DOI: 10.23868/201811033

КЛЮЧЕВЫЕ ЭТАПЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ИПСК В НЕЙРОНАЛЬНЫЕ И ГЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

Д.И. Салихова[1, 3], И.А. Федюнина[1], Т.Б. Бухарова[1], Д.В. Гольдштейн[1], С.Л. Киселев[1, 2]

[1] *Медико-генетический научный центр, Москва, Россия*
[2] *Институт общей генетики им. В.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*
[3] *Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия*

THE KEY STAGES OF IPSCS DIFFERENTIATION INTO NEURONAL AND GLIAL CELLS

D.I. Salikhova[1, 3], I.A. Fedyunina[1], T.B. Bukharova[1], D.V. Goldshtein[1], S.L. Kiselev[1, 2]

[1] *Research Center for Medical Genetics, Moscow, Russia*
[2] *Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*
[3] *Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia*

e-mail: diana_salikhova@bk.ru

Нейродегенеративные заболевания мозга представляют собой одну из наиболее актуальных проблем неврологии и нейробиологии. Недостатки современных методов лечения данных заболеваний стимулируют к разработке новых эффективных подходов на основе нейрональных и глиальных клеток, что требует изучения сигнальных механизмов нейральной дифференцировки. В обзоре рассматриваются ключевые механизмы и вещества, участвующие в процессах формирования нейроэпителия in vivo, а также при получении нейральных стволовых клеток из ИПСК и их дальнейшей дифференцировке в различные типы нейрональных и глиальных клеток in vitro.

Ключевые слова: нейроэпителий, нейроны, глиальные клетки, ингибиторы BMP и TGF-β сигнальных путей, Notch, Wnt, факторы роста.

Brain's neurodegenerative diseases are one of the most actual problems of neurology and neurobiology. The lack of the modern methods of treating this diseases stimulates to develop new effective approaches based on neuronal and glial cells, which requires studying the signaling mechanisms of neural differentiation. This review considers the key mechanisms and substances involved in the formation of the neuroepithelium *in vivo*, as well as for obtaining the neural stem cells from iPSCs and its further differentiation in various types of neuronal and glial cells *in vitro*.

Keywords: neuroepithelium, neurons, glial cells, inhibitors of BMP and TGF-β signal pathways, Notch, Wnt, growth factors.

Введение

Нейральные клетки формируются как во время развития эмбриона, так и после рождения, на протяжении всей жизни [1, 2]. Во время эмбрионального развития из нейроэпителия дифференцируются специализированные клетки разных типов, причем это происходит в определенное время и в определенной области головного мозга. Образование нейронов и глии являются динамичными, тонко настроенными процессами и подвержены модуляции различными физиологическими, патологическими и фармакологическими стимулами. Моделирование механизмов данных процессов in vitro позволит получать и исследовать специализированные нейрональные и глиальные клетки в культуре.

Клетки человека, культивируемые in vitro, в частности, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) могут стать принципиально новым источником ноотропных пептидов — препаратов, влияющих на комплексное восстановление функций мозга без значительных негативных эффектов на психику [3]. Применение технологий дифференцировки ИПСК в нейральном направлении позволит моделировать и изучать нейродегенеративные заболевания in vitro [4, 5], следовательно, разработка эффективных протоколов по получению нейрональных и глиальных клеток является весьма актуальной задачей. Для ее решения необходимо понимать, какие основные сигнальные механизмы вовлечены в ранний нейрогенез и какие транскрипционные программы реализуются на молекулярном уровне. В настоящем обзоре будут рассмотрены основные сигнальные пути, участвующие в формировании нейроэпилелия in vivo, а также при получении нейральных стволовых клеток (НСК) из ИПСК и их дальнейшей дифференцировке в различные типы нейрональных и глиальных клеток in vitro.

Формирование нейроэпителия

Процесс развития центральной нервной системы (ЦНС) начинается на стадии нейруляции с утолщения широкого дорсального участка эктодермы, т.е. с образования нервной пластинки, клетки которой способны дать начало всем типам нервных клеток. Края нервной пластинки приподнимаются, формируются нервные валики, которые смыкаются, отделяются от эктодермы, образуя нервную трубку и нервный гребень [6, 7]. Внутренняя или вентрикулярная (эпендимная) зона нервной трубки представляет собой многорядный нейроэпителий, состоящий из делящихся клеток цилиндрической формы [8].

Дифференцировка ИПСК в нейральном направлении связана с запуском механизмов и сигнальных путей, аналогичных процессам нейруляции в период эмбрионального развития. На начальных этапах любой нейрональной и(или) глиальной дифференцировки in vitro стоит задача получения НСК, которые аналогичны нейроэпителиальным клеткам нервной трубки и в культуре выглядят как розеткоподобные структуры. НСК являются общей популяцией клеток-предшественниц и способны давать начало всем типам нейронов и макроглии ЦНС. Для дифференцировки in vitro НСК культивируют с морфогенами и факторами роста и получают нейрональные и глиальные прогениторы, которые в дальнейшем сформируют зрелые нейроны и глию [9].

Принятая в настоящее время модель нейронной индукции предполагает, что формирование нейроэпителия происходит в результате ингибирования сигнальных путей костного морфогенетического белка (BMP) и трансформирующего фактора роста-β (TGF-β), механизм совместного действия которых основан на угнетении плюрипотентного состояния, запрете дифференцировки в мезо- и эндодермальном направлениях и активации эктодермального пути [10, 11]. Ингибирование данных сигнальных путей приводит к формированию передней части нервной трубки, которая впоследствии разовьется в передние отделы центральной нервной системы.

При изучении эмбриогенеза шпорцевой лягушки (Xenopus laevis) было выявлено, что угнетение

BMP-сигнального пути в эмбриональной эктодерме осуществляется нейрон-индуцирующими факторами Noggin, Chordin, Follistatin, Cerberus и Xnr3 (Xenopus nodal-related 3), источником которых является участок дорсальной губы бластопора (организатор Шпемана). Секретируемые молекулы, как полагают, действуют в вышележащей эктодерме, побуждая развитие нервной ткани [12–14].

В недавних исследованиях in vitro было показано, что при недостатке транскрипционного фактора Smad4 эмбриональные стволовые клетки предпочтительно дифференцируются в нейрональном направлении. Поскольку Smad4 вовлечен в сигнальные пути всех членов суперсемейства TGF-β, то для нейральной дифференцировки необходимо ингибирование его лигандов, таких как Activin и Nodal [15].

Дифференцировку ИПСК в нейральном направлении проводят с помощью низкомолекулярного соединения SB431542 и пептида Noggin. SB431542 ингибирует сигнальный путь Lefty/Activin/TGFβ, блокируя фосфорилирование рецепторов ALK4, ALK5, ALK7, а пептид Noggin — сигнальный путь BMP. Однако при использовании только одного из ингибиторов выход НСК снижается [16]. Важно отметить, что вместо дорогостоящего рекомбинантного белка Noggin можно применять низкомолекулярное вещество дорсоморфин, не снижая эффективности дифференцировки [17]. По некоторым данным, дорсоморфин способствует образованию до 88% PAX6$^+$-клеток (маркер НСК), что говорит о высокой эффективности этого ингибитора [18]. На наш взгляд, использование малых молекул является перспективным подходом для получения наиболее гомогенной популяции НСК.

В дальнейшем, для формирования различных типов нейрональных и глиальных клеток ЦНС, нейроэпителиальные клетки должны самообновляться (пролиферировать) и дифференцироваться, подчиняясь действию определенных внешних сигналов и транскрипционных факторов. В поддержании недифференцированного состояния и пролиферативной активности участвуют множество сигнальных путей и транскрипционных факторов, однако, мы рассмотрим самые основные — сигнальные пути Notch, Wnt и FGF [19].

In vitro ключевым участником при формировании розеткоподобных структур является белок Notch сигнального пути — RBP. Использование ингибиторов Notch и(или) потеря активности его рецептора приводят к дезинтеграции нейрональных розеток [20].

Wnt сигнальный путь играет важную роль в поддержании пролиферативной активности НСК. В коре головного мозга на ранних этапах нейрогенеза β-катенин, основной регулятор этого пути, способствует пролиферации клеток нейроэпителия, активируя ген *Emx2* — регулятор раннего развития мозга [21]. In vitro экспрессия β-катенина на базовом уровне стимулирует пролиферацию НСК и подавляет дифференцировку в зрелые нейрональные или глиальные клетки [22, 23].

FGF сигнальный путь способствует самообновлению клеток радиальной глии, инициируя Notch1 сигнальный путь [24]. Культивирование НСК с добавление фактора роста фибробластов 2 (FGF-2) поддерживает недифференцированное состояние и пролиферативную активность этих клеток [25].

Дифференцировка клеток нейроэпителия в нейрональные и глиальные предшественники

На ранних стадиях развития ЦНС клетки нейроэпителия активно пролиферируют и дифференцируются в клетки радиальной глии [26, 27]. При асимметричном делении клеток радиальной глии образуется одна новая радиальная глиальная клетка и один предшественник нейрона. По завершении процесса кортикогенеза, радиальные глиальные клетки терминально дифференцируются в астроциты. Таким образом, в развивающейся нервной системе в результате пролиферации клеток радиальной глии происходит как нейрогенез, так и глиогенез.

Дифференцировку в нейрональном или глиальном направлении определяют сигнальные пути Notch, Wnt и факторы транскрипции.

Лиганд Wnt7a/b в сочетании с сигнальными молекулами FGF2 и Sonic hedgehog (Shh) при нейрональной дифференцировке in vivo активируют транскрипцию гена *Neurogenin1/2* посредством TCF/β-катенин комплекса [28–30]. В in vitro исследованиях было обнаружено, что Neurogenin1 запускает экспрессию гена *NeuroD*, обеспечивая дифференцировку НСК в нейрональном направлении, и одновременно тормозит дифференцировку НСК в астроциты [31, 32].

Нейрональная дифференцировка опосредована не только экспрессией пронейрональных генов, но и определенных репрессоров транскрипции. В экспериментах in vitro было показано, что связывание REST-фактора с промотором гена *Mash1* блокирует его экспрессию, необходимую для дифференцировки в нейрональные прогениторы [33]. Также было доказано, что ингибирование сигнального пути Notch в развивающейся ЦНС и in vitro способствует формированию нейронального фенотипа клеток-предшественниц [34]. При культивировании НСК в присутствии ингибитора фермента γ-секретазы — LY411575, снижается экспрессия гена *Hes5* и увеличивается экспрессия генов *Dll1* и *Hes6*, что приводит к дифференцировке в нейрональные прогениторы [35].

Сигнальный путь Notch играет важную роль при глиальной дифференцировке in vivo и in vitro. [34, 36]. Рецептор Notch, как и его лиганды, содержат внеклеточный домен, состоящий из нескольких тандемных EGF-подобных повторов. FGF-2 и эпидермальный фактор роста (EGF), активируя трансмембранный рецептор Notch, направляют дифференцировку нейроэпителиальных клеток в сторону глиальных предшественников [37]. При культивировании НСК с FGF-2, EGF и тромбоцитарным фактором роста (PDGF) формируются прекурсоры олигодендроцитов — астроцитов II типа (O-2A) [38].

Для формирования глиального фенотипа также необходима активация BMP/Smad и JAK/STAT сигнальных путей. В работах in vitro было выявлено, что воздействие BMP4 и лейкемия индуцирующего фактора (LIF) способствуют активации данных путей и появлению GFAP$^+$-клеток (маркера астроглии) [39, 40].

При дальнейшей дифференцировке из нейрональных и глиальных прогениторов сформируются различные типы нейронов и глиальных клеток.

Специализация нейронов и глии

Выделяют основные факторы, которые оказывают влияние на специализацию нейронов и глиальных клеток: фактор роста нервов (NGF); нейротрофические факторы (BDNF, GDNF); тромбоцитарный и эпидермальный факторы роста (PDGF, EGF); цилиарный фактор роста (CNTF); инсулиноподобный фактор роста (IGF-1); факторы роста фибробластов (FGF-2, FGF-8); костный морфогенетический белок (BMP); белки семейства Hedgehog [41] (рис.1).

За специализацию дофаминергических нейронов черной субстанции среднего мозга отвечают факторы

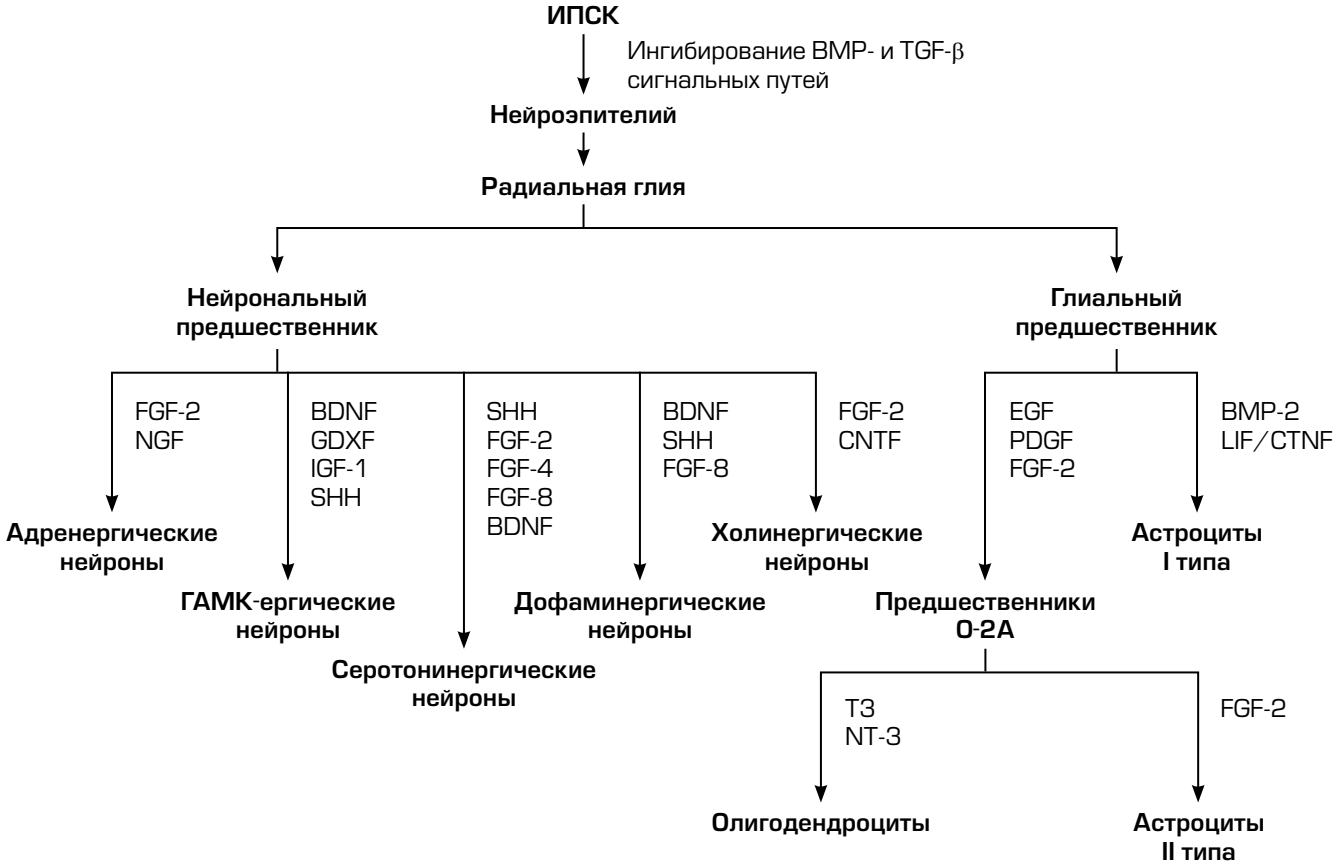

Рис. 1. Основные пути получения нейрональных и глиальных клеток in vitro

роста — Shh и FGF-8. Экспрессия Shh осуществляется донной пластинкой и способствует вентрализации клеток среднего мозга. FGF-8 секретируется на границе между промежуточным и задним мозгом, образуя каудорастральный градиент [42, 43]. В результате дифференцировки ИПСК человека в присутствии Shh и FGF-8 была получена культура, состоящая из 80% дофаминергических нейронов, которые экспрессировали маркеры этих клеток — TH, FOXA2 и LMX1A [44, 45].

FGF-2, подобно нейротрофинам, стимулирует нейрогенез через рецепторы FGFR-1 и FGFR-2 в пролиферирующих предшественниках. In vitro FGF-2 в сочетании с NGF поддерживают дифференцировку в адренергические нейроны, а вместе с CNTF — в холинергические [46, 47].

В исследованиях in vitro было доказано, что за формирование ГАМК-эргических нейронов (ГАМК — γ-аминомасляная кислота) отвечают глиальный и мозговой нейротрофические факторы, Shh и инсулиноподобный фактор роста-1 [48, 49].

Существуют различные протоколы получения серотонинергических нейронов. Инкубация нейрональных предшественников с Shh, FGF-2, FGF-4, FGF-8, BDNF и аскорбиновой кислотой способствует формированию культур, содержащих до 50% серотонинергических нейронов [50].

Для созревания глиальных предшественников O-2A в олигодендроциты используется трийодтиронин (T3) и нейротрофин-3 (NT-3) [51, 52]. Цилиарный нейротрофический фактор совместно с FGF-2 запускает дифференцировку прекурсоров O-2A в астроциты II типа in vitro [53–55].

В поддержании дифференцировки предшественников глии в астроциты I типа принимают участие секреторные молекулы из семейства BMP. Так, например, совместное действие BMP-2 и CNTF побуждает к образованию астроцитов I типа in vitro [56–58].

На сегодняшний день разработано достаточно много протоколов дифференцировки ИПСК в различные типы нейрональных и глиальных клеток через стадию НСК. Существуют эффективные протоколы по получению гомогенных культур ГАМК-эргических, дофаминергических нейронов, астроцитарной глии и олигодендроцитов, однако культуры некоторых типов нейронов, например серотонинергических или мотонейронов, представляют собой гетерогенные популяции.

Заключение

Изучение генетических механизмов нейрогенеза позволит получать из ИПСК и других клеточных культур все типы нейронов и глиальных клеток на разных стадиях дифференцировки. Это даст возможность исследовать патогенез различных нейродегенеративных заболеваний ЦНС и поможет в создании моделей тяжелых патологий и тест-систем для оценки действия лекарственных препаратов. Нейрональные и глиальные клетки, дифференцированные из ИПСК, могут в перспективе использоваться и для клеточной терапии пораженных участков мозга, а также для разработки на их основе нейропептидных лекарственных препаратов, которые представляют собой композицию биологически-активных полипептидов, обладающих ноотропной и нейрометаболической активностью.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской федерации, уникальный идентификатор научного проекта RFMEFI60417X0184.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ming Guo-li, Hongjun Song. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. Annu. Rev. Neurosci. 2005; 28: 223–50.
2. Коржевский Д.Э. Нейрогенез и нейральные стволовые клетки. Медицинский Академический Журнал 2010; 10(4): 175–82.
3. Giurgea C.E. The nootropic concept and its prospective implications. Drug. Dev. Res. 1982; 2: 441–6.
4. Лысогорская Е.В., Клюшников С.А. Точки приложения препаратов биологической природы в терапии нейродегенеративных заболеваний. Нервные болезни 2015; 2: 10–3.
5. Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Чехонин В.П. и соавт. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы. Вестник Российской Академии Медицинских Наук 2012; 67(12): 4–12.
6. LaBonne C., Bronner-Fraser M. Molecular mechanisms of neural crest formation. Annual Review of Cell and Developmental Biology 1999; 15(1): 81–112.
7. Gaulden J., Reiter J.F. Neur-ons and neur-offs: regulators of neural induction in vertebrate embryos and embryonic stem cells. Human Molecular Genetics 2008; 17(1): 60–6.
8. Greene N.D., Copp A.J. Development of the vertebrate central nervous system: formation of the neural tube. Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation with the International Society for Prenatal Diagnosis 2009; 29(4): 303–11.
9. Panchision D.M., McKay R.D. The control of neural stem cells by morphogenic signals. Current Opinion in Genetics & Development 2002; 12(4): 478–87.
10. Stern C.D. Neural induction: 10 years on since the 'default model'. Current Opinion in Cell Biology 2006; 18(6): 692–7.
11. Лебедева О.С. Создание модельной системы для изучения функции генов, ассоциированных с болезнью Паркинсона, с использованием технологии генетического репрограммирования [диссертация]. Москва: ФГБУ «Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова» РАН; 2016.
12. Smith W.C., Harland R.M. Expression cloning of noggin, a new dorsalizing factor localized to the Spemann organizer in Xenopus embryos. Cell 1992; 70(5): 829–40.
13. Hemmati-Brivanlou A., Kelly O.G., Melton D.A. Follistatin, an antagonist of activin, is expressed in the Spemann organizer and displays direct neuralizing activity. Cell 1994; 77(2): 283–95.
14. Sasai Y., Lu B., Steinbeisser H. et al. Xenopus chordin: a novel dorsalizing factor activated by organizer-specific homeobox genes. Cell 1994; 79(5): 779–90.
15. Smith J.R., Vallier L., Lupo G. et al. Inhibition of Activin/Nodal signaling promotes specification of human embryonic stem cells into neuroectoderm. Developmental Biology 2008; 313(1): 107–17.
16. Chambers S.M., Fasano C.A., Papapetrou E.P. et al. Highly efficient neural conversion of human ES and iPS cells by dual inhibition of SMAD signaling. Nature Biotechnology 2009; 27(3): 275–80.
17. Yu P.B., Hong C.C., Sachidanandan C. et al. Dorsomorphin inhibits BMP signals required for embryogenesis and iron metabolism. Nature Chemical Biology 2008; 4(1): 33–41.
18. Zhou J., Su P., Li D. et al. High efficiency induction of neural conversion in human ESCs and human induced pluripotent stem cells with a single chemical inhibitor of transforming growth factor beta superfamily receptors. Stem Cells 2010; 28(10): 1741–50.
19. Molofsky A.V., Pardal R., Morrison S.J. Diverse mechanisms regulate stem cell self-renewal. Current Opinion in Cell Biology 2004; 16(6): 700–7.
20. Chuang J.H., Tung L.C., Lin Y. Neural differentiation from embryonic stem cells in vitro: An overview of the signaling pathways. World Journal of Stem Cells 2015; 7(2): 437–47.
21. Muzio L., Soria J.M., Pannese M. et al. A mutually stimulating loop involving emx2 and canonical wnt signalling specifically promotes expansion of occipital cortex and hippocampus. Cerebral Cortex 2005; 15(12): 2021–8.
22. Wexler E.M., Paucer A., Kornblum H.I. et al. Endogenous Wnt signaling maintains neural progenitor cell potency. Stem Cells 2009; 27(5): 1130–41.
23. Davidson K.C., Jamshidi P., Daly R. et al. Wnt3a regulates survival, expansion, and maintenance of neural progenitors derived from human embryonic stem cells. Molecular and Cellular Neuroscience 2007; 36(3): 408–15.
24. Yoon K., Nery S., Rutlin M.L. et al. Fibroblast growth factor receptor signaling promotes radial glial identity and interacts with Notch1 signaling in telencephalic progenitors. Journal of Neuroscience 2004; 24(43): 9497–506.
25. Zhang S.C., Wernig M., Duncan I.D. et al. *In vitro* differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. Nature Biotechnology 2001; 19(12): 1129–33.
26. Alvarez-Buylla A., García-Verdugo J.M., Tramontin A.D. et al. A unified hypothesis on the lineage of neural stem cells. Nature Reviews Neuroscience 2001; 2(4): 287–93.
27. Gotz M., Huttner W.B. Developmental cell biology: The cell biology of neurogenesis. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2005; 6(10): 777–88.
28. Hirabayashi Y., Itoh Y., Tabata H. et al. The Wnt/β-catenin pathway directs neuronal differentiation of cortical neural precursor cells. Development 2004; 131(12): 2791–801.
29. Israsena N., Hu M., Fu W. et al. The presence of FGF2 signaling determines whether β-catenin exerts effects on proliferation or neuronal differentiation of neural stem cells. Developmental Biology 2004; 268(1): 220–31.
30. Viti J., Gulacsi A., Lillien L. Wnt regulation of progenitor maturation in the cortex depends on Shh or fibroblast growth factor 2. Journal of Neuroscience 2003; 23(13): 5919–27.
31. Taylor S.M., Alvarez-Delfin K., Saade C.J. et al. The bHLH transcription factor NeuroD governs photoreceptor genesis and regeneration through delta-notch signaling. Investigative Ophthalmology & Visual Science 2015; 56(12): 7496–515.
32. Zhao J. The transcriptional regulation by neurogenin1 in neurogenesis. University of California, Los Angeles: ProQuest; 2009.
33. Ballas N., Grunseich C., Lu D.D. et al. REST and its corepressors mediate plasticity of neuronal gene chromatin throughout neurogenesis. Cell 2005; 121(4): 645–57.
34. Louvi A., Artavanis-Tsakonas S. Notch signalling in vertebrate neural development. Nature Reviews Neuroscience 2006; 7(2): 93–102.
35. Abranches E., Silva M., Pradier L. et al. Neural differentiation of embryonic stem cells *in vitro*: a road map to neurogenesis in the embryo. PloS One 2009; 4(7): 6286.
36. Emdad L., D'Souza S.L., Kothari H.P. et al. Efficient differentiation of human embryonic and induced pluripotent stem cells into functional astrocytes. Stem Cells and Development 2011; 21(3): 404–10.
37. Krencik R., Zhang S.C. Directed differentiation of functional astroglial subtypes from human pluripotent stem cells. Nature Protocols 2011; 6(11): 1710–7.
38. Czepiel M., Balasubramaniyan V., Schaafsma W. et al. Differentiation of induced pluripotent stem cells into functional oligodendrocytes. Glia 2011; 59(6): 882–92.
39. Fukuda S., Abematsu M., Mori H. et al. Potentiation of astrogliogenesis by STAT3-mediated activation of bone morphogenetic protein-Smad signaling in neural stem cells. Molecular and Cellular Biology 2007; 27(13): 4931–7.
40. Bonaguidi M.A., McGuire T., Hu M. et al. LIF and BMP signaling generate separate and discrete types of GFAP-expressing cells. Development 2005; 132(24): 5503–14.
41. Гомазков О.А. Ростовые и нейротрофические факторы в регуляции трансформации стволовых клеток и нейрогенеза. Нейрохимия 2007; 24(2): 101–20.
42. Roussa E., Krieglstein K. Induction and specification of midbrain dopaminergic cells: focus on SHH, FGF8, and TGF-β. Cell and Tissue Research 2004; 318(1): 23–33.
43. Kriks S., Shim J.W., Piao J. et al. Dopamine neurons derived from human ES cells efficiently engraft in animal models of Parkinson's disease. Nature 2011; 480(7378): 547–51.
44. Лебедева О.С., Лагарькова М.А., Киселев С.Л. и соавт. Морфофункциональные свойства индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, полученных из фибробластов кожи человека и дифференцированных в дофаминергические нейроны. Нейрохимия 2013; 30(3): 233–41.
45. Cai J., Yang M., Poremsky E. et al. Dopaminergic neurons derived from human induced pluripotent stem cells survive and integrate into 6-OHDA-lesioned rats. Stem Cells and Development 2009; 19(7): 1017–23.
46. Гомазков О.А. Сигнальные молекулы как регуляторы нейрогенеза взрослого мозга. Нейрохимия 2013; 30(4): 273.
47. Кузнецов С.Л., Мушкамбаров Н.Н. Гистология, цитология и эмбриология. Москва: Медицинское информационное агентство (МИА); 2005.
48. Liu Y., Liu H., Sauvey C. et al. Directed differentiation of forebrain GABA interneurons from human pluripotent stem cells. Nature Protocols 2013; 8(9): 1670–9.
49. Ma L., Hu B., Liu Y. et al. Human embryonic stem cell-derived GABA neurons correct locomotion deficits in quinolinic acid-lesioned mice. Cell Stem Cell 2012; 10(4): 455–64.
50. Alenina N., Bashammakh S., Bader M. Specification and differentiation of serotonergic neurons. Stem Cell Reviews 2006; 2(1): 5–10.
51. Tokumoto Y., Ogawa S., Nagamune T. et al. Comparison of efficiency of terminal differentiation of oligodendrocytes from induced pluripotent stem cells versus embryonic stem cells *in vitro*. Journal of Bioscience and Bioengineering 2010; 109(6): 622–8.
52. Stacpoole S.R., Spitzer S., Bilican B. et al. High yields of oligodendrocyte lineage cells from human embryonic stem cells at physiological oxygen tensions for evaluation of translational biology. Stem Cell Reports 2013; 1(5): 437–50.
53. Hughes S.M., Lillien L.E., Raff M.C. et al. Ciliary neurotrophic factor induces type-2 astrocyte differentiation in culture. Nature 1988; 335(6185): 70–3.
54. Song M.R., Ghosh A. FGF2-induced chromatin remodeling regulates CNTF-mediated gene expression and astrocyte differentiation. Nature Neuroscience 2004; 7(3): 229–35.
55. Emdad L., D'Souza S.L., Kothari H.P. et al. Efficient differentiation of human embryonic and induced pluripotent stem cells into functional astrocytes. Stem Cells and Development 2011; 21(3): 404–10.
56. Nakashima K., Yanagisawa M., Arakawa H. et al. Astrocyte differentiation mediated by LIF in cooperation with BMP2. FEBS Letters 1999; 457(1): 43–6.
57. Liu Y., Rao M.S. Glial progenitors in the CNS and possible lineage relationships among them. Biology of the Cell 2004; 96(4): 279–90.
58. Kessaris N., Pringle N., Richardson W.D. Specification of CNS glia from neural stem cells in the embryonic neuroepithelium. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences 2008; 363(1489): 71–85.

Поступила: 03.09.2018