺ЦТЛ через перфорин-опосередкований лізис [6].

Наявні дані стосовно ефектів співкультивування НСК/НПК з клітинами імунної системи суттєво різняться. Відносно ембріональних стовбурових клітин (ЕСК) людини виявлявся лише мінімальний цитотоксичний ефект природних кілерів (ПК) периферичної крові, який дещо зростав після інкубації ЕСК з IFN- γ , можливо, внаслідок недостатності розпізнавання через низьку експресію на цих клітинах рецепторів для ПК (NKp44) або їх відсутність (NKp30, NKp46, CD160) [7]. ЕСК, які мали молекули HLA-A2, ефективно руйнувалися алогенними ЦТЛ, тоді як HLA-Cw3-позитивні – слабо розпізнавалися. Значуща стимуляція експресії МНС I (вірусне інфікування, вплив IFN- γ) сприяла ефективному лізису цих клітин ЦТЛ.

НСК з кори головного мозку (E13) мишей B6 (H-2(b)) з низьким вмістом МНС I/II не розпізнавалися алогенними ЦТЛ та ПК мишей BALB/c (H-2(d)). Підвищення експресії цих антигенів після впливу IFN- γ призводило до ефективного лізису НСК алогенними ЦТЛ, але не ПК [8]. При співкультивуванні активовані Т-клітини запускали в НСК продукцію високих рівнів оксиду азоту і простагландину E2, в результаті чого пригнічувалась проліферація Т-клітин [9]. За іншими даними, НСК мишей підвищували проліферативну активність алогенних CD4⁺ Т-клітин та експресію активаційного маркера CD44 [10]. НСК із субвентрикулярної зони (SVZ) дорослих експериментальних тварин з наявними костимуляторними протеїнами CD80 (B7-1) і CD86 (B7-2) активували проліферацію переважно CD8⁺ Т-лімфоцитів, яка блокувалась антитілами проти CTLA4 або МНС I [11]. Посилення проліферації CD4⁺-клітин та кількості IFN- γ -продукуючих клітин відбувалося також при співкультивуванні алогенних НПК з Т-клітинами від мишей з моделлю

розсіяного склерозу (індукція вірусом гепатиту JHM та наступною трансплантацією алогенних НПК); водночас на НПК при цьому з'являлася експресія антигенів МНС I/II [12]. Натомість співкультивування фетальних НСК мишей з МНС-сумісними алогенними нестимульованими лімфоцитами не впливало на проліферацію НСК. Активовані CD8⁺-лімфоцити пригнічували розмноження НСК через IFN- γ R1-опосередкований механізм, продукуючи IFN- γ , при цьому не впливаючи цитотоксично [13].

НСК/НПК людини, отримані з нейросфер *in vitro*, не дивлячись на високий вміст молекул HLA I/II, не викликали реакцій алогенних лімфоцитів [14]. НСК фетального мозку людини при співкультивуванні з алогенними мононуклеарами периферичної крові (МНПК) не чинили ні проліферативного, ні супресивного впливу на алогенні Т-клітини, а лише змінювали експресію поверхневих антигенів (знижували кількість CD3⁺, CD8⁺, $\gamma\delta$ ⁺ Т-клітин, збільшували кількість Т-reg (CD4⁺25⁺FOXP3⁺)-клітин) [15]. У супернатантах від співкультивованих НСК та МНПК, порівняно з супернатантами від монокультур НСК чи МНПК зростала концентрація протизапальних цитокінів (TGF- β , IL-10, IL-4) і зменшувалась – прозапальних (IFN- γ , IL-17). При цьому алогенні МНПК значуще підсилювали проліферацію і диференціацію НСК [15].

Водночас НСК та НПК, генеровані з ЕСК людини, на відміну від НПК людини з фетального мозку 5-7,5 тиж гестації, в односторонній змішаній культурі стимулювали проліферацію алогенних CD4⁺ Т-клітин [12,16]. Ймовірно, така різниця зумовлена продукцією імуносупресорного цитокіна TGF- β 1, яка була значно вища у фетальних НПК порівняно з генерованими із ЕСК НПК. Крім того, через 6 діб сумісного культивування з обома зазначеними типами НПК серед МНПК зростала кількість CD4⁺ Т-клітин та CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Т-клітин. Вказаний ефект не відтворювався при культивуванні клітин у

розділених камерах, засвідчуючи, що він був викликаний саме клітинною взаємодією, а не розчинними факторами [16].

За іншими даними, НПК, отримані з ЕСК людини чи фетального походження, викликали *in vitro* проліферацію алогенних CD4⁺ та CD8⁺ Т-лімфоцитів [17,18] і цитотоксичну відповідь Т-клітин та ПК [19,20]. МНС II-позитивні НСК людини розпізнавалися за допомогою рецепторів Т-клітин, при цьому морфологічні зміни НСК з'являлись вже через кілька хвилин, а через півгодини відбувався лізис НСК алогенними CD4⁺ і CD8⁺ Т-лімфоцитами [21].

При співкультивуванні алогенних НПК людини з фетального мозку 5-7,5 тижнів гестації та мікрогліальних клітин зростали виживаність та проліферативна активність обох типів клітин [22]. Мікрогліоцити перешкоджали диференціації НПК (підвищувалась частка нестинпозитивних НПК, але зменшувалася – NCAM⁺, A2B5⁺, GFAP⁺ клітин); натомість НПК активували клітини мікроглії (посилювали експресію МНС II, CD206 та фагоцитарну активність). Зростала продукція TGF- β , а також експресія нейроімуномодуляторної молекули CD200 на НПК і CD200R на мікрогліальних клітинах, засвідчуючи потенційний синергічний протективний антизапальний вплив [22].

За даними інших дослідників, НПК пригнічували *in vitro* індукцію маркерів активації Т-клітин (IL-2R- α , PD-1, CTLA) та їх проліферацію у відповідь на стимули, опосередковані Т-клітинним рецептором, а також гальмували проведення сигналу прозапальних цитокінів в імунітатах [23]. Тривале культивування НПК призводило до втрати ними імуносупресивної здатності. НСК з фетального мозку людини 14-го тижня гестації запускали апоптоз алогенних CD4⁺ Т-клітин внаслідок зв'язування молекул CD70 на НСК і CD27 на CD4⁺ Т-клітинах, та наступної індукції FasL і взаємодії Fas-FasL на CD4⁺ Т-клітинах [24]. При співкультивуванні НСК, отриманих з ЕСК людини, з

алогенними CD14⁺ моноцитами та додаванні IL-4, GM-CSF або ліпополісахариду (фактори дозрівання дендритних клітин – ДК) на моноцитах знижувалася експресія CD14 та підвищувалася експресія CD1a (диференційного маркера ДК) [13]. Втім, НСК пригнічували підвищення іншого маркера зрілих ДК – CD83, не впливали на експресію коstimуляторних молекул CD80, CD86, CD40, проте погіршували функційну здатність утворених ДК стимулювати алореактивні Т-клітини.

Таким чином, наявні дані щодо імунорегуляторних ефектів НСК /НПК досить суперечливі, тому це питання потребує подальших досліджень. Але не викликає сумніву наявність взаємного регулювального впливу, т.зв. “cross-talk” між НСК та клітинами імунної системи, концепція якого підтримується низкою авторів [10,15,25-28].

Еволюція уявлень щодо імунної відповіді в центральній нервовій системі (ЦНС) при трансплантації НСК/НПК. Нині відсутня єдина точка зору про характер імунної відповіді на алотрансплантацію НСК/НПК та її роль у приживленні або відторгненні алогенних клітин. Активні дослідження трансплантації клітин і тканин у мозок та ЦНС ссавців сприяли відновленню зацікавленості у питанні про імунний статус мозку та його реакцію на пересажені клітини. Достатньо довго переважала думка про те, що мозок є «забар'єрним» в імунологічному плані органом, «абсолютно імунопривілейованою зоною», яка дає змогу виживати внутрішньомозковим клітинним трансплантатам без відторгнення. Це уявлення сформувалося на основі класичних досліджень Medawar з трансплантаційної імунобіології у 40-х роках минулого століття [29].

Концепція «абсолютної імунопривілейованості» мозку ґрунтується на кількох аргументах: розпізнавання чужорідних тканин в ЦНС не викликає такої ж реакції відторгнення трансплантату, як у периферичних тканинах; у мозку наявний гематоенцефалічний бар'єр, відсутні лімфатичні судини і професійні ан-

тигенпрезентувальні клітини; понад 20 років досвіду клітинної трансплантації показують, що алогенні клітини можуть виживати у мозку протягом десятиліть без імуносупресії [30].

Згідно з іншими уявленнями, що сформувався за останні десятиліття і спростовують концепцію «абсолютної імунопривілейованості» мозку, у ЦНС може розвиватися імунна відповідь, як вроджена, так і адаптивна, яка за інтенсивністю збігається з імунною відповіддю у периферичних зонах організму [26,31-37]. Окремі автори схильні вважати ЦНС радше органом із спеціальним імунним статусом [31, 38]. В останні роки з'явилися докази на користь існування лімфатичної судинної мережі у дуральній речовині мозку [39-42], яка відводить спинномозкову рідину із субарахноїдального простору та тканинну рідину мозку у глибокі потилично-шийні лімфовузли через т.зв. «лімфатичну» систему. Такі структури мозку, як менінгіальна оболонка, судинне сплетіння строми і епітелію, ендотеліальні клітини судин, клітини периваскулярного простору, навколошлуночкові структури та астроцитарні ніжки утворюють гістологічну архітектуру, що забезпечує локацію для міжклітинних взаємодій у паренхімі мозку та імунній системі, створює своєрідний інтерфейс, через який системне запалення індукує молекулярні події у паренхімі мозку на ранніх його етапах, коли ГЕБ ще є відносно збереженим [43]. Показано, що Т-клітини в нормі «патрулюють» тканину ЦНС, проходячи через судинне сплетіння мозку, і рухаються в спинномозкову рідину; остання містить 150 000 клітин, 80 % з яких – Т-клітини пам'яті, що розпізнають власні антигени ЦНС [35]. Встановлено, що ДК знаходяться у прямому контакті зі спинномозковою рідиною і у відповідь на антигенний стимул мігрують назовні ЦНС у глибокі потилично-шийні лімфовузли, де представляють антигени ЦНС лімфоцитам [44]. У спинномозковій рідині, а також в уражених ділянках паренхіми ЦНС, знаходять Т-, В-клітини та антитіло-продукуючі клітини [45]. Вважають, що аутореактив-

ні імуноцити, специфічні до антигенів ЦНС, забезпечують «протективний аутоіmunітет», необхідний у фізіологічних умовах для підтримання і відновлення тканини мозку [46]. Патологічні стани в ЦНС виникають у випадку втрати контролю регуляції аутоіmunного нагляду: аутоіmunні захворювання – при гіперактивності аутоіmunних клітин, нейродегенерація – при недостатній їх активності.

Адепти *концепції «функціональної пластичності»* підтримують ідею нейроіmunної взаємодії, захисної та репаративної функції іmunної системи як у фізіологічних умовах, так і при різних неврологічних захворюваннях, таких як травматичне пошкодження, ішемічний та геморагічний інсульт, розсіяний склероз, інфекційний процес, нейродегенеративні хвороби (Альцгеймера, Паркінсона, бічний аміотрофічний склероз) [26,36,37,46]. У фізіологічних умовах іmunні клітини та фактори іmunної системи контролюють проліферацію ЕСК, НСК та підтримують нейрогенез протягом ембріонального розвитку [47], а також в дорослому організмі [1,26,36,37,46]; впливають на ремоделювання нейронної мережі, пластичність синапсів та вивільнення нейромедіаторів [48]. Показано, що у імунодефіцитних мишей з відсутністю зрілих Т-клітин (SCID або nude) нейрогенез у гіпокампі ослаблений, що супроводжується зниженням здатності до навчання і просторової пам'яті, але може бути частково відновлений заміщенням іmunної системи [49,50]. У досліджах на трансгенних тваринах доведено, що у мишей з переважанням Т-клітин, специфічних до овальбуміну, нейрогенез був знижений; натомість у мишей з переважанням Т-клітин, специфічних до основного білка мієліну – білка, резидентного для ЦНС, нейрогенез та когнітивні процеси були порівнювані з такими у нормальних тварин [51]. Припускають, що до механізмів впливу Т-клітин на пластичність гіпокампа долучається регуляція продукції нейронами нейротрофічного фактора BDNF та цитокінове мікросередовище [49,51,52].

Прозапальні цитокіни і хемокіни (т.зв. нейрозапалення) модулюють такі процеси в НСК СВЗ (нейрогенних стовбурових нішах), як підтримання стану спокою, адгезія, міграція, самовідновлення, диференціювання, перегрупування цитоскелету, виживання через взаємодію з клітинними мембранними рецепторами і активацію низхідних сигнальних шляхів [48,53]. Водночас локальне запалення із залученням активованої мікроглії і макрофагів та прозапальних цитокінів (IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-6) негативно впливає на нейрогенез. Вважають, що імунна та запальна відповідь із залученням цитокінів та сигнальних шляхів toll-подібних рецепторів впливають на диференціювальну здатність НСК [47]. Активовані CD8⁺-лімфоцити знижували експресію в НСК нестину і Sox2 через IFN- γ R1-рецептор-опосередкований механізм, підтверджуючи можливий регулятивний вплив Т-клітин на диференціювальний статус і функції НСК [13]. IFN- γ диференційно впливав на виживання і прогресування клітинного циклу первинних нейронів і астроцитів, а також пригнічував проліферацію НСК/НПК через дефосфорилування пухлинного супресора протейна ретинобластоми, залежного від активації сигнальних шляхів STAT1 [54]. Прозапальні цитокіни TNF- α , IL-1 β , IL-6 прискорювали диференціацію НСК у бік астроцитів, пригнічуючи нейрогенез *in vitro* та *in vivo* [55].

В умовах патології численні елементи імунної системи (Т-, В-клітини, ПК, моноцити, макрофаги, ДК, антитіла, комплемент, цитокіни) беруть участь в обмеженні пошкодження нервової системи протягом токсичних, ішемічних, геморагічних, інфекційних, дегенеративних, метаболічних та імуноопосередкованих уражень, а також сприяють у процесах відновлення [56]. Імуноцити продукують нейротрофічні ростові фактори і взаємодіють з нейронами та гліальними клітинами, захищаючи від деструкції та стимулюючи їх ріст і регенерацію. Імунна система регулює у дорослому мозку проліферацію

НПК/НСК та їх міграцію у місця ушкодження за допомогою цитокінів і хемокінів. Зокрема, до нейропоетичних цитокінів відносять IL-6, IL-18, IFN- γ , LIF, TNF- α , CNTF [1].

Однак, з концепцією «функціональної пластичності» дисонують результати дослідження Erlandsson і співавт., в якому на моделі ішемічного інсульту показано, що процеси структурно-функціонального відновлення після ураження ЦНС відбуваються за умов імуносупресії [57]. Так, в імунокомпетентних мишей без лікування утворювалась велика порожнина в корі головного мозку. Натомість у нелікованих імунодефіцитних NOD/SCID мишей утворена порожнина заповнювалась гліальними клітинами та НСК/НПК, які мігрували зі своєї ніші в СВЗ бічних шлуночків. Призначення циклоспорину А також призводило до міграції ендогенних НСК/НПК, регенерації тканини кори в місці ураження та функціонального відновлення; ці процеси, втім, відбувалися без генерації нових нейронів.

НСК можуть модифікувати імунну відповідь у центральній та периферичній нервовій системі, посилюючи нейропротекторний ефект. Вважають, що локальна прозапальна та імунна відповідь у ЦНС при трансплантації є ключовим елементом, який запускає трофічну відповідь паренхіми ЦНС і стимулює пластичні зміни у нейральних зв'язках реципієнта. Зокрема, ПК утримуються в СВЗ мозку біля НСК протягом хронічної фази розсіяного склерозу у пацієнтів та у мишей з експериментальним алергічним енцефаломієлітом (ЕАЕ) [28]. Ці НСК продукують IL-15 і підтримують функціональну компетентність ПК; останні, в свою чергу, обмежують репаративну здатність НПК впродовж запалення у мозку.

Алогенна ембріональна нервова тканина, пересаджена в ЦНС тварин та пацієнтів з нейродегенеративними захворюваннями, утворює синапси та зменшує неврологічний дефіцит [56]. Як ендогенні, так і трансплантовані НСК/НПК залучаються до взаємодії

(“cross-talk”) з імунними клітинами для запуску і регуляції репаративних механізмів [26,28,58]. Вживання трансплантованих НСК/НПК корелює із зменшенням нейрозапалення (інфільтрації мікро- та астроглії) та поляризацією мікроглії в бік протизапального фенотипу M2 [59]. Імуномодуляторні ефекти НСК/НПК опосередковуються спільними сигнальними шляхами між стовбуровими нішами та прозапальною імунною відповіддю [25,60].

Відповідно до концепції «*терапевтичної пластичності*», доля і функції НСК/НПК залежать від тканини, в яку їх трансплантують, внаслідок чого можуть реалізовуватися такі ефекти, як клітинне заміщення, нейротрофічна підтримка (нейропротекція) або імуномодуляція [26,31,58]. Клітинне заміщення відбувається внаслідок проліферації, міграції, диференціації трансплантованих клітин, їх функціональної інтеграції та реконструкції нейрональних зв'язків у тканині реципієнта, і нині доведено лише у невеликій частині проведених досліджень [31]. Нейропротективний ефект полягає в здатності трансплантованих НСК/НПК значуще посилювати виживання і функціональну активність ендогенних гліальних та нейрональних прогеніторних клітин, що пережили в результаті патологічного ушкодження ЦНС, за рахунок тропізму і міграції до місць ураження та вивільнення в мікросередовищі молекул, що запобігають загибелі і посилюють регенерацію мішеневих клітинних популяцій (NGF, BDNF, CNTF, гліальний нейротрофічний фактор (GDNF)). Імуномодуляція відбувається внаслідок впливу трансплантованих НСК/НПК через паракринні механізми на ефекторні функції компонентів імунної системи, що продемонстровано, зокрема, при ЕАЕ, ураженні спинного мозку [31].

Припускають, що взаємодія клітин імунної системи і НСК/НПК створює в пошкодженій тканині атипичну нішу, яка підтримує умови «повторення програми розвитку», необхідні для сприяння регенерації. Тран-

сплантовані НСК/НПК накопичуються в периваскулярних ділянках ЦНС, створюючи ектопічні ніші, які функціонально подібні до гермінативних ніш. Такі атипичні ніші утворюються не тільки в ЦНС, а також у вторинних лімфоїдних органах. До їх складу в межах ЦНС входять пересажені НСК/НПК, прозапальні клітини периферичної крові, астроцити і мікроглія. Продуковані цими клітинами прозапальні цитокіни, ростові фактори, регулятори стовбурових клітин (BMP, Noggin), ймовірно, беруть участь у підтриманні та тривалій терапевтичній ефективності трансплантованих НСК/НПК, доводячи паракринний (“*bystander*”) механізм їх впливу [25,26,61-63]. Також вважають, що процеси після введення клітин включають послідовні клітинні події і комплексну взаємодію між індукованою гіпоксією апоптичною загибеллю пересаджених клітин, нейтрофільною інвазією, залученням мікроглії і макрофагів, активацією астроцитів та неоангіогенезу у місці трансплантації, що зрештою призводить до виживання обмеженої кількості введених клітин [64,65]. Збереженню останніх можуть сприяти активовані мікрогліоцити/макрофаги, що наявні навколо та всередині трансплантату.

Отже, НСК/НПК володіють унікальними характеристиками, що дають їм змогу модулювати імунний захист реципієнта, але за певних обставин можуть запускати процес відторгнення [66]. Умовами активації ефекторної фази вродженої і адаптивної імунної відповіді на введення ало- і ксеногенних клітин є підвищення на НСК/НПК експресії антигенів МНС і наявність костимуляторних молекул; початковий імунний статус реципієнта, а також генерація імунної відповіді на пересажені у мозок НСК/НПК впливає на їх виживання та інтеграцію в ушкодженій нервовій тканині і може призводити до прогресивної імунозалежної втрати нейроклітин [19,20,30,67,68]. Результати експериментальних досліджень імунної відповіді на трансплантацію НСК/НПК значуще різняться.

Алотрансплантація НСК/НПК. Протягом 28-добового спостереження після введення НПК (у вигляді нейросфер) сингенним і алогенним мишам під капсулу нирки (в «імунопривілейовану зону») не виявлено відмінностей і ознак відторгнення або некрозу [69]. Експресію антигенів МНС не було зафіксовано; трансплантовані НПК переважно демонстрували ознаки диференціювання у нейрональному напрямку (експресія MAP-2, MAP-5, формування нейрональних дендритних і аксональних відростків). Натомість після введення свіжовиділених клітин неонатального мозочка миші (1-го дня народження) виявлено відторгнення через 4 тиж у 75 % випадків; при цьому пересажені клітини експресували антиген гістосумісності I класу (H-2K^b) на 14-у добу дослідження, а в подальші 2 тижні відбувалася інфільтрація і руйнування трансплантату прозапальними клітинами. Водночас у серії експериментів з відтворенням реакції гіперчутливості сповільненого типу (введення у подушечку лапи) НПК експресували антигени гістосумісності і розпізнавались Т-клітинами реципієнта [12,69]. При пересадці НПК під капсулу нирки імунізованим алоантигенами мишам (введення алогенних спленоцитів до або після НПК) відбувалася інфільтрація трансплантату CD45⁺-клітинами і елімінація НПК [69].

Культивовані НСК ембріонів (E13) мишей лінії B6 (H-2(b)), що не експресували МНС, при введенні мишам BALB/c (H-2(d)) не розпізнавались алоантиген-анти-H-2(b)-ЦТЛ, однак попередня культивування з IFN підвищувала на НСК експресію антигенів МНС і призводила до їх ефективного лізису ЦТЛ [8]. При трансплантації НПК з фетального спинного мозку (E13.5) щурів у мозок, що розвивається, та зрілий головний і спинний мозок пересажені клітини виживали протягом тривалого терміну, морфологічно дозрівали, диференціюючись у всі клітинні типи ЦНС [33]. Нейрони, утворені з введених клітин, формували синапси, інтегруючись із ЦНС реципієнта. Ознак імунної відповіді у

місцях трансплантації не виявили. За даними Akesson і співавт., НСК людини, не дивлячись на експресію МНС I та II класу, також не запускали алогенну відповідь Т-клітин, виявляючи супресивний ефект [70].

Після введення у мозок мишей алогенних НПК, індукованих з ЕСК, через 2 та 8 тиж навколо ділянки трансплантації спостерігалась акумуляція мікрогліальних/макрофагальних клітин та лімфоцитів [71]. Така реакція нівелювалася при призначенні циклоспорину А, хоча різниці між об'ємом пересаженої тканини в обох випадках не виявлено, але кількість нейронів та астроцитів у трансплантаті була вища у імуносупресованих мишей. Таким чином, рівень імунної відповіді на алогенні НПК, отримані з ЕСК, був недостатнім для відторгнення трансплантату. Активована мікроглія та лімфоцити гальмували нейрональну диференціацію пересажених НПК *in vivo* через продукцію IL-6 [71]. Preynat-Seauve і співавт. [19] підтвердили, що алогенна трансплантація НПК в ЦНС потребує імуносупресивних протоколів, спрямованих на Т-клітини та ПК, одночасно з цим потрібно оцінювати вплив супресантів на диференціацію НПК.

Встановлено, що ПК розпізнають як алогенні, так і сингенні НПК завдяки недостатності представлення на них власних МНС-антигенів [67]. Лізис НПК модулюється: пригнічується власними молекулами МНС I класу (у випадку сингенних НПК) і активується експресією ліганда для NKG2D (Rae1). Імуногістохімічні дослідження мозку мишей-реципієнтів алогенних НПК візуалізували численні NKp46⁺-клітини у місці трансплантації (з піком інфільтрації на 7-му добу), а також у навколишньому судинному сплетінні. Відсутність компонентів NKG2D-сигналіну у ПК (NKG2D-дефіцитні миші) значуще посилює виживання введених НПК і диференціацію у нейрональному напрямку. Ці дані свідчать про значну роль у приживленні та диференціації пересажених клітин природного імунітету, а саме ПК.

Імунний статус реципієнта впливає на виживання трансплантата НПК. Порівняльне дослідження із застосуванням біолюмінесцентної візуалізації показало, що клітини при введенні у правий базальний ганглії виявлялися протягом 14 діб і проліферували краще у Т-дефіцитних мишей (nude), ніж у імунокомпетентних мишей ліній C57B1/6 або CD-1, у яких була прогресивна імунозалежна втрата клітин [72]. Внаслідок імуногістохімічних досліджень виявлено, що при пересадці НСК лінії c17.2 в мозок щурів із змодельованим паркінсонізмом розвивалася внутрішньомозкова клітинна (ED1 та CD8) і гуморальна (C3 та IgM) імунна відповідь, ступінь якої значно зменшувався при введенні НСК, трансфікованих геном IL-10 [73]. Після трансплантації фетальних нейротканин у осіб з хворобою Хантінгтона у 4 з 13 пацієнтів діагностовано ознаки алоїмунізації без відторгнення донорського матеріалу; у 5 з 13 – біологічні, радіологічні та клінічні ознаки процесу відторгнення, в тому числі анти-HLA-антитіла [34]. Процес відторгнення був зворотним при застосуванні імуносупресивної терапії – активність трансплантату відновлювалася через 6 міс.

За допомогою магнітно-резонансної візуалізації показано, що при внутрішньовенному введенні мишам з ЕАЕ НПК не потрапляли в ЦНС, а транзитивно виявлялися у лімфовузлах та селезінці, де вони пригнічували активацію та проліферацію Т-клітин і значно знижували їх енцефалітогенність [74]. Внутрішньовенне введення НПК пригнічувало розвиток ЕАЕ за допомогою периферичної імуносупресії із залученням «bystander»-інгібіторних ефектів НПК на активацію і проліферацію Т-клітин у лімфовузлах, а також модуляції запалення в ЦНС. Внутрішньошлуночкова трансплантація алогенних НПК послаблювала ознаки запалення мозку протягом ранньої стадії рецидиву ЕАЕ, але не у віддалений термін; введені НПК викликали істотну імунну реакцію у вигляді інфільтрації Т-клітин і мікроглії та відторгнення

[23]. Водночас алоспецифічні CD4⁺- і CD8⁺-лімфоцити від мишей з моделлю розсіяного склерозу (індукція вірусом гепатиту JHM) та наступною трансплантацією алогенних НПК при співкультивуванні індукували на НПК антигени МНС I і II за рахунок продукції IFN- γ та інших прозапальних цитокінів [12]. У мишей з моделлю розсіяного склерозу та сингенним трансплантатом НПК введені клітини детектувались протягом 3 тиж; відбувалася міграція НПК у спинний мозок, колонізація білої речовини в місцях уражень та проліферація НПК; інфільтрат імунних клітин не виявлено. Натомість у мишей з алогенним трансплантатом введені НПК відторгалися: вони детектувались через 8 діб, але вже не виявлялися через 3 тиж; на 8-му добу в трансплантаті визначалась інфільтрація CD4⁺ та CD8⁺ Т-клітин, зростала експресія хемокінів CXCL-9,-10 та IFN- γ у спинному мозку. Введення цим мишам моноклональних антитіл проти CD4⁺- та CD8⁺-лімфоцитів призводило до зростання кількості алогенних НПК, що вижили, і диференціювання їх у олігодендроцити, більш виразне при делеції CD4⁺лімфоцитів [12].

Після трансплантації НСК в мозок щурів з внутрішньомозковим крововиливом відбувалося значуще зменшення кількості ефекторних $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитів з одночасним збільшенням регуляторних FoxP3⁺ Т-лімфоцитів як у мозку, так і у периферичній крові вже на 3-тю добу, зниження рівнів прозапальних цитокінів IL-6, IFN- γ , а також зростання TGF- β , IL-10, IL-4 [75]. Виявлені особливості вказують на імуномодуляторні властивості НСК.

Після алогенної трансплантації фетальних клітин неокортексу ранньої і пізньої стадій розвитку в неокортекс і стріатум інтактних дорослих мишей показано, що пересаджені нейрони формували відростки та великі мережі у стріатумі та шарах неокортексу I і V-VI [76]. Відростки цих клітин різних стадій розвитку сягали ростральних ділянок фронтальної кори, а деякі з них – внутріш-

ньої капсули. Однак НПК, введені у вигляді суспензії, мали нижчі потенції до росту відростків, ніж клітини із тканинних фрагментів. Крім того, виявлялися волокна, які проникали з мозку реципієнтів у трансплантати клітин як ранньої, так і пізньої стадій розвитку [77]. Після аlogenної пересадки НПК в ділянку мозку біля гіпокампа введені клітини диференціювались у зрілі нейрони і детектувались впродовж 14 тиж [76]. Вони виявлялися у місці трансплантації протягом 2-4 тиж; через 4 тиж деякі з них мігрували до мозолистого тіла та мали морфологічні ознаки дозрівання. Частина введених клітин сягали шлуночка, формували сфери, які прикріплювалися до епендимальних клітин, а їх дендрити вросли у тканину реципієнтів. Через 8 тиж після трансплантації НПК диференціювались та інтегрувались у мозок реципієнтів, і до 14-го тижня набували зрілий фенотип. Схожі результати отримано також при відтворенні таких же умов у мишей зі змодельованим мозковим інсультом, пересажені НПК мігрували до ішемізованих ділянок ураження та диференціювались у розгалужені нейрони, повністю інкорпоровані в тканину реципієнтів [76].

Таким чином, результати досліджень у модельних системах *in vitro* та *in vivo* щодо аlogenної імунної відповіді на НСК/НПК неоднозначні та контрверсійні: від висновків про відсутність значущої імунної відповіді до протилежної думки про її наявність та необхідність застосування системної імуносупресії [14,18,21,23,69,78,79].

Ксенотрансплантація НСК/НПК. У разі ксенотрансплантації розрізняють конкордантну (трансплантація між філогенетично відносно близькими видами) і дискордантну (трансплантація між філогенетично дистантними видами). Вважають, що при конкордантній ксенотрансплантації в мозок домінують клітинні імунні реакції проти ксеногенних МНС/пептидів, ключовими медіаторами відторгнення є Т-лімфоцити ($CD4^+$, $CD8^+$) та мікрогліальні клітини [32]. При дискордантній ксенотрансплантації до

імунного відторгнення долучаються компоненти вродженого імунітету (ПК, природні кілерні Т-клітини, імуноглобуліни, система комплементу, елементи коагуляційної системи) [31,32]. Внутрішньомозкові ксенотрансплантати НСК/НПК викликають імунну відповідь реципієнта із швидким відторгненням внаслідок інвазії мікроглії/макрофагів, Т-лімфоцитів, ДК протягом 5-7 тиж [21,38]; строк переживання введених клітин можна значно подовжити при призначенні імуносупресора циклоспорина А.

Так, імунні реакції визначалися у щурів після ксенотрансплантації ембріональної нервової тканини людини [80]. ЕСК людини після трансплантації імунокомпетентним мишам повністю елімінувалися через 1 міс [7]. Натомість при трансплантації ЕСК людини імунодефіцитним мишам розвивалися тератоми. Зокрема, у мишей *nude*, у яких відсутні Т-клітини, але наявні В-клітини та ПК, відбувався ріст тератоми без ознак відторгнення. У мишей *Lyst^{hg}* (дефіцитні за ПК) і *Vtk^{xid}* (дефіцитні за В-клітинами) відбувалося виразне відторгнення і тератома не розвивалася. Таким чином, відторгнення ксеногенних ЕСК опосередковувалося Т-клітинами, а ПК і В-клітини не відігравали значної ролі у цьому процесі [7]. НСК людини також розпізнавалися і викликали імунну відповідь периферичних лімфоцитів при ксенотрансплантації мишам у подушечки лап [81].

Клітини нейронального фенотипу, отримані з пуповинної крові людини і пересажені у смугасте тіло головного мозку імунодефіцитних NOD SCID мишей, через 5 діб залишалися живими (доведено імуногістохімічними дослідженнями мітохондрій), експресували нейрональні маркери (*Nestin*, *TuJ1*) і мали нейрональну морфологію [82]. Однак, через 1 міс клітин, що вижили, не знайдено. Їх загибель не була спричинена Т-клітинною імунною відповіддю (у ділянках трансплантації не виявлено $CD4^+$ - та $CD8^+$ -лімфоцитів, зміни мікроглії та астроцитів мінімальні).

Прозапальна відповідь у реципієнтів погіршувала виживання та інтеграцію ЕСК мишей, імплантованих у кортекс шурів Sprague-Dawley з моделлю травми ЦНС: через 5 діб у місці введення кластери ЕСК частково диференціювалися за нейрональним фенотипом, тоді як через 7 тиж лише окремі клітини виявлялися, а значна їх частина втрачалася внаслідок фагоцитозу активованими макрофагами [83]. Травма мозку, індукована за 3 доби до імплантації, активувала прозапальний потенціал мозку: наступне введення клітин супроводжувалося реактивним астрогліозом, активацією мікроглії, масивною інвазією макрофагів у ділянки трансплантації, навіть якщо пересажені клітини були в контралатеральних гемісферах, віддалених від травматичного ураження.

Імуногенність суспензій НПК із примордіального шару ембріонального мозку свині при внутрішньомозковому введенні імунокомпетентним шурам знижувалася, якщо для розмноження прекурсорів в культурі використовували мітогени НСК (EGF, FGF-2) [84]. Якщо первинні (не культивовані в присутності мітогенів) НПК повністю елімінувалися до 35-ї доби, то НПК, отримані в культурі з ростовими факторами, зберігалися до 35-ї доби, а в двох випадках – навіть до 60-ї доби. Деякі трансплантати викликали мінімальну імунну відповідь реципієнта, тоді як більшість з них зазнавала процесів відторгнення із залученням ЦТЛ, мікроглії/макрофагів, імуноглобуліну М та комплемента. Популяції прекурсорів і первинні тканинні суспензії відрізнялися за профілем імунної відповіді, яку вони викликали. Коли імунокомпетентним шурам вводили внутрішньоочеревинно первинні клітинні суспензії, генерувалася сильна гуморальна відповідь, а також виявлялися значні рівні експресії МНС II у цих клітинах; якщо ж вводили культивовані НПК – такої відповіді не реєстрували [84].

У дослідженні з трансплантацією НСК мишей шурам з оклюзією середньої мозкової артерії проліферативний тест лімфоцитів

шийних лімфовузлів, а також гістологічна оцінка імунної відповіді не виявили різниці між тваринами, яким вводили або не вводили циклоспорин [78]. Відзначено лише місцеве підвищення експресії імунних маркерів (МНСI, МНСII, CD45, CD11b) навколо місця ін'єкції.

Як один із експериментальних підходів для досягнення довготривалого захисту НПК людини при трансплантації в дорослий мозок гризунів за відсутності імуносупресії досліджується неонатальна десентизація [85]. Для цього гризунам у перші дні після народження, коли імунна система ще недостатньо розвинена, внутрішньоочеревинно вводять НПК людини, а через кілька місяців виконують внутрішньомозкову трансплантацію таких же клітин. Однак на кількох лініях мишей показано, що на відміну від новонароджених шурів, у новонароджених та дорослих мишей ксенотрансплантація у смугасте тіло головного мозку індукованих плюрипотентних стовбурових клітин, ЕСК чи фетальних НПК людини призводить до відторгнення пересаджених клітин протягом 4 тиж; а попередня неонатальна сенситизація не зменшує його прояви, тоді як імуносупресія циклоспорином сприяє виживанню клітин упродовж щонайменше 6 тиж, нормальній їх диференціації та дозріванню. Водночас відтворення моделі у імунодефіцитних (NOD SCID) мишей продемонструвало виживання і проліферацію *in vivo* ксенотрансплантованих клітин щонайменше протягом 62 діб. Ці дані свідчать на користь обов'язкової наявності умов недостатності імунної системи (імунодефіциту або імуносупресії) для успішного приживлення трансплантованих НСК/НПК.

ВИСНОВКИ

Підсумовуючи вищенаведені дані, можна акцентувати увагу на кількох аспектах. По-перше, імунопривілейованість ЦНС не є абсолютною. Розвиток імунної відповіді в межах мозку є можливим на тому ж рівні, як

і в периферичних зонах організму. По-друге, НСК та НПК здатні експресувати достатньо широкий спектр імуноактивних молекул, включно з антигенами гістосумісності, що може визначати їх імуномодулювальну дію на клітини імунної системи при контактній взаємодії, а також активувати природну і адаптивну імунну резистентність та індукувати ефекторну фазу імунної відповіді або її блокаду при нейротрансплантації. При цьому відторгнення пересаджених клітин відбувається з генерацією алоспецифічних ЦТЛ та цитотоксичних антитіл. По-третє, пригнічення імунних реакцій при нейротрансплантації, у тому числі реакцій відторгнення, може відбуватися внаслідок неможливості їх розпізнавання різними популяціями Т-лімфоцитів через відсутність або слабку експресію на поверхні НСК/НПК молекул МНС I та II класів; апоптозу чи клональної анергії Т-лімфоцитів при безпосередній взаємодії з НСК/НПК через відсутність коstimулюючого сигналу від коstimуляторних молекул (НСК/НПК-індукованої імунологічної толерантності); секреції НСК/НПК масиву імуномодуляторних цитокінів, хемокінів, ростових факторів. Всі ці механізми нині є не до кінця визначеними та широко дискутуються. Вірогідно, реалізація імунних властивостей НСК/НПК зумовлена багатьма факторами, опосередкованими клітинно-клітинною взаємодією та секрецією розчинних медіаторних молекул.

Наявні дані щодо експресії антигенів МНС, імунорегуляторних ефектів НСК/НПК та імунної відповіді на трансплантацію цих клітин є фрагментарними і суперечливими. Результати досліджень у модельних системах *in vitro* та *in vivo* щодо алоспецифічних імунних реакцій на НСК/НПК неоднозначні та контрверсійні: від висновків про відсутність значущої імунної відповіді до протилежної думки про її наявність та необхідність застосування системної імуносупресії. На нашу думку, можливою здатністю алогенних НСК/НПК викликати імунну активацію у віддаленому періоді після трансплантації не можна

нехтувати; це питання потребує подальших поглиблених досліджень. Вивчення імунобіологічних властивостей нейрогенних клітин фетального мозку – антигенних, імуногенних, імуномодулювальних, сприятиме розкриттю механізмів дії НСК/НПК та надасть змогу оцінити доцільність їх практичного використання для клітинної терапії уражень ЦНС.

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.

II. ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ НА НЕЙРОГЕННЫЕ СТЕВЛОВЫЕ КЛЕТКИ *IN VITRO* И *IN VIVO*

В обзоре представлен анализ современного состояния разработки проблемы иммунобиологических свойств нейрогенных стволовых и прогениторных клеток (НСК/НПК) головного мозга. В разделе II приведены данные об иммунных реакциях *in vitro* при совместном культивировании НСК/НПК и клеток иммунной системы, а также особенностей их развития *in vivo* после трансплантации НСК/НПК. Рассмотрена трансформация представлений об иммунном ответе в ЦНС при введении НСК/НПК: от концепции «абсолютной иммунопривилегированности» мозга до концепции «функциональной» или «терапевтической пластичности», учитывающей различные аспекты и механизмы взаимодействия клеток иммунной системы и НСК/НПК. Обобщены данные об иммунном ответе при трансплантации алло- и ксеногенных НСК/НПК и его зависимости от иммунного статуса реципиентов. Подчеркнута актуальность исследований иммунобиологических свойств нейрогенных клеток фетального мозга, способствующих раскрытию механизмов действия НСК/НПК и оценке возможности их практического применения для клеточной терапии пораженных ЦНС.

Ключевые слова: нейрогенные стволовые клетки; нейрогенные прогениторные клетки; аллотрансплантация; ксено-трансплантация; иммунный ответ; иммуномодуляция.

L.D. Liubich, M.I. Lisyany

IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES OF NEUROGENIC CELLS OF THE FETAL BRAIN.

II. IMMUNE RESPONSES TO NEUROGENIC STEM CELLS *IN VITRO* AND *IN VIVO*

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. In section II the data on immune responses *in vitro* in co-cultivation of NSC/NPC and immune system cells, as well as features of the development of immune responses *in vivo* after NSC/NPC transplantation are given. The transformation of the notions of the immune response in CNS during NSC/NPC transplantation is considered: from the concept of “absolute immuno-privilege” of the brain to the concept of “functional” or “therapeutic plasticity”, which takes into account various aspects and mechanisms of interaction of cells of the immune system and NSC/NPC. The data on the immune response upon the transplantation of allo- and xenogeneic NSC/NPC and its dependence on the immune status of recipients are summarized. The relevance of studies of the immunobiological properties of neurogenic cells of the fetal brain that facilitate the discovery of mechanisms of action of NSC/NPC and an assessment of the possibility of their practical application for cell therapy of CNS lesions is emphasized.

Key words: neurogenic stem cells, neurogenic progenitor cells, allotransplantation, xenotransplantation, immune response, immunomodulation.

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

REFERENCES

1. 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.
2. 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):2681-8. doi: 10.4049/jimmunol.1601546.
3. de Miranda AS, Zhang CJ, Katsumoto A, Teixeira AL. Hippocampal adult neurogenesis: Does the immune system matter? *J Neurol Sci*. 2017 Jan 15;372:482-95. doi: 10.1016/j.jns.2016.10.052.
4. 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)*. 2017 Jan 5;4(1):e1256856 [4 p.]. doi: 10.1080/23262133.2016.1256856.

5. Lisyany NI, Rudenko VA, Gnedkova IA, Markova OV, Liubich LD, Belskaya LN, Semenova VM, Oleynik GM, Tsybalyuk VI, Gorobets OB, Zavalishin IA, Lisyana TA, Nosov AT, Oleksenko NV, Skurtul MI, Vasilieva IG, Stayno LP, Verhogyadov Yu.P., Grishok SA. Immune system of the brain. Lisyany NI, editor. Kyiv: VIPOL; 1999.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Wang L, Shi J, van Ginkel FW, Lan L, Niemeyer G, Martin DR, Snyder EY, Cox NR. Neural stem/progenitor cells modulate immune responses by suppressing T lymphocytes with nitric oxide and prostaglandin E2. *Exp Neurol*. 2009 Mar;216(1):177-83. doi: 10.1016/j.expneurol.2008.11.017.
10. Drago D, Basso V, Gaude E, Volpe G, Peruzzotti-Jametti L, Bachi A, Musco G, Andolfo A, Frezza C, Mondino A, Pluchino S. Metabolic determinants of the immune modulatory function of neural stem cells. *J Neuroinflammation*. 2016 Sep 2 [cited 2017 Sep 8];13(1):232 [18 p.]. doi: 10.1186/s12974-016-0667-7.
11. 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 USA*. 2004 Dec 28;101(52):18117-22. DOI: 10.1073/pnas.0408258102.
12. 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.
13. Hu S, Rotschafer JH, Lokensgard JR, Cheeran MC. Activated CD8+ T lymphocytes inhibit neural stem/progenitor cell proliferation: role of interferon-gamma. *PLoS One*. 2014 Aug 18 [cited 2017 Sep 11];9(8):e105219 [11 p.]. doi: 10.1371/journal.pone.0105219.
14. 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.

15. 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*. 2015 Feb 6;10(2):e0117432 [15 p.]. doi: 10.1371/journal.pone.0117432.
16. 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*. 2013 May 21 [cited 2017 Sep 11];4(3):56 [10 p.]. doi: 10.1186/scrt206.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. de Rham C, Villard J. Interaction of ES cell derived neural progenitor cells with natural killer cells and cytotoxic T cells. *Methods Mol Biol* 2013;1029:65-75. doi: 10.1007/978-1-62703-478-4_5.
21. 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 γ -independent fashion and during development. 2016 Apr 15; 6:24251 [14 p.]. doi: 10.1038/srep24251.
22. Liu J, Hjorth E, Zhu M, Calzarossa C, Samuelsson EB, Schultzberg M, Åkesson E. Interplay between human microglia and neural stem/progenitor cells in an allogeneic co-culture model/ *J Cell Mol Med*. 2013 Nov;17(11):1434-43. doi: 10.1111/jcmm.12123.
23. Fainstein N, Einstein O, Cohen ME, Brill L, Lavon I, Ben-Hur T. Time limited immunomodulatory functions of transplanted neural precursor cells. *Glia*. 2013 Feb;61(2):140-9. doi: 10.1002/glia.22420.
24. 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.
25. Ottoboni L, De Feo D, Merlini A, Martino G. Commonalities in immune modulation between mesenchymal stem cells (MSCs) and neural stem/precursor cells (NPCs). *Immunol Lett*. 2015 Dec;168(2):228-39. doi: 10.1016/j.imlet.2015.05.005.
26. 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.
27. Knight J, Hackett C, Breton J, Mao-Draayer Y. Cross-talk between CD4+ T-cells and neural stem/progenitor cells. *J Neurol Sci*. 2011 Jul 15;306(1-2):121-8. doi: 10.1016/j.jns.2011.03.030.
28. Liu Q, Sanai N, Jin WN, La Cava A, Van Kaer L, Shi FD. Neural stem cells sustain natural killer cells that dictate recovery from brain inflammation. *Nat Neurosci*. 2016 Feb;19(2):243-52. doi: 10.1038/nn.4211.
29. Medawar PB. Immunity to homologous grafted skin; the fate of skin homografts transplanted to the brain, to subcutaneous tissue, and to the anterior chamber of the eye. *Br J Exp Pathol*. 1948 Feb;29(1):58-69. PMID:18865105.
30. Chen Z, Phillips LK, Gould E, Campisi J, Lee SW, Ormerod BK, Zwierchonyewska M, Martinez OM, Palmer TD. MHC Mismatch Inhibits Neurogenesis and Neuron Maturation in Stem Cell Allografts. *PLoS One*. 2011 Mar 30. doi: 10.1371/journal.pone.0014787.
31. Bonnemain V, Neveu I, Naveilhan P. Neural stem/progenitor cells as promising candidates for regenerative therapy of the central nervous system. *Front Cell Neurosci*. 2012 Apr; 6: 17 [8 pages]. doi:10.3389/fncel.2012.00017.
32. 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.
33. Lepore AC, Neuhuber B, Connors TM, Han SS, Liu Y, Daniels MP, Rao MS, Fischer I. Long-term fate of neural precursor cells following transplantation into developing and adult CNS. *Neuroscience*. 2006 Sep 29;142(1):287-304. PMID: 17120358.
34. Krystkowiak P, Gaura V, Labalette M, Rialland A, Remy P, Peschanski M, Bachoud-Lévi AC. Alloimmunisation to donor antigens and immune rejection following foetal neural grafts to the brain in patients with Huntington's disease. *PLoS One*. 2007 Jan 24;2(1):e166 [4 p.]. doi: 10.1371/journal.pone.0000166.
35. Engelhardt B. The blood-central nervous system barriers actively control immune cell entry into the central nervous system. *Curr Pharm Des*. 2008;14(16):1555-65. PMID:18673197.
36. D'Mello C, Le T, Swain MG. Cerebral microglia recruit monocytes into the brain in response to tumor necrosis factor alpha signaling during peripheral organ inflammation. *J Neurosci*. 2009 Feb 18;29(7):2089-102. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3567-08.2009.
37. Graber JJ, Dhib-Jalbut S. Protective autoimmunity in the nervous system. *Pharmacol Ther*. 2009 Feb;121(2):147-59. doi: 10.1016/j.pharmthera.2008.10.001.
38. Michel-Monigadon D, Brachet P, Neveu I, Naveilhan P. Immunoregulatory properties of neural stem cells. *Immunotherapy*. 2011 Apr;3(4 Suppl):39-41. doi: 10.2217/imt.11.49.
39. Aspelund A, Antila S, Proulx ST, Karlsen TV, Karaman S, Detmar M, Wiig H, Alitalo K. A dural lymphatic

- vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J Exp Med.* 2015 Jun 29;212(7):991-9. doi: 10.1084/jem.20142290.
40. Bucchieri F, Farina F, Zummo G, Cappello F. Lymphatic vessels of the dura mater: a new discovery? *J Anat.* 2015 Nov;227(5):702-3. doi: 10.1111/joa.12381.
 41. Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, Peske JD, Derecki NC, Castle D, Mandell JW, Lee KS, Harris TH, Kipnis J. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature.* 2015 Jul 16;523(7560):337-41. doi: 10.1038/nature14432.
 42. Tarasoff-Conway JM, Carare RO, Osorio RS, Glodzik L, Butler T, Fieremans E, Axel L, Rusinek H, Nicholson C, Zlokovic BV, Frangione B, Blennow K, Ménard J, Zetterberg H, Wisniewski T, de Leon MJ. Clearance systems in the brain-implications for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2015 Aug;11(8):457-70. doi: 10.1038/nrneurol.2015.119.
 43. Shimada A, Hasegawa-Ishii S. Histological Architecture Underlying Brain-Immune Cell-Cell Interactions and the Cerebral Response to Systemic Inflammation. *Front Immunol.* 2017 Jan 19;8:17 [12 p.]. doi: 10.3389/fimmu.2017.00017.
 44. Bartholomaeus I, Kawakami N, Odoardi F, Schlager C, Miljkovic D, Ellwart JW, Klinkert WE, Flugel-Koch C, Issekutz TB, Wekerle H, Flugel A. Effector T cell interactions with meningeal vascular structures in nascent autoimmune CNS lesions. *Nature.* 2009 Nov 5;462(7269):94-8. doi: 10.1038/nature08478.
 45. Pedemonte E, Mancardi G, Giunti D, Corcione A, Benvenuto F, Pistoia V, Uccelli A. Mechanisms of the adaptive immune response inside the central nervous system during inflammatory and autoimmune diseases. *Pharmacol Ther.* 2006 Sep;111(3):555-66. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2005.11.007.
 46. Schwartz M, Shechter R. Protective autoimmunity functions by intracranial immunosurveillance to support the mind: The missing link between health and disease. *Mol Psychiatry.* 2010 Apr;15(4):342-54. doi: 10.1038/mp.2010.31.
 47. 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.
 48. Gutierrez-Fernandez F, Pinto-Gonzalez M, Gonzalez-Perez O. Neuro-immune interactions in the postnatal ventricular-subventricular zone. *J Stem Cells.* 2014;9(1):53-64. doi: jsc.2014.9.1.53.
 49. Ziv Y, Ron N, Butovsky O, Landa G, Sudai E, Greenberg N, Cohen H, Kipnis J, Schwartz M. Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood. *Nat Neurosci.* 2006 Feb;9(2):268-75. DOI: 10.1038/nn1629.
 50. Wolf SA, Steiner B, Akpınarlı A, Kammertoens T, Nassenstein C, Braun A, Blankenstein T, Kempermann G. CD4-positive T lymphocytes provide a neuroimmunological link in the control of adult hippocampal neurogenesis. *J Immunol.* 2009 Apr 1;182(7):3979-84. doi: 10.4049/jimmunol.0801218.
 51. Ziv Y, Avidan H, Pluchino S, Martino G, Schwartz M. Synergy between immune cells and adult neural stem/progenitor cells promotes functional recovery from spinal cord injury. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006 Aug 29;103(35):13174-9. DOI: 10.1073/pnas.0603747103.
 52. Dereck NC, Cardani AN, Yang CH, Quinnes KM, Carihfield A, Lynch KR, Kipnis J. Regulation of learning and memory by meningeal immunity: a key role for IL-4. *J Exp Med.* 2010 May 10;207(5):1067-80. doi: 10.1084/jem.20091419.
 53. Dooley D, Vidal P, Hendrix S. Immunopharmacological intervention for successful neural stem cell therapy: New perspectives in CNS neurogenesis and repair. *Pharmacol Ther.* 2014 Jan;141(1):21-31. doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.08.001.
 54. Kulkarni A, Scully TJ, O'Donnell LA. The antiviral cytokine interferon-gamma restricts neural stem/progenitor cell proliferation through activation of STAT1 and modulation of retinoblastoma protein phosphorylation. *J Neurosci Res.* 2017 Aug;95(8):1582-601. doi: 10.1002/jnr.23987.
 55. Vay SU, Blaschke S, Klein R, Fink GR, Schroeter M, Rueger MA. Minocycline mitigates the gliogenic effects of proinflammatory cytokines on neural stem cells. *J Neurosci Res.* 2016 Feb;94(2):149-60. doi: 10.1002/jnr.23686.
 56. Bresjanac M. Neurotransplantation-induced plasticity in the recipient CNS: focusing on the recipient response. *Pflugers Arch.* 2000 Jan;440(Suppl 1):R163-R165. doi: 10.1007/s004240000048.
 57. Erlandsson A, Lin CH, Yu F, Morshead CM. Immunosuppression promotes endogenous neural stem and progenitor cell migration and tissue regeneration after ischemic injury. *Exp Neurol.* 2011 Jul;230(1):48-57. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.05.018.
 58. Kokaia Z, Martino G, Schwartz M, Lindvall O. Crosstalk between neural stem cells and immune cells: the key to better brain repair? *Nat Neurosci.* 2012 Jul 26;15(8):1078-87. doi: 10.1038/nn.3163.
 59. Marteyn A, Sarrazin N, Yan J, Bachelin C, Deboux C, Santin MD, Gressens P, Zujovic V, Baron-Van Evercooren A. Modulation of the Innate Immune Response by Human Neural Precursors Prevails over Oligodendrocyte Progenitor Remyelination to Rescue a Severe Model of Pelizaeus-Merzbacher Disease. *Stem Cells.* 2016 Apr;34(4):984-96. doi: 10.1002/stem.2263.
 60. Kizil C, Kyritsis N, Brand M. Effects of inflammation on stem cells: together they strive? *EMBO Rep.* 2015 Apr;16(4):416-26. doi: 10.15252/embr.201439702.
 61. Gincberg G, Arien-Zakay H, Lazarovici P, Lelkes PI. Neural stem cells: therapeutic potential for neurodegenerative diseases. *Br Med Bull.* 2012 Dec;104(1): 7-19. doi.org/10.1093/bmb/lds024
 62. 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.
 63. Reekmans K, Praet J, Daans J, Reumers V, Pauwels P, Van der Linden A, Berneman ZN, Ponsaerts P. Current

- challenges for the advancement of neural stem cell biology and transplantation research. *Stem Cell Rev.* 2012 Mar;8(1):262-78. doi: 10.1007/s12015-011-9266-2.
64. Praet J, Santermans E, Daans J, Le Blon D, Hoornaert C, Goossens H, Hens N, Van der Linden A, Berneman Z, Ponsaerts P. Early Inflammatory Responses Following Cell Grafting in the CNS Trigger Activation of the Subventricular Zone: A Proposed Model of Sequential Cellular Events. *Cell Transplant.* 2015; 24(8):1481-92. doi: 10.3727/096368914X682800.
 65. Le Blon D, Hoornaert C, Detrez JR, Bevers S, Daans J, Goossens H, De Vos WH, Berneman Z, Ponsaerts P. Immune remodelling of stromal cell grafts in the central nervous system: therapeutic inflammation or (harmless) side-effect? *J Tissue Eng Regen Med.* 2016 Jun 20; [7 p.]. doi: 10.1002/term.2188.
 66. Capetian P, Döbrössy M, Winkler C, Prinz M, Nikkhah G. To be or not to be accepted: the role of immunogenicity of neural stem cells following transplantation into the brain in animal and human studies. *Semin Immunopathol.* 2011 Nov;33(6):619-26. doi: 10.1007/s00281-011-0272-x.
 67. 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.
 68. Chen Z, Palmer TD. Cellular repair of CNS disorders: an immunological perspective. *Hum Mol Genet.* 2008 Apr 15;17(R1):R84-92. doi: 10.1093/hmg/ddn104.
 69. 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.
 70. Akesson E, Wolmer-Solberg N, Cederarv M, Falci S, Odeberg J. Human neural stem cells and astrocytes, but not neurons, suppress an allogeneic lymphocyte response. *Stem Cell Res.* 2009 Jan;2(1):56-67. doi: 10.1016/j.scr.2008.06.002.
 71. Ideguchi M, Shinoyama M, Gomi M, Hayashi H, Hashimoto N, Takahashi J. Immune or inflammatory response by the host brain suppresses neuronal differentiation of transplanted ES cell-derived neural precursor cells. *J Neurosci Res.* 2008 Jul;86(9):1936-43. doi: 10.1002/jnr.21652.
 72. Kim DE, Tsuji K, Kim YR, Mueller FJ, Eom HS, Snyder EY, Lo EH, Weissleder R, Schellingerhout D. Neural stem cell transplant survival in brains of mice: assessing the effect of immunity and ischemia by using real-time bioluminescent imaging. *Radiology.* 2006 Dec;241(3):822-30. doi:10.1148/radiol.2413050466.
 73. Wang XJ, Liu WG, Zhang YH, Lu GQ, Chen SD. Effect of transplantation of c17.2 cells transfected with interleukin-10 gene on intracerebral immune response in rat model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2007 Aug 16;423(2):95-9. doi:10.1016/j.neulet.2007.06.029.
 74. Ben-Hur T. Immunomodulation by neural stem cells. *J Neurol Sci.* 2008 Feb 15;265(1-2):102-4. doi:10.1016/j.jns.2007.05.007.
 75. Gao L, Lu Q, Huang LJ, Ruan LH, Yang JJ, Huang WL, ZhuGe WS, Zhang YL, Fu B, Jin KL, ZhuGe QC. Transplanted neural stem cells modulate regulatory T, $\gamma\delta$ T cells and corresponding cytokines after intracerebral hemorrhage in rats. *Int J Mol Sci.* 2014 Mar 13;15(3):4431-41. doi: 10.3390/ijms15034431.
 76. Alić I, Kosi N, Kapuralin K, Gorup D, Gajović S, Pochet R, Mitrečić D. Neural stem cells from mouse strain Thy1 YFP-16 are a valuable tool to monitor and evaluate neuronal differentiation and morphology. *Neurosci Lett.* 2016 Nov 10;634:32-41. doi: 10.1016/j.neulet.2016.10.001.
 77. Sukhinich KK, Kosykh AV, Aleksandrova MA. Differentiation and Cell-Cell Interactions of Neural Progenitor Cells Transplanted into Intact Adult Brain. *Bull Exp Biol Med.* 2015 Nov;160(1):115-22. doi: 10.1007/s10517-015-3111-6.
 78. 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.
 79. 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.
 80. Borlongan CV, Stahl CE, Cameron DF, Saporta S, Freeman TB, Cahill DW, Sanberg PR. CNS immunological modulation of neural graft rejection and survival. *Neurol Res.* 1996 Aug;18(4):297-304. PMID:8875445
 81. Ubiali F, Nava S, Nessi V, Frigerio S, Parati E, Bernasconi P, Mantegazza R, Baggi F. Alloreognition 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.
 82. Walczak P, Chen N, Eve D, Hudson J, Zigova T, Sanchez-Ramos J, Sanberg PR, Sanberg CD, Willing AE. Long-term cultured human umbilical cord neural-like cells transplanted into the striatum of NOD SCID mice. *Brain Res Bull.* 2007 Sep 14;74(1-3):155-63. doi: 10.1016/j.brainresbull.2007.06.015.
 83. Molcanyi M, Riess P, Bentz K, Maegele M, Hescheler J, Schäfke B, Trapp T, Neugebauer E, Klug N, Schäfer U. Trauma-associated inflammatory response impairs embryonic stem cell survival and integration after implantation into injured rat brain. *J Neurotrauma.* 2007 Apr;24(4):625-37. doi: 10.1089/neu.2006.0180.
 84. Armstrong RJ, Harrower TP, Hurelbrink CB, McLaughlin M, Ratcliffe EL, Tyers P, Richards A, Dunnett SB, Rosser AE, Barker RA. Porcine neural xenografts in the immunocompetent rat: immune response following grafting of expanded neural precursor cells. *Neuroscience.* 2001;106(1):201-16. PMID:11564430.
 85. Mattis VB, Wakeman DR, Tom C, Dodiya HB, Yeung SY, Tran AH, Bernau K, Ornelas L, Sahabian A, Reidling J, Sareen D, Thompson LM, Kordower JH, Svendsen CN. Neonatal immune-tolerance in mice does not prevent xenograft rejection. *Exp Neurol.* 2014 Apr;254:90-8. doi: 10.1016/j.expneurol.2014.01.007.

Матеріал надійшов до редакції 20.04.2017