

УДК 57.085.23 616-009.1

При болезни Паркинсона в нейральных клетках с мутациями в *PARK2* снижается экспрессия генов иммунного ответа

В. Б. Федосеева^{1*}, Е. В. Новосадова^{1,2}, В. В. Ненашева^{1,2}, Л. В. Новосадова¹,
И. А. Гривенников¹, В. З. Тарантул¹

¹Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, 123098 Россия

²ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства, Москва, 119435 Россия

*E-mail: fedoseeva_VB@nrcki.ru; nrcki@nrcki.ru

Поступила в редакцию 27.03.2025

Принята к печати 17.09.2025

DOI: 10.32607/actanaturae.27664

РЕФЕРАТ Болезнь Паркинсона (БП) – одно из наиболее распространенных хронических нейродегенеративных заболеваний. При БП наблюдаются изменения в экспрессии большого числа генов, что приводит к нарушению различных функций организма. Опубликованы данные, свидетельствующие о важной роли изменений в системе врожденного иммунитета и нейровоспаления в патогенезе этого заболевания. Однако точный механизм нарушения иммунного ответа в контексте патогенеза БП изучен далеко не полностью. В настоящей работе с помощью секвенирования транскриптома (RNA-seq) с последующей количественной ПЦР обнаружена дифференциальная экспрессия генов, связанных с иммунным ответом, в клетках нейральных предшественников и глии, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток здоровых доноров и пациентов с БП, несущих мутации в гене *PARK2*. В клетках от пациентов с БП по сравнению с клетками здоровых доноров понижена экспрессия множества генов, участвующих в ряде сигнальных путей врожденного иммунитета, в частности, в каноническом пути NF κ B, неканоническом NF κ B, TNF α /NF κ B, IL6–STAT3, IL2–STAT5 и в ответах IFN γ и IFN α . Предложен механизм регуляции данных сигнальных путей в клетках нейральных предшественников у пациентов с БП с мутациями в гене *PARK2*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА болезнь Паркинсона, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, глия, нейральные предшественники, дифференциальная транскрипция генов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ БП – болезнь Паркинсона; ЗД – здоровые доноры; ДА-нейроны – дофаминергические нейроны; ДЭГ – дифференциально экспрессирующийся ген; НП – нейральные предшественники; ПЦР – полимеразная цепная реакция; IFN – интерферон; IRF – факторы, регулирующие интерферон; RNA-seq – секвенирование полного транскриптома; TPM – число транскриптов на 1 млн картированных фрагментов.

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний. По существующим оценкам более 1% людей в возрасте 65 лет и старше заболевают БП, а к 2030 году ожидается удвоение заболеваемости [1]. При БП, в частности, наблюдаются нарушения функций дофаминергических и других нейронов, моторных функций, а также изменения функций иммунной системы [2, 3]. Выявлены некоторые факторы риска и молекулярные механизмы, приводящие к возникновению БП, однако молекулярные основы патогенеза этого заболевания остаются недостаточно изученными.

Нейровоспаление – ключевой процесс врожденного иммунитета, который помогает защитить мозг от патогенов разной природы. При этом нарушение процессов воспаления часто сопровождается развитием нейродегенеративных заболеваний [4–6]. В центральной нервной системе за функции врожденной иммунной защиты отвечают микроглия и астроциты, которые играют ключевую роль в нейровоспалительных процессах. Многочисленные данные, полученные в результате исследований как *in vitro*, так и *in vivo*, показывают, что нейровоспаление ассоциировано с патогенезом БП [7–15]. Множество данных свидетельствует о том, что нарушение нейроглиальных взаимодей-

ствий при БП приводит к гибели нейронов [16–19]. Дофаминергические нейроны (ДА-нейроны) экспрессируют широкий спектр рецепторов цитокинов и хемокинов, поэтому они могут быть чувствительны к медиаторам воспаления [20]. Однако остается неясным, являются ли иммунные изменения следствием начавшегося заболевания или его причиной. Изменения в реакциях врожденного иммунитета, в частности воспалительных, при БП, ассоциированной с разными мутациями, изучены недостаточно. В первую очередь это связано с ограниченными возможностями получения клинического материала от пациентов с БП. В настоящее время существует широкий спектр экспериментальных животных моделей БП и культивируемых клеток *in vitro*, помогающих обходить это ограничение и исследовать различные аспекты БП [21, 22].

Одной из наиболее широко используемых моделей БП являются индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), полученные репрограммированием фибробластов пациентов с БП, и их нейральные и глиальные производные. В настоящей работе в качестве модельной системы для поиска генов, дифференциально экспрессирующихся (ДЭГ) при БП и имеющих отношение к врожденному иммунитету, использовали клетки нейральных предшественников (НП) и глии, полученные из ИПСК здоровых доноров (ЗД) и пациентов с БП, несущих различные мутации в гене *PARK2*. Мутации в гене *PARK2* – это вторая по распространенности причина развития моногенной формы БП с ранним началом [23]. Ген *PARK2* кодирует убиквитин-Е3-лигазу паркин, участвующую в контроле фолдинга белков-субстратов, оценке качества митохондрий и деградации поврежденных митохондрий посредством митофагии [8, 24].

Получены отдельные указания на взаимосвязь между дисфункцией *PARK2* и врожденными иммунными реакциями при БП [15], однако в целом этот вопрос остается открытым. В настоящей работе изучали экспрессию генов врожденного иммунного ответа у пациентов с мутациями в гене *PARK2*, ассоциированными с БП.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Клеточные линии. Подготовка РНК к секвенированию

Метод получения клеточных линий нейральных предшественников (НП) и глии, а также подготовка к проведению RNA-seq описаны ранее [25–27]. Характеристика клеточных линий НП и глии здоровых доноров (ЗД) и пациентов с БП приведена в табл. 1S (Приложение 1). На рис. 1S и 2S

(Приложение 1) приведены результаты иммуноцитохимического окрашивания глиальных клеток антителами к маркеру астроцитов S100 и НП-антителами к маркеру SOX1, свидетельствующие о высоком уровне представления указанных типов клеток. Секвенирование РНК НП проводили согласно [25], РНК глии – с использованием технологии Illumina NovaSeq 6000.

ПЦР-анализ в режиме реального времени

Количественную полимеразную цепную реакцию в реальном времени (РВ-кПЦР) проводили как описано в [27]. Использованные праймеры приведены в табл. 2S (Приложение 1).

Биоинформатический анализ

Картирование ридов по данным секвенирования РНК проводили согласно [25]. Для определения ДЭГ по числу ридов использовали пакет edgeR [27], в дальнейшем использовали ограничения по ДЭГ со значимостью $P_{val} < 0.05$. Значимость генов серий FDR (False Discovery Rate) и P_{val} выявляли методом GSEA [28]. Сигнальные пути анализировали с использованием категории Hallmark50 (UC San Diego) (<http://gsea-msigdb.org>) [29], метода GSEA (Analysis of Gene Sets) [28], вычислительных возможностей и ресурсов (<http://www.webgestalt.org>) и отобрали сигнальные пути с $FDR < 0.05$ и $P_{val} < 0.05$. Для оценки значимости ДЭГ по числу TPM использовали множественный *t*-тест (multiple *t*-test) [30].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ транскриптомов нейральных предшественников и глиальных клеток пациентов с БП с мутациями в гене *PARK2* и здоровых доноров

В настоящей работе проведен биоинформатический анализ данных RNA-seq транскриптома НП [25] и глиальных производных, полученных от пациентов с БП, несущих мутацию в гене *PARK2*, по сравнению с клетками ЗД. С помощью анализа обогащения генов по функциональной принадлежности выявлены серии генов с существенно измененным уровнем транскрипции как в НП, так и в глии пациентов с БП по сравнению с клетками ЗД, относящихся к процессам врожденного и частично приобретенного иммунитета. К ним, в частности, относятся канонический и неканонический пути NF κ B, TNF α /NF κ B, IL6–STAT3, IL2–STAT5, а также пути ответа на IFN γ , IFN α (Hallmark50) и категории Генной онтологии (Gene Ontology, GO). В эти категории входят преимущественно гены, экспрессия которых снижена

в клетках НП и глиии пациентов с БП по сравнению с клетками ЗД (Приложения 2, 3). В дальнейший анализ отобрали ДЭГ, относящиеся к выявленным нами путям иммунной системы и имеющие $TPM > 10$, по крайней мере, в одной из позиций (рис. 1, 2, 3). Функции ряда выявленных ДЭГ приведены в табл. 3S (Приложение 1).

Несколько ДЭГ участвуют сразу в нескольких выявленных нами обогащенных путях (рис. 2).

Среди ДЭГ выделяется большой набор генов, кодирующих белки канонического и неканонического сигнальных путей NF κ B и сигнального провоспалительного пути TNF α /NF κ B (рис. 1, 2), к которым относятся, в частности, гены, кодирующие субъединицы фактора транскрипции NF κ B (*NFKB1*, *NFKB2*, *RELA*), ген *NFKBIA* (ингибитор NF κ B), ген негативного регулятора *SOCS3* сигнальных путей NF κ B, ген подавления воспаления *PIAS3*, гены хемокинов *CCL2*, *CXCL1*, *ICAM1*, отвечающих за клеточную адгезию, гены *PLAU*, *PLK2*, вовлеченные в процессинг белков, гены *PDGFC*, *VEGFA*, кодирующие ростовые факторы, ген *PFKFB3*, контролирующий гликогенез, и ген трансформирующего фактора роста *TGFB2*. Только у генов *PFKFB3* и *PNRC1* в НП пациентов с БП экспрессия выше, чем в клетках ЗД (рис. 1).

В этой связи следует отметить, что современные представления об иммунном ответе на различные факторы включают участие канонического и неканонического сигнальных путей NF κ B и пути TNF α /NF κ B [31, 32]. Эти пути являются медиаторами иммунного ответа, влияющими на синтез цитокинов (интерферонов, интерлейкинов, хемокинов). При инфекции активация генов провоспалительных белков семейства NF κ B по каноническому пути реализуется через разрушение связи факторов этого семейства с ингибиторным комплексом, перемещением из цитоплазмы клетки в ядро и транскрипции таргетных генов. Сигнальные пути TNF α /NF κ B, IL6–STAT3 могут активироваться в ходе неканонического иммунного ответа на появление цитокинов, в частности TNF α .

Пониженная экспрессия генов ингибиторного типа – *SOCS3*, *NFKBIA* [33, 34] и *PIAS3* [35] – допускает возможность динамического развития иммунного ответа, сопряженного с сигнальными путями NF κ B.

Известно, что *IL6* является таргетным геном сигнального пути NF κ B и индуктором пути IL6–JAK2–STAT3, активация которого приводит к развитию воспаления на уровне целого организма. Показано снижение экспрессии большинства генов, входящих в сигнальный путь IL6–STAT3 как в НП, так и в глиии пациентов с БП по сравнению с клетками ЗД (рис. 1Ж, 3). Также наблюдали снижение экспрессии генов сигнального пути IL2–STAT5 – *ITIH5*, *ALCAM*, *SLC2A3*, *WLS* – и повышение экс-

прессии гена *STAT5B* в НП пациентов с БП по сравнению с НП ЗД, однако в клетках глиии экспрессия генов этого пути не изменялась (рис. 1Ж, 3).

В НП и глиальных клетках пациентов с БП обнаружено также снижение экспрессии большого набора генов, кодирующих белки ответа на IFN α и IFN γ , по сравнению с клетками ЗД (рис. 3В, Г). Известно, что экспрессия генов интерферонов и генов, связанных с иммунитетом, стимулируется факторами, регулируемыми интерферон (IRF). В число мишеней фактора IRF3 входят гены *IFITM1–3*. Продукты генов *IFITM1–3* способны блокировать развитие вирусных инфекций, изменяя свойства мембран, причем продукт гена *IFITM3* ингибирует широкий спектр вирусов, тогда как продукты генов *IFITM1,2* специфичны в отношении довольно узкого круга вирусов [22, 36–39]. Известно, что активация IFITM1–3 связана с сигнальным путем, ассоциированным с мембранным рецептором OSMR [40]. На рис. 2 и 3 приведены данные для генов сигнального пути OSMR (ассоциирован с БП [41]), *SHC* (ген адаптора сигнальной трансдукции), *JAK1*, *MAP2K1*, *MAP2K2* (гены фосфокиназ) и других генов, вовлеченных в интерфероновый ответ: *IFITM2,3*, *MVP*, *PFKP*, *VCAM1*, *VAMP5*, *TNFRSF1A*, *TYK2*, *PDGFC*, имеющих значимо сниженную экспрессию в НП и глиальных клетках пациентов с БП по сравнению с клетками ЗД. Снижение экспрессии генов сигнального пути OSMR может кумулятивно ослаблять передачу внеклеточного сигнала внутрь клетки.

Ген трансмембранного белка CD47 участвует в защите нейронов астроцитами и другими клетками иммунной системы, окружающими поврежденные ДА-нейроны [42]. Пониженная экспрессия гена *CD47* в НП пациентов с БП по сравнению с ЗД может свидетельствовать об ослаблении нейропротекции при развитии БП.

Следует отметить также снижение экспрессии генов *CXCL5*, *CXCL6*, *CXCL8*, кодирующих хемокины, отвечающие за хемотаксис иммунных клеток к очагам воспаления, в НП пациентов с БП по сравнению с ЗД (рис. 3А,Б). При этом их рецептор этих хемокинов *CXCR2* в НП не экспрессировался. Ген *CXCL5* связан с БП [43], тогда как гены *CXCL6*, *CXCL8* связаны с БП опосредованно – они влияют на дифференцировку ДА-нейронов [44]. Наряду с этим, в НП пациентов с БП по сравнению с клетками ЗД повышена экспрессия таких генов, связанных с иммунитетом, как *CXCL12*, *CXCR4*, *CXCR7* (рис. 3А). Экспрессия этих генов ассоциирована с развитием нейродегенеративных заболеваний, включая БП [45].

Таким образом, как в НП, так и в глиальных клетках пациентов с БП происходит снижение экспрессии большого числа ДЭГ, связанных с врожденным и при-

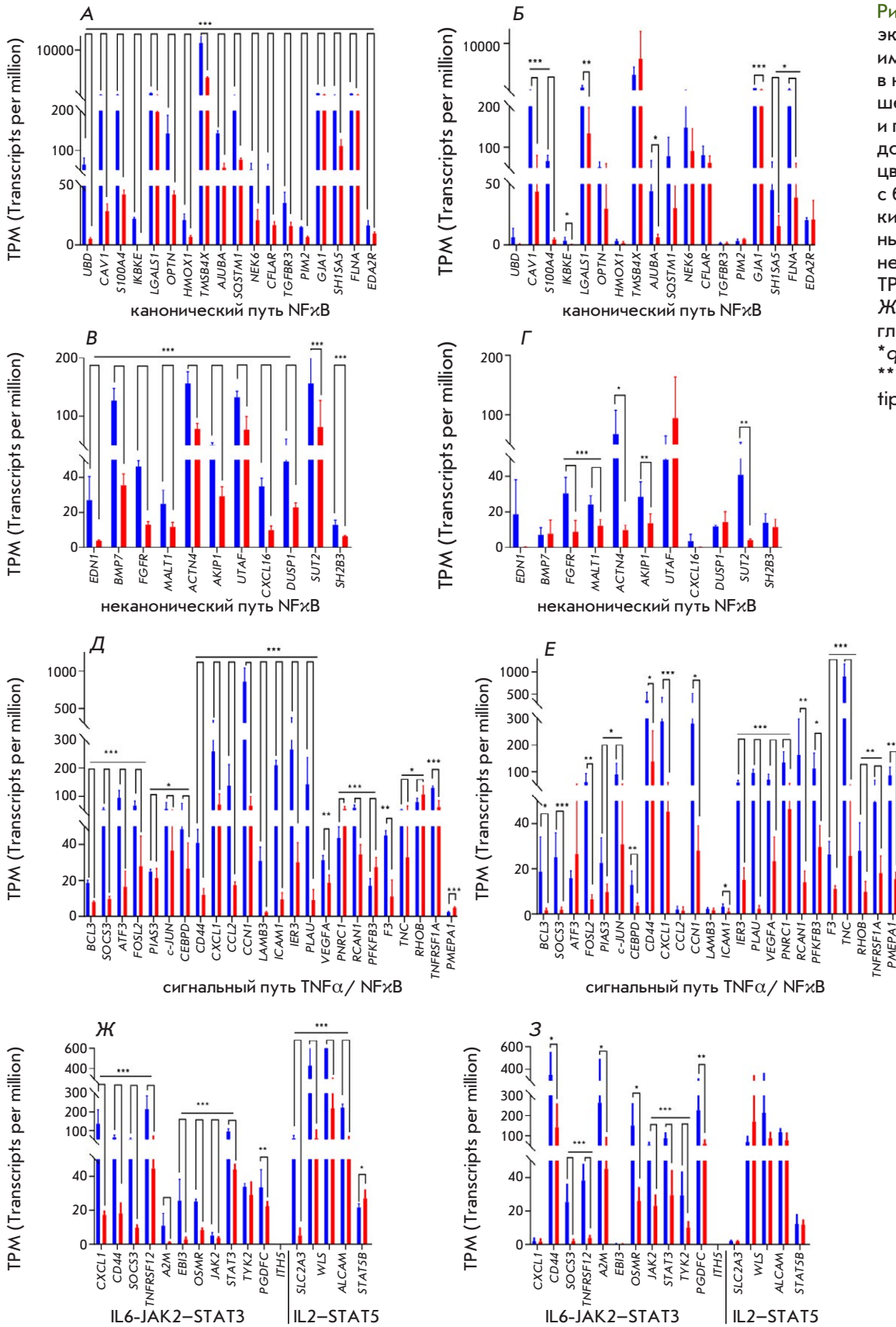


Рис. 1. Профили экспрессии генов иммунного ответа в нейральных предшественниках (НП) и глии у здоровых доноров (ЗД, синий цвет) и пациентов с болезнью Паркинсона (БП, красный цвет) (усредненные значения TPM > 10). А, В, Д, Ж – НП; Б, Г, Е, З – глиальные клетки. * $q < 0.05$, ** $q < 0.01$, *** $q < 0.001$ (multiple t -test)

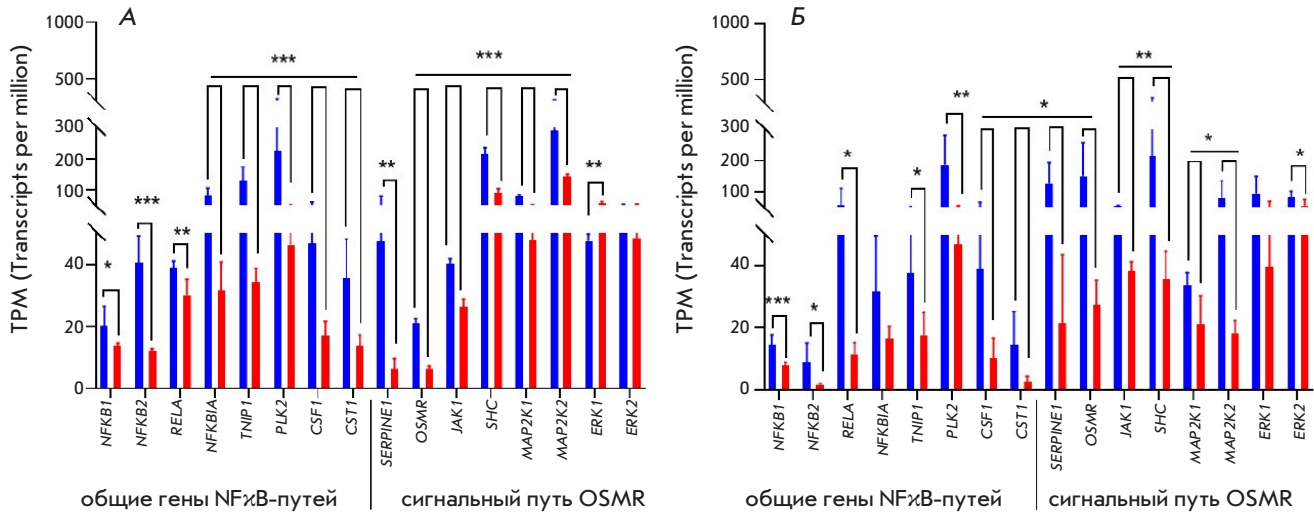


Рис. 2. Профили экспрессии генов иммунного ответа, общих для нескольких сигнальных путей. А – нейральные предшественники, Б – глиа. Усредненные значения TPM (> 10) для клеток, полученных от пациентов с болезнью Паркинсона (красный цвет) и здоровых доноров (синий цвет). * $q < 0.05$, ** $q < 0.01$, *** $q < 0.001$ (multiple t -test)

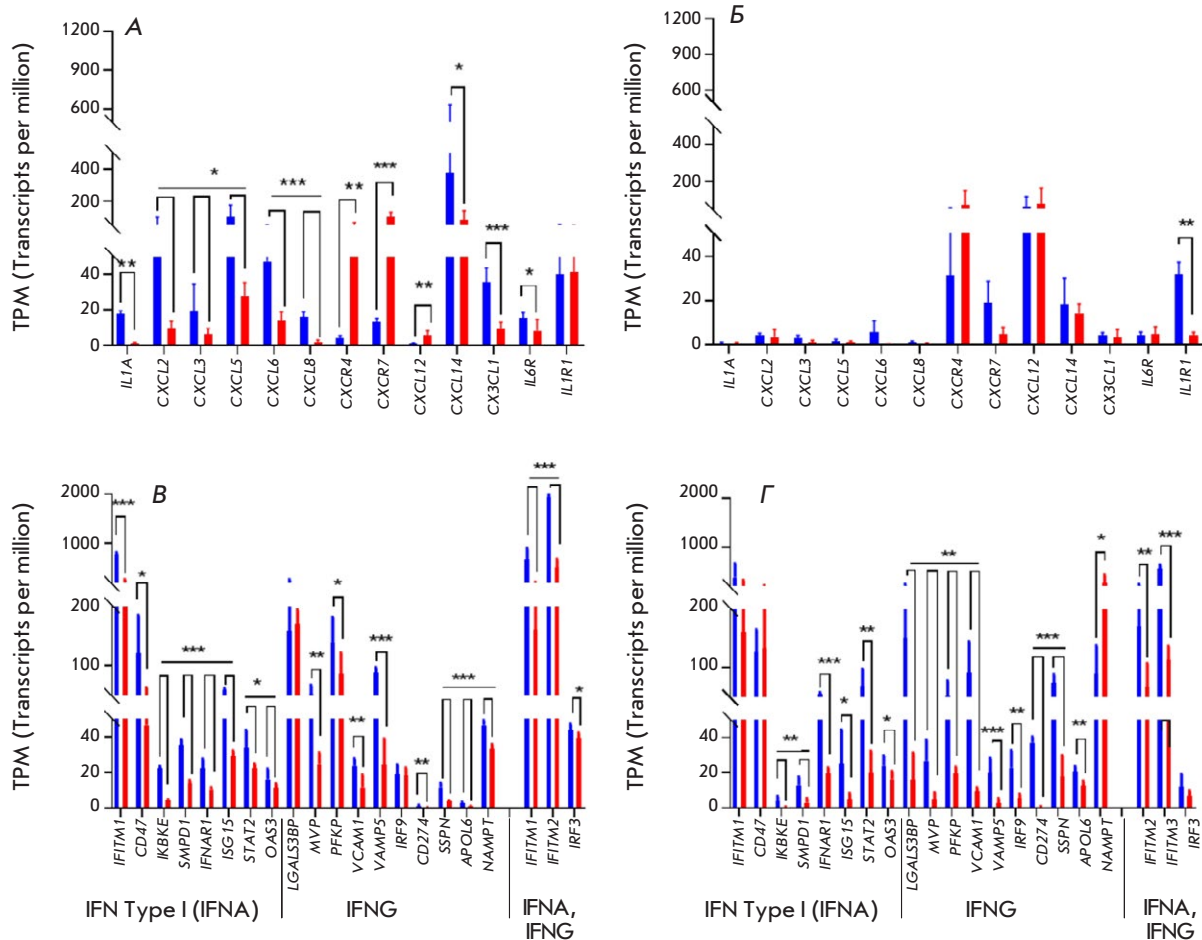


Рис. 3. Профили экспрессии генов цитокинов и их рецепторов (А и Б) и генов иммунного ответа на интерфероны (В и Г) в нейральных предшественниках (НП) и глиа у здоровых доноров (ЗД) (показаны синим) и пациентов с БП (выделены красным) (усредненные значения TPM > 10). А и В – НП. Б и Г – глиа. * $q < 0.05$, ** $q < 0.01$, *** $q < 0.001$ (multiple t -test)

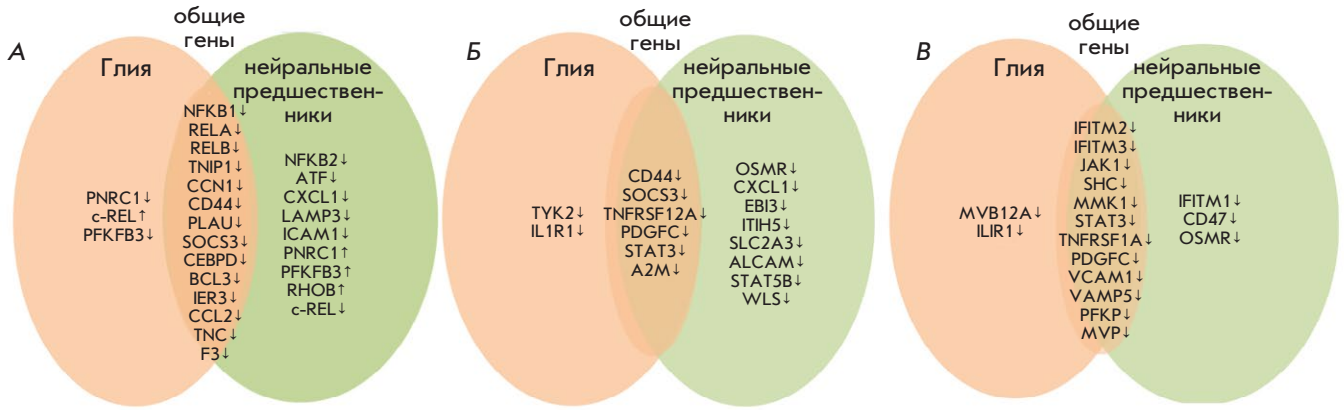


Рис. 4. Диаграммы Венна для ДЭГ в нейральных предшественниках и глиальных клетках. А – провоспалительный сигнальный путь TNFα/NFκB. Б – сигнальные пути IL6–STAT3 и IL2–STAT5. В – клеточный ответ на IFNα и IFNγ. ↓ – понижение экспрессии, ↑ – повышение экспрессии в клетках пациентов с болезнью Паркинсона по сравнению с здоровыми донорами

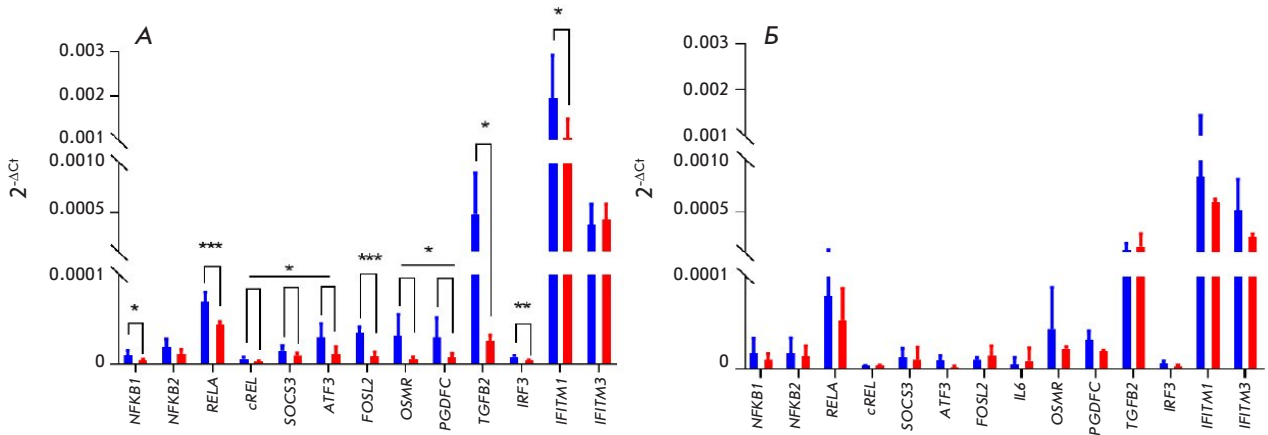


Рис. 5. РВ-кПЦР-анализ транскрипции генов в нейральных предшественниках и глиальных клетках здоровых доноров (синий) и пациентов с болезнью Паркинсона (красный). А – нейральные предшественники; Б – глия. Ген 18S рРНК использован в качестве референсного. * $q < 0.05$, ** $q < 0.01$, *** $q < 0.001$ (multiple t -test)

обретенным иммунитетом, в частности, с воспалением. При общем сходстве между клетками НП и глии наборы ДЭГ в них совпадают не полностью (рис. 4).

Данные RNA-seq НП подтверждены с помощью РВ-кПЦР выборочных генов (рис. 5А). Сходные тенденции в ДЭГ выявлены с помощью RNA-seq и РВ-кПЦР и в глиальных клетках, но с меньшей значимостью (рис. 5Б).

На рис. 3S (Приложение 1) представлены данные по экспрессии серии генов по категориям ГО: воспаление и хроническое воспаление (А, Б); ответ на молекулы бактериального происхождения (В, Г); связь с цитокинами и рецепторами цитокинов (Д, Е); негативная регуляция продукции цитокинов (Ж, З). На рис. 4S (А, Б) – по категории каскад компонента (Complement cascade) ресурса HallMark50. Видно, что в линиях БП экспрессия генов преимущественно ниже, чем в клетках от ЗД.

Гипотетические механизмы, приводящие к нарушениям врожденного иммунного ответа в нейральных предшественниках пациентов с болезнью Паркинсона с мутациями в гене PARK2

На основании опубликованных ранее и полученных нами данных можно высказать определенные предположения относительно влияния мутаций в гене PARK2 на иммунный ответ у пациентов с БП. Нативный белок Паркин, как убиквитин-Е-лигаза, участвует в убиквитинировании субъединицы ИКВКГ/ЛККγ/NEMO, входящей в состав ингибиторного комплекса NFκB в цитоплазме [46], и, как следствие, способствует активации белков NFκB1 и RELA, что приводит к повышению экспрессии факторов воспаления [47], в том числе NFκB за счет авторегуляции (табл. 4S, Приложение 1) (таргетные гены RELA). Можно предположить, что белок пар-

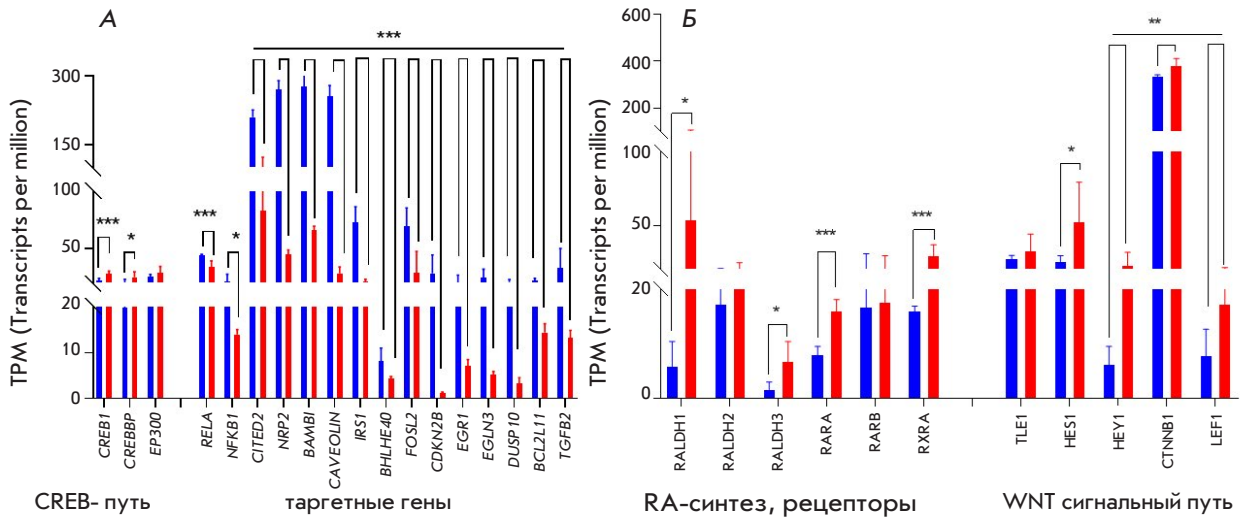


Рис. 6. Профиль экспрессии генов (А) по числу транскриптов (TPM), вовлеченных в сигнальный путь CREB–CREBBP/EP300, и таргетных генов этого пути в нейтральных предшественниках у здоровых доноров (синий) и пациентов с болезнью Паркинсона (красный цвет). Б – профиль экспрессии генов противовоспалительного комплекса и генов сигнального пути WNT. * $q < 0.05$, ** $q < 0.01$, *** $q < 0.001$ (multiple *t*-test)

кин, продукт мутантного гена *PARK2*, в убиквитинировании не участвует, что приводит к снижению активации факторов NFκB у пациентов с БП.

Ранее мы обнаружили резкое повышение экспрессии многих генов семейства *HOX* в НП пациентов с БП, несущих мутации в гене *PARK2*, по сравнению со ЗД [27]. Есть данные, что белки *HOX* могут проявлять свойства ингибиторов ацетилтрансферазной активности CREBBP/CBP [48]. Известно, что транскрипционный фактор CREB и сопряженный с ним сигнальный путь (CREB–CREBBP и/или EP300) играет важную роль в регуляции иммунного ответа [49]. Нами проведен RNA-seq-анализ экспрессии в НП генов, вовлеченных в сигнальный путь CREB, а также ряда таргетных генов этого сигнального пути, выявленных при определении CREB-регулона в геноме человека [50, 51] и имеющих отношение к стрессу, транскрипции, сигнальным путям иммунного ответа (рис. 6). Экспрессия генов пути CREB в НП пациентов с БП немного повышена в отличие от экспрессии таргетных генов, значительно сниженной по сравнению с ЗД. Возможно, что повышенная экспрессия генов *HOX* в линиях НП пациентов с БП по сравнению с ЗД может опосредованно приводить к снижению экспрессии таргетных генов по сигнальному пути CREB – (CREBBP–*HOX* гены) – таргетные гены [27], в частности, *RELA* и *NFKB1*.

Следует также отметить, что активация генов *HOX* может быть связана с увеличением синтеза ретиноевой кислоты (RA) [27], а механизм подавления воспаления и экспрессии NFκB у пациентов с БП может быть сопряжен с RA [52]. Проведенный нами анализ экспрессии генов *RALDH1*, *RALDH2*,

RALDH3, ассоциированных с синтезом RA, а также генов ядерных рецепторов *RARA*, *RXRA* (рис. 6Б) и их активатора *PNRC1* (рис. 1Д) выявил повышение их экспрессии в клетках НП.

Известно также, что белок паркин в норме стабилизирует фактор CTNNB1 (β1-катенин), коактиватор фактора транскрипции LEF1 [53]. Мутации в *PARK2* при БП могут дестабилизировать β1-катенин и, следовательно, влиять на работу сопряженного комплекса, включающего транскрипционные репрессоры HES1, HEY1. Факторы CTNNB1, TLE1, LEF1, HES1, HEY1 в составе транскрипционного комплекса [54–57] могут существенно подавлять экспрессию генов-мишеней (табл. 4S, Приложение 1). По нашим данным экспрессия генов *CTNNB1*, *LEF1*, *HES1*, *HEY1* в НП БП повышена по сравнению с ЗД (рис. 6Б), что, по-видимому, может приводить к подавлению транскрипции их генов-мишеней, в том числе факторов транскрипции *BCL3*, *ATF3*, *JUN*, *STAT3*.

Анализ базы данных таргетных генов транскрипционных факторов (<http://maayanlab.cloud/harmonizome3.0>) позволяет предположить, что обнаруженное нами снижение экспрессии многих ДЭГ обусловлено сниженной экспрессией их факторов транскрипции (табл. 4S), зависящей от соотношения про- и противовоспалительных факторов, повышенной экспрессии группы репрессорного действия, сопряженной с β-катенином, и отсутствием нейропротекции со стороны мутантного паркина.

Гипотетический механизм влияния нарушений в экспрессии *PARK2* на работу генов иммунной системы в клетках НП пациентов с БП, суммирующий возможные сигнальные пути, показан на рис. 7.

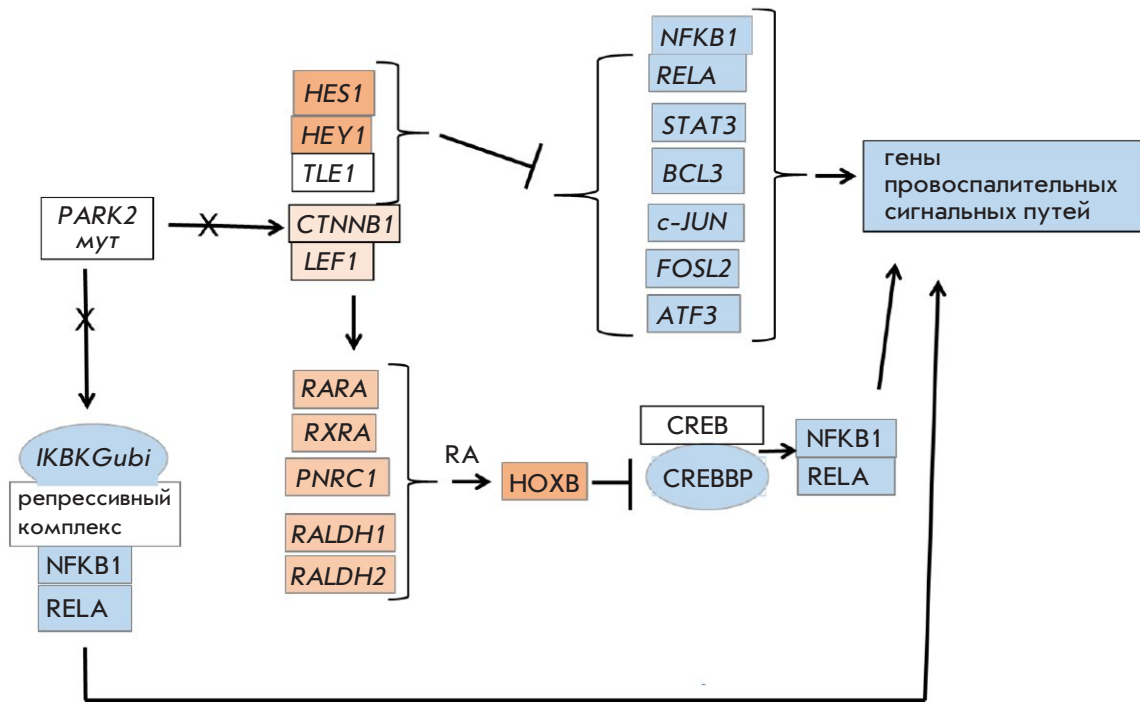


Рис. 7. Схематическое изображение возможных механизмов влияния мутации в гене *PARK2* на иммунный ответ клеток нейральных предшественников у пациентов с болезнью Паркинсона. Синий цвет в прямоугольнике – белки со сниженной экспрессией, оранжевый – белки с повышенной экспрессией в клетках пациентов с болезнью Паркинсона по сравнению с здоровыми донорами. Белый фон – отсутствие дифференциально экспрессирующихся генов. Синий цвет в овале означает подавление функции белка путем его модификации. Слитые прямоугольники – белок-белковое взаимодействие. Оттенки цвета отражают величину дифференциальной экспрессии

В дальнейшем предстоит выяснить, какой/какие из сигнальных путей важны при БП.

Проведенный в настоящей работе анализ ДЭГ в клетках НП и глии, полученных из индуцируемых плюрипотентных стволовых клеток пациентов с БП, свидетельствует о снижении в них экспрессии генов врожденного иммунитета по сравнению с нормой. Следует отметить, что полученные в результате направленной дифференцировки индуцируемых плюрипотентных стволовых клеток *in vitro* клетки НП и глии, скорее всего, соответствуют эмбриональным клеткам [58]. Таким образом, наблюдаемое нами снижение транскрипции генов врожденной иммунной системы в клетках, полученных от пациентов с БП, несущих мутации в гене *PARK2*, по сравнению с клетками ЗД, по-видимому, отражает начальные продромальные стадии развития БП.

В этой связи важно также отметить данные, согласно которым паркин является активатором врожденного иммунитета [59]. Это может служить указанием на то, что отсутствие синтеза паркина, обусловленное мутацией в гене *PARK2*, должно приводить к подавлению врожденного иммунитета. Это и наблюдается в проанализированных нами НП и глиальных клетках пациентов с БП, носителей мутантного гена *PARK2*.

ВЫВОДЫ

В линиях клеток НП и глии, полученных от пациентов с БП, выявлена большая группа генов, экспрессия которых снижена, по сравнению с клетками здоровых доноров. Эти гены относятся главным образом к сигнальным путям врожденного иммунитета: *NFκB*, *IL6-STAT3*, *IL2-STAT5*, *IFNα*, *IFNγ* и клеточного ответа на стресс – сигнального пути *CREB*. Лишь у ограниченного числа генов иммунной системы выявлена повышенная экспрессия в клетках НП, полученных от пациентов с БП.

Существует множество общих генов иммунного ответа, экспрессия которых понижена как в НП, так и в глии пациентов с БП по сравнению с ЗД. Среди них гены, кодирующие провоспалительные факторы (*NFKB1*, *RELA*), супрессоры иммунной системы (*NFKBIA*, *SOCS3*, *PIAS3*), компоненты сигнального пути *IL6-STAT3* (*JAK1* и *STAT3*), компоненты сигнального пути *OSMR*. В НП от пациентов с БП выявлены гены противовоспалительных комплексов с повышенной экспрессией по сравнению с ЗД, связанные с продукцией ретиноевой кислоты.

В клетках НП и глии пациентов с БП по сравнению с ЗД понижена экспрессия ряда генов, отвечающих за адгезию (*CCL2*, *CXCL1*, *ICAM1*), миграцию лимфоцитов к местам воспаления (*CXCL2*, *CXCL5*,

CXCL6, CXCL8), поддержание пролиферации эндотелия и эпителия (PDGFC, VEGFA, HBEGF), процессинг белка (PLAU, PLK2), а также за энергетический обмен между астроцитами и нейронами (PFKFB3) и связь между ними (CD47). ●

Исследования выполнены в рамках
Государственного задания НИЦ
«Курчатовский институт».
Приложения доступны на сайте
<https://doi.org/10.32607/actanaturae.27664>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gómez-Benito M, Granado N, García-Sanz P, Michel A, Dumoulin M, Moratalla R. Modeling Parkinson's Disease with the alpha-synuclein Protein. *Front. Pharmacol.* 2020;11:356. doi: 10.3389/fphar.2020.00356
- Tansey M, Wallings R, Houser M, Herrick M, Keating C, Joers V. Inflammation and immune dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Immunol.* 2022;22(11):657-673. doi: 10.1038/s41577-022-00684-6
- Pajares M., I Rojo A, Manda G, Boscá L, Cuadrado A. Inflammation in Parkinson's Disease: Mechanisms and Therapeutic Implications. *Cells.* 2020;9(7):1687. doi: 10.3390/cells9071687
- Hirsch E, Standaert D. Ten Unsolved Questions About Neuroinflammation in Parkinson's Disease. *Mov Disord.* 2021;36(1):16-24. doi: 10.1002/mds.28075
- Adamu A, Li S, Gao F, Xue G. The role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases: current understanding and future therapeutic targets. *Front Aging Neurosci.* 2024;16:1347987. doi: 10.3389/fnagi.2024.1347987
- Kouli A, Camacho M. Allinson K, Williams-Gray C. Neuroinflammation and protein pathology in Parkinson's disease dementia. *Acta Neuropathol Commun.* 2020;8(1):1-19. doi: 10.1186/s40478-020-01083-5
- Harms A, Ferreira S, Romero-Ramos M. Periphery and brain, innate and adaptive immunity in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 2021;141(4):527-545. doi: 10.1007/s00401-021-02268-5
- Cossu D, Hatano T, Hattori N. The Role of Immune Dysfunction in Parkinson's Disease Development. *Int J Mol Sci.* 2023;24(23):16766. doi: 10.3390/ijms242316766
- Castro-Gomez S, Heneka M. Innate immune activation in neurodegenerative diseases. *Immunity.* 2024;57(4):790-814. doi: 10.1016/j.immuni.2024.03.010
- McGeer P, Itagaki S, Boyes B, McGeer E. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology.* 1988;38(8):1285-1291. doi: 10.1212/wnl.38.8.1285
- Grabert K, Michael T, Karavolos M, Clohisey A, Baillie J, Stevens M, Freeman T, Summers K, McColl B. Microglial brain region-dependent diversity and selective regional sensitivities to aging. *Nat Neurosci.* 2016;19(3):504-516. doi: 10.1038/nn.4222
- Kannarkat G, Boss J, Tansey M. The role of innate and adaptive immunity in Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 2013;3(4):493-514. doi: 10.3233/JPD-130250
- Linnerbauer M, Wheeler M, Francisco J, Quintana F. Astrocyte Crosstalk in CNS Inflammation. *Neuron.* 2020;108(4):608-622. doi: 10.1016/j.neuron.2020.08.012
- Lee H, Lee J, Flausino L, Francisco J, Quintana F. Neuroinflammation: An astrocyte perspective. *Sci Transl Med.* 2023;15(721):eadi7828. doi: 10.1126/scitranslmed.adi7828
- Ransohoff R. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science.* 2016;353(6301):777-783. doi: 10.1126/science.aag2590
- Gelders G, Baekelandt V, der Perren A. Linking Neuroinflammation and Neurodegeneration in Parkinson's Disease. *J Immunol Res.* 2018. eCollection 2018:4784268. doi: 10.1155/2018/4784268
- McGuire S, Ling Z, Lipton J, Sortwell C, Collier T, Carvey P. Tumor necrosis factor alpha is toxic to embryonic mesencephalic dopamine neurons. *Exp Neurol.* 2001;169(2):219-230. doi: 10.1006/exnr.2001.7688
- Tansey M, McCoy M, Frank-Cannon T. Neuroinflammatory mechanisms in Parkinson's disease: potential environmental triggers, pathways, and targets for early therapeutic intervention. *Exp Neurol.* 2007;208(1):1-25. doi: 10.1016/j.expneurol.2007.07.004
- Wersinger C, Sidhu A. Inflammation and Parkinson's disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2002;1(3):221-242. doi: 10.2174/1568010023344580
- Shimoji M, Pagan F, Heaton E, Mocchetti I. CXCR4 and CXCL12 expression is increased in the nigro-striatal system of Parkinson's disease. *Neurotox Res.* 2009;16(3):318-328. doi: 10.1007/s12640-009-9076-3
- Chia S, Tan E, Chao Y. Historical Perspective: Models of Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(7):2464. doi: 10.3390/ijms21072464
- Lal R, Singh A, Watts S, Chopra K. Experimental models of Parkinson's disease: Challenges and Opportunities. *Eur J Pharmacol.* 2024;980:176819. doi: 10.1016/j.ejphar.2024.176819
- Bandres-Ciga S, Diez-Fairen M, Kim J, Singleton A. Genetics of Parkinson's disease: An introspection of its journey towards precision medicine. *Neurobiol Dis.* 2020;137:104782. doi: 10.1016/j.nbd.2020.104782
- Matheoud D, Sugiura A, Bellemare-Pelletier A, Laplante A, Rondeau C, Chemali M, Fazel A, Bergeron J, Trudeau L, Yan Burelle Y, et al. Parkinson's Disease-Related Proteins PINK1 and Parkin Repress Mitochondrial Antigen Presentation. *Cell.* 2016;166(2):314-327. doi: 10.1016/j.cell.2016.05.039
- Novosadova E, Anufrieva K, Kazantseva E, Arsenyeva E, Fedoseyeva V, Stepanenko E, Poberezhny D, Illarioshkin S, Novosadova L, Gerasimova T, et al. Transcriptome datasets of neural progenitors and neurons differentiated from induced pluripotent stem cells of healthy donors and Parkinson's disease patients with mutations in the PARK2 gene. *Data Brief.* 2022;41:107958. doi: 10.1016/j.dib.2022.107958
- Новосадова Е, Арсеньева Е, Антонов С, Казанцева Е, Курко О, Иллариошкин С, Тарантул В, Гривенников И. Получение и характеристика глиальных клеток человека из плюрипотентных стволовых клеток. *Нейрохимия.* 2020;37(4):358-367. doi: 10.31857/S1027813320040068
- Fedoseyeva V, Novosadova E., Nenashva V, Novosadova L, Grivennikov I, Tarantul V. Transcription of HOX Genes Is Significantly Increased during Neuronal Differentiation of iPSCs Derived from Patients with Parkinson's Disease. *J Dev Biol.* 2023;11(2):23. doi: 10.3390/jdb11020023
- Subramanian A, Tamayo P, Mootha V, Mukherjee S, Ebert B, Gillette M, Paulovich A, Pomeroy S, Golub T, Langer E, Mesirov J. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(43):15545-15550. doi: 10.1073/pnas.0506580102
- Liberzon A, Birger C, Thorvaldsdóttir H, Ghandi M,

- Mesirov J, Tamayo P. The Molecular Signatures Database (MSigDB) hallmark gene set collection. *Cell Syst.* 2015;1(6):417-425. doi: 10.1016/j.cels.2015.12.004
30. Benjamini Y, Krieger A, Yekutieli D. Adaptive linear step-up procedures that control the false discovery rate. *Biometrika.* 2006;93(3):491-507. doi: 10.1093/biomet/93.3.491
31. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun S. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.* 2017;2:17023. doi: 10.1038/sigtrans.2017.23
32. Sun S. The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(9):545-558. doi: 10.1038/nri.2017.52
33. Sasaki A, Yasukawa H, Suzuki A, Kamizono S, Syoda T, Kinjo I, Sasaki M, Johnston J, Yoshimura A. Cytokine-inducible SH2 protein-3 (CIS3/SOCS3) inhibits Janus tyrosine kinase by binding through the N-terminal kinase inhibitory region as well as SH2 domain. *Genes Cells.* 1999;4(6):339-351. doi: 10.1046/j.1365-2443.1999.00263.x
34. Cacalano N, Sanden D, Johnston J. Tyrosine-phosphorylated SOCS-3 inhibits STAT activation but binds to p120 RasGAP and activates Ras. *Nat Cell Biol.* 2001;3(5):460-465. doi: 10.1038/35074525
35. Jang H, Yoon K, Shin Y, Kim J, Lee S. PIAS3 suppresses NF- κ B-mediated transcription by interacting with the p65/RelA subunit. *J Biol Chem.* 2004;279(23):24873-80. doi: 10.1074/jbc.M313018200
36. Siegrist F, Ebeling M, Certa U. The small interferon-induced transmembrane genes and proteins. *J Interferon Cytokine Res.* 2011;31(1):183-197. doi: 10.1089/jir.2010.0112
37. Saitou M, Barton S, Surani M. A molecular programme for the specification of germ cell fate in mice. *Nature.* 2002;418(6895):293-300. doi: 10.1038/nature00927
38. Tanaka S, Matsui Y. Developmentally regulated expression of mil-1 and mil-2, mouse interferon-induced transmembrane protein like genes, during formation and differentiation of primordial germ cells. *Mech Dev.* 2002;119. Suppl 1:S261-267. doi: 10.1016/s0925-4773(03)00126-6
39. Lange U, Saitou M, Western P, Barton S, Surani M. The fragilis interferon-inducible gene family of transmembrane proteins is associated with germ cell specification in mice. *BMC Dev Biol.* 2003;3:1. doi: 10.1186/1471-213x-3-1
40. Bailey C, Huang I, Kam C, Farzan M. Ifitm3 limits the severity of acute influenza in mice. *PLoS Pathog.* 2012;8(9):e1002909. doi: 10.1371/journal.ppat.1002909
41. Gao J, Li Y, Wang S, Chen X, Lin L, Zhang H. Overexpression of microRNA-183 promotes apoptosis of substantia nigra neurons via the inhibition of OSMR in a mouse model of Parkinson's disease. *Int J Mol Med.* 2019;43(1):209-220. doi: 10.3892/ijmm.2018.3982
42. Gheibihayat S, Cabezas R, Nikiforov N, Jamialahmadi T, Johnston T, Sahebkar A. CD47 in the Brain and Neurodegeneration: An Update on the Role in Neuroinflammation. *Molecules.* 2021;26(13):3943. doi: 10.3390/molecules26133943
43. Chen X, Cao W, Zhuang Y, Chen S, Li X. Integrative analysis of potential biomarkers and immune cell infiltration in Parkinson's disease. *Brain Res Bull.* 2021;177:53-63. doi: 10.1016/j.brainresbull.2021.09.010
44. Edman L, Mira H, Erices A, Malmersjö S, Andersson E, Uhlén P, Arenas E. Alpha-chemokines regulate proliferation, neurogenesis, and dopaminergic differentiation of ventral midbrain precursors and neurospheres. *Stem Cells.* 2008;26(7):1891-900. doi: 10.1634/stemcells.2007-0753
45. Sarallah R, Jahani S, Khaboushan A, Moaveni A, Amiri M., Zolbin M. The role of CXCL12/CXCR4/CXCR7 axis in cognitive impairment associated with neurodegenerative diseases. *Brain Behav Immun Health.* 2024;43:100932. doi: 10.1016/j.bbih.2024.100932
46. Henn I, Bouman L, Schlehe J, Schlierf A, Schramm J, Wegener E, Nakaso K, Culmsee C, Berninger B, Krappmann D, et al. Parkin mediates neuroprotection through activation of IkappaB kinase/nuclear factor-kappaB signaling. *J Neurosci.* 2007;27(8):1868-1778. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5537-06.2007
47. Prescott J, Mitchell J, Cook S. Inhibitory feedback control of NF- κ B signalling in health and disease. *Biochem. J.* 2021;478(13):2619-2664. doi: 10.1042/BCJ20210139
48. Shen W, Krishnan K, Lawrence H, Largman C. The HOX homeodomain proteins block CBP histone acetyltransferase activity. *Mol Cell Biol.* 2001;21(21):7509-7522. doi: 10.1128/MCB.21.21.7509-7522.2001
49. Wen A, Sakamoto K, Miller L. The role of the transcription factor CREB in immune function. *J Immunol.* 2010;185(11):6413-6419. doi: 10.4049/jimmunol.1001829
50. Impey S, McCorkle S, Cha-Molstad H, Dwyer J, Yochum G, Boss J, McWeeney S, Dunn J, Mandel G, Goodman R. Defining the CREB regulon: a genome-wide analysis of transcription factor regulatory regions. *Cell.* 2004;119(7):1041-1054. doi: 10.1016/j.cell.2004.10.032
51. Park J, Greten F, Wong A, Westrick R, Arthur J, Otsu K, Hoffmann A, Montminy M, Karin M. Signaling pathways and genes that inhibit pathogen-induced macrophage apoptosis-CREB and NF- κ B as key regulators. *Immunity.* 2005;23(3):319-329. doi: 10.1016/j.immuni.2005.08.010
52. van Neerven S, Regen T, Wolf D, Nemes A, Johann S, Beyer C, Hanisch U, Mey J. Inflammatory chemokine release of astrocytes in vitro is reduced by all-trans retinoic acid. *J Neurochem.* 2010;114(5):1511-1526. doi: 10.1111/j.1471-4159.2010.06867.x
53. Rawal N, Corti O, Sacchetti P, Ardilla-Osorio H, Sehat B, Brice A, Arenas E. Parkin protects dopaminergic neurons from excessive Wnt/beta-catenin signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;388(3):473-478. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.07.014
54. Grbavec D, Lo R, Liu Y, Stifani S. Transducin-like Enhancer of split 2, a mammalian homologue of Drosophila Groucho, acts as a transcriptional repressor, interacts with Hairy/Enhancer of split proteins, and is expressed during neuronal development. *Eur J Biochem.* 1998;258(2):339-349. doi: 10.1046/j.1432-1327.1998.2580339.x
55. Kageyama R, Ohtsuka T, Kobayashi T. The Hes gene family: repressors and oscillators that orchestrate embryogenesis. *Development.* 2007;134(7):1243-1251. doi: 10.1242/dev.000786
56. Daniels D, Weis W. Beta-catenin directly displaces Groucho/TLE repressors from Tcf/Lef in Wnt-mediated transcription activation. *Nat Struct Mol Biol.* 2005;12(4):364-371. doi: 10.1038/nsmb912
57. Levanon D, Goldstein R, Bernstein Y, Goldenberg D, Stifani S, Paroush Z, Groner Y. Transcriptional repression by AML1 and LEF-1 is mediated by the TLE/Groucho corepressors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95(20):11590-11595. doi: 10.1073/pnas.95.20.11590
58. Vera E, Studer L. When rejuvenation is a problem: challenges of modeling late-onset neurodegenerative disease. *Development.* 2015;142(18):3085-3089. doi: 10.1242/dev.120667
59. Perego M, Yeon M, Agarwal E, Milcarek A, Bertolini I, Camisaschi C, Ghosh J, Tang H, Grandvaux N, Ruscetti M, et al. Parkin activates innate immunity and promotes anti-tumor immune responses. *J Clin Invest.* 2024;134(22):e180983. doi: 10.1172/JCI180983